

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département des Sciences Biologiques de l'environnement



جامعة بجاية
Tasdawit n'Bgayet
Université de Béjaïa

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Reproduction et Biotechnologie
Animales

Thème

***Influence du liquide folliculaire et des
cellules oviductales sur la mobilité
spermatique en fonction de la note d'état
corporel des femelles chez les bovins***

Réalisé par :

KHALED Amel

KOUCHE Fadila

Devant le jury :

President: Mr. AYAD. A.

Promoteur : Mr. NAIT MOULOUDE. M

Co-promoteur : Mr. IGUEROUADA. M

Examineurs : Mr. AISSAT.L.

Mme. BOULILA.F.

Année : 2013-2014

Remerciements

Nous remercions Dieu le tous puissant pour tous ces dons accumulés tout au long de notre vie et de nous avoir permis, aujourd'hui, la réalisation de notre projet de master, encore un rêve qui se réalise grâce au Dieu.

Nous tenons à présenter nos remerciements à notre promoteur Mr NAIT MOULOUD M, et notre Co-promoteur Mr IGUEROUDA M, pour la proposition du thème de notre mémoire et pour leurs disponibilité, conseils, soutien et encouragement et qui nous ont permis de mener à terme ce travail.

Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nos sincères remerciement vont à :

Mr AYAD H, vous nous faite l'honneur et le plaisir d'accepter la présidence de jury.

Mr AISSAT L et Mme BOULILA F, nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail et de siéger parmi les membres de jury.

DEDICACES

A mon papa, KHALED MOUSSA ;

Tu m'as appris que le travail est un trésor. Tu es toujours là, tu m'encourages et me soutiens quelques soient les difficultés. Ce travail est aussi le tien. Merci beaucoup PAPA.

A ma maman, ZERARGA HAYET ;

Tu m'as nourri de ton lait et ta sueur. Tes prières, tes conseils, ton affection et ta compréhension sont toujours pour moi des piliers fondamentaux. Voici aujourd'hui un fruit de ta patience et des sacrifices consentis. Merci MAMAN chérie.

A ma sœur SIHAM et son mari TOUFIK ;

A ma sœur SAMIA et son mari ABD EL MALEK ;

Pour votre soutien au quotidien, avec tout mon amour.

A mes sœurs LAMIA et MERIEM et a mon frère MEROUANE ;

Merci pour vos prières et votre soutien sans faille. Que l'esprit d'amour règne toujours au milieu de nous.

A mes cousins, cousines et toute la famille KHALED.

A mes oncles, tantes, et toute la famille ZERARGA, en particulier ma grand-mère DAHBIA.

A mes amis : ASMA, NAIMA, LAMIA, SAMRA, SARA, CHAFIA, ZINA, LILA, HAYET, FAIROUZ, KARIMA, LINDA, FATMA, TOUFIK ET RABIAA.

A mon binôme FADILA, et toute sa famille.

A tous mes collègues de promotion RBA.

A tous mes enseignants ; Pour avoir contribué à ma formation.

A tous ceux qui m'aimes et j'aime, merci pour tous.

AMEL

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers au monde:

A ma petite fille KAMILIA, que dieu la protège et la gardera pour moi

A mon mari HAFID, qui ma bien soutenu et aidé pour réaliser ce travail

A mon beau père IDIR et ma belle mère BAYA, Que dieu les protègent

A mes belles sœurs HAYET, HAKIMA, LILA, KHOUKHA, NADIA et sa famille

A mes beaux frères MOURAD et sa petite famille, KAMEL et sa femme NADIA

A la mémoire de mon très cher père, qui repose en paix A celui qui j'ai toujours tant d'aimée

A ma mère GHANIA, que dieu la protège

A mes deux sœurs SIHAM et AMEL

A mes frères, MADJID et sa petite famille, KAMEL, KARIM, MALEK, FATEH, MOUHAMED, FARES et FAYÇAL

A mon oncle, mes tantes, mes cousins et mes cousines

A mon binôme et amie AMEL et sa famille

A toutes mes copines avec qui j'ai passé des moments agréables et inoubliables, je vous souhaite la réussite et tout le bonheur du monde

A tout mes collègues de la promotion RBA

FADILA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre 1 : Rappels anatomophysiologiques sur l'appareil reproducteur des bovins

1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle.....	3
1.1.1. Les ovaires.....	3
1.1.2. Les oviductes ou trompes utérines.....	4
1.1.3. L'utérus.....	5
1.1.4. Le vagin.....	5
1.1.5. Le sinus uro-génital.....	5
1.2. Physiologie de l'appareil reproducteur femelle.....	6
1.2.1. L'ovogenèse.....	6
1.2.2. Folliculogenèse.....	6
1.2.3. Phase lutéale.....	9
1.2.4. Le cycle œstral de la vache.....	10
1.2.4.1. Les différentes phases du cycle.....	11
1.2.4.2. Régulation hormonal du cycle œstral.....	12
1.3. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle.....	17
1.3.1. Les testicules.....	18
1.3.2. Les voies spermatiques.....	19
1.3.3. Les glandes annexes.....	20
1.4. Physiologie de l'appareil reproducteur mâle.....	21

1.4.1. La spermatogenèse.....	21
1.4.2. Le spermatozoïde.....	23
1.4.3. Régulation de la fonction sexuelle mâle.....	24
1.5. La fécondation.....	25
1.5.1. La capacitation.....	25
1.5.2. La réaction acrosomiale.....	26
1.5.3. La fusion des gamètes.....	27

Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

2.1. Le statut énergétique dans la reproduction.....	28
2.2. Note d'état corporel.....	28
2.3. Influence de l'équilibre énergétique.....	29

Chapitre 3 : Techniques de collecte et d'analyse de sperme

3.1. Techniques de collecte du sperme épидидymaire.....	32
3.2. Evaluation de la qualité du sperme.....	33
3.2.1. Examens macroscopiques.....	34
3.2.2. Examens microscopiques.....	34
3.2.3. Etude physico-chimique et biochimique du sperme.....	37
3.3. Evaluation de la mobilité spermatique.....	37

Partie expérimental

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

1.1. Les matrices.....	41
1.2. Les testicules.....	41
1.3. Préparation des échantillons.....	41
1.3.1. Echantillons prélevés des matrices.....	41
a. Liquide folliculaire.....	41
b. Cellules oviductales.....	42
1.3.2. Prélèvement du sperme épидидymaire des testicules.....	44

1.4.	Protocole expérimental.....	48
a.	Dilution du sperme.....	48
b.	Co-incubation des échantillons avec le sperme (traitement).....	48
c.	Evaluation des caractéristiques du sperme.....	48
d.	Analyses statistiques.....	49

Chapitre 2 : Résultats et discussion

2.1.	Etude de l'effet du liquide folliculaire sur la mobilité spermatique en fonction de la note d'état corporel des vaches.....	50
2.1.1.	Influence sur la mobilité globale.....	50
2.1.2.	Influence sur le % de spermatozoïdes progressifs rapides.....	51
2.1.3.	Influence sur la vitesse linéaire (VSL).....	52
2.1.4.	Influence sur la fréquence de battement de la tête (BCF).....	53
2.2.	Etude de l'effet des cellules oviductales provenant de vaches d'état corporel différent sur la mobilité spermatique.....	54
2.2.1.	Influence sur la vitesse de progression linéaire (VSL).....	54
2.3.	Discussion.....	56
2.3.1.	Effet du liquide folliculaire sur la mobilité spermatique.....	56
2.3.2.	Effet des cellules oviductales sur la mobilité spermatique.....	58
	Conclusion et perspectives.....	60

Références bibliographiques

Liste des abréviations

ABP: Androgen Binding Protein.

ALH: Amplitude Lateral Head.

BCF: Beat Cross-Frequency.

bFGF: basic Fibroblast Groth Factor.

BMP: Bone Morphogenetic Proteins.

CASA: Computer-Assisted Semen Analysis.

COC: Complexe Ovocyte-Cumulus.

EGF: Epidermal Groth Factor.

EOP: Peptides Endogènes Opiacés.

FSH: Follicle Stimulating Hormone= Hormone Folliculostimulante.

GH: Groth Factor= Hormone de croissance.

GnRH: Gonadotrophin Releasing Hormone= Gonadolibérine.

HDL: High Density Lipoprotein.

IGF: Insulin-like Groth Factor.

IGFBP: Insuline-like Groth Factor Binding Proteins.

IGF-I: Insuline-like Groth Factor I.

IGF-II: Insuline-like Groth Factor II.

ITBE: Institut Technique de l'Elevage Bovin.

LH: Luteinizing Hormone= Hormone lutéinisante.

LIN: Linearity.

MSH: Melanocyte Stimulating Hormone.

NEC: Note d'État Corporel

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PGF2 α : Prostaglandine.

RPM: Rotation Par Minute.

SCA: Sperm Class Analyser.

STR: Straightness.

TGF β : Transforming Groth Factors β .

VAP: Velocity Straight Pathway.

VCL: Velocity Curved Line.

VSL: Velocity Straight Line.

Liste des figures

Figure 1 : appareil reproducteur de la vache. (nzdl.org).....	3
Figure 2 : Chronologie du développement folliculaire (MONIAUX <i>et al.</i> 1999).....	8
Figure 3 : le cycle œstral de la vache. (Reprologie.com).....	12
Figure 4 : Interactions entre hypothalamus, hypophyse, ovaire et utérus au cours du cycle œstral (d'après MEREDITH, 1995).....	13
Figure 5 : Croissances folliculaires au cours d'un cycle œstral chez la vache. (D'après ENNUYER, 2000).....	17
Figure 6 : Appareil reproducteur du taureau. (THIBIER, 1977).....	18
Figure 7 : Schéma récapitulatif de l'évolution des cellules de la lignée germinale mâle. (GAYRARD, 2007).....	23
Figure 8 : Représentation schématique de la morphologie du spermatozoïde mûr (Source : http://mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio2460).....	24
Figure 9 : Contrôle neuroendocrinien de l'appareil génital masculin (Source: http://spiral.univlyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasculin/gm6rd.html (page consultée le 20 septembre 2007).).....	25
Figure 10 : collecte de semence avec la méthode « retrograde-flushing » (STOUT., 2012).....	33
Figure 11 : Représentation schématique des différentes vitesses mesurées par CASA. VSL : vitesse linéaire, VCL : vitesse curviligne, VAP : vitesse moyenne de la trajectoire, STR : la rectitude, LIN : linéarité. (Source : casa-scopus.com).....	40
Figure 12 : matrice de vache collectée après abattage.....	41
Figure 13 : prélèvement du liquide folliculaire.....	42
Figure 14 : récupération des oviductes sur une matrice de vache.....	42
Figure 15 : Oviductes nettoyés et dépourvus des tissus conjonctifs.....	43
Figure 16 : oviducte coupé longitudinalement et récupération des cellules.....	43
Figure 17 : Centrifugation et récupération du surnageant.....	44
Figure 18 : Testicule après l'avoir dépourvu de la tunique vaginale.....	44
Figure 19 : Epididyme juste après sa dissection et son isolation du testicule.....	45
Figure 20 : L'épididyme après l'avoir dépourvu des tissus conjonctifs.....	45
Figure 21 : Récolte de la semence par la méthode rétrograde.....	46
Figure 22 : Semence épидидymaire pure et fraîchement collectée.....	47

Figure 23 : analyseur informatique de marque SCA utilisé pour le calcul des vitesses de progression des spermatozoïdes.....	48
Figure 24 : Variation du pourcentage de spermatozoïdes mobiles en fonction du temps et de l'état corporel des vaches.....	49
Figure 25 : Variation du pourcentage de spermatozoïdes progressifs rapides en fonction du temps et de l'état corporel des vaches.....	50
Figure 26 : Variation de la vitesse linéaire (VSL) des spermatozoïdes en fonction du temps d'incubation et de l'état corporel des vaches.....	52
Figure 27 : Évolution de la fréquence de battement de la tête par rapport à l'axe de progression (BCF) en fonction du temps et de l'état corporel des vaches.....	54
Figure 28 : Variation de la vitesse linéaire (VSL) des spermatozoïdes en fonction du temps d'incubation et de l'état corporel des vaches.....	55

Liste des tableaux

Tableau 1 : Données sur la reproduction de la vache.....	10
Tableau 2 : Durée des différentes phases du cycle sexuel de la vache.....	11
Tableau 3 : Principaux critères d'appréciation de l'état corporel des vaches laitières Prim'Holstein (BAZIN, 1984).....	29
Tableau 4 : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité massale (coopérative l'aigle, 2007). Http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm , page consulté le 12 Septembre 2007.....	35
Tableau 5 : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité individuelle dans une grille de notation de 0 à 5.....	36

Introduction

INTRODUCTION

Afin d'assurer la survie de leur espèce, les mammifères doivent se reproduire et ainsi créer leurs descendance et pour ça, ils ont adopté le mécanisme de fécondation interne pour arriver à leurs fins dans un processus de reproduction sexuée.

La maîtrise des performances de la reproduction est l'un des postes importants et difficiles à gérer au sein d'une exploitation bovine.

Aussi, la fécondation, point de départ du développement embryonnaire, est une étape critique pour la production de veaux en bonne santé. Afin de mieux gérer la fertilité mâle et femelle, il est nécessaire de maîtriser cette étape, et donc d'en connaître les mécanismes.

Les différentes parties du tractus génital de la femelle contribuent chacune à la réussite du processus de fécondation en ayant un impact sur les gamètes. Toutefois, une part importante est attribuée à l'action de l'oviducte sur l'ovule et le spermatozoïde (BUREAU, M, 2000).

De plus, l'influence des cellules oviductales et du liquide folliculaire sur la mobilité spermatique a fait l'objet de plusieurs recherches spécialement chez les bovin (CHIAN et SIRARD, 1995 ; MC NUTT SCOT et HARRIS, 1998...). En outre, chez l'espèce humaine, MBIZVO *et al*, (1990) ont démontré que le traitement des spermatozoïdes avec le liquide folliculaire augmente le pourcentage de capacitation et de l'hyperactivation des spermatozoïdes.

Par ailleurs, les auteurs s'accordent à dire que l'alimentation joue un rôle prépondérant dans la maîtrise de reproduction et que tout déséquilibre alimentaire affecte la qualité des spermatozoïdes et altère les fonctions ovariennes.

Ainsi, notre objectif, à travers cette étude, est d'évaluer l'impact des cellules oviductales et du liquide folliculaire en fonction du niveau alimentaire des vaches traduit par leur état corporel sur la mobilité spermatique et, par-là, essayer d'apporter notre contribution dans l'amélioration des systèmes de maturation *in vitro*, de fécondation et de développement chez l'espèce bovine.

Dans la première partie de ce mémoire, à travers une étude bibliographique, on a fait un rappel sur l'anatomie et la physiologie du mâle et de la femelle bovine, on a évoqué des notions générales sur la relation entre l'alimentation et la reproduction et, enfin, on a abordé les méthodes de collectes et d'évaluation de la mobilité spermatique.

Dans la seconde partie, on a présenté les matériels et le protocole expérimental utilisés afin d'évaluer les effets du liquide folliculaire et des cellules oviductales sur la mobilité du sperme bovin en fonction de la note d'état et, enfin, on a exposé les résultats obtenus ainsi que leur interprétation.

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE 1:

**RAPPEL ANATOMOPHYSIOLOGIQUE SUR
L'APPAREIL REPRODUCTEUR DES BOVINS**

1.1. Anatomie de l'appareil reproducteur femelle :

L'appareil reproducteur femelle est l'ensemble des organes qui élaborent les gamètes femelles et les hormones sexuelles, qui sont le siège de la fécondation et qui assure le développement de l'œuf au cours de la gestation.

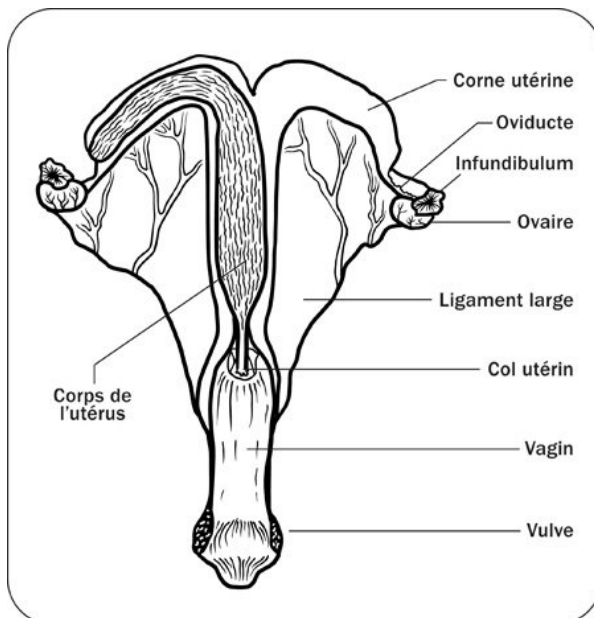


Figure 1 : appareil reproducteur de la vache.

1.1.1. Les ovaires :

L'ovaire est la glande génitale de la femelle, c'est un organe paire, appendu à la région lombaire et pourvu d'une double fonction : gamétogenèse assurant l'ovogenèse, et endocrine commandant sous le contrôle de l'hypophyse toute l'activité génitale par la sécrétion des hormones œstrogène et progestative.

Les ovaires de la vache subissent dans la première moitié de la vie fœtale une migration qui les amène au voisinage du pubis. Chaque ovaire est alors situé à une trentaine de centimètres du périnée. Très petits avant la puberté, ils présentent encore un volume relativement faible chez l'adulte. Le poids est de 1 à 2 grammes à la naissance et de 4 à 6 grammes à la puberté et d'une quinzaine de grammes chez l'adulte en di-œstrus, avec des variations de 10 à 20 grammes. Généralement l'ovaire droit est de 2 à 3 grammes plus lourd que le gauche et la maturation folliculaire y est statistiquement plus fréquente. Les dimensions varient en fonction du développement des organites au cours du cycle œstral. En moyenne, la longueur est de 35 à 40 mm, la hauteur est de 20 à 25 mm et l'épaisseur de 15 à 20 mm. Chez la

vache la forme est ovoïde, aplatie d'un côté à l'autre, souvent comparée à celle d'une grosse amande (BARONE, 2001).

1.1.2. Les oviductes ou trompes utérines :

Les Trompes utérines ou Salpinx anciennement Trompe de Fallope ou oviducte ; constitue la partie initiale des voies génitales de la femelles, c'est un conduit pairs, étroit, qui reçoit les ovocytes libérés par l'ovaire, abrite la fécondation et assure le transfert de l'œuf fécondé en cours de clivage puis de multiplication jusqu'à l'utérus (BARONE, 1978).

Il comprend les parties suivantes :

- L'infundibulum, ou pavillon, est la partie proximale de l'organe. Il comprend la frange ovarienne, zone de digitations qui massent l'ovaire et permettent la capture des ovocytes au moment de l'ovulation (FONTAINE *et al.*, 2009).
- L'ampoule, est le lieu de la fécondation (RATH *et al.*, 2008).
- l'isthme, de calibre réduit ; est la partie la plus étroite de l'oviducte (FONTAINE *et al.*, 2009., BATELLIER., 2005).
- La jonction utéro-tubaire, zone de jonction de l'oviducte et de la corne utérine correspondante. (BATELLIER., 2005., BARIL *et al.*, 1993., BARONE 1978).

L'architecture d'ensemble et la structure histologique de la paroi oviductale sont identiques chez tous les mammifères (STEINHARD *et al.*, 2004) :

Au contact de la lumière se trouve la muqueuse (l'endosalpinx), plissée et tapissée par un épithélium pseudostratifié composé de cellules ciliées non sécrétrices et des cellules sécrétrices non ciliées, reposant sur un chorion. Celles-ci comporte de nombreux replis dans la région de l'ampoule, le nombre de replis diminue en allant vers l'isthme (FONTAINE *et al.*, YANIZ *et al.*, 2000).

Sous la muqueuse se trouve le mysosalpinx ; partie musculuse de l'oviducte. Enfin l'ensemble est entouré d'une séreuse (BARONE, 2001). Le mysosalpinx s'épaissit depuis l'infundibulum jusqu'à la jonction utéro-tubaire. Celui-ci est innervé par un contingent de fibres du système nerveux autonome, plus nombreuses dans la région de l'isthme (HUNTER, 2011).

Les sécrétions des cellules oviductales :

Comme l'on a dit précédemment, l'oviducte constitue l'environnement naturel de la fécondation et du développement embryonnaire précoce. Il assure un rôle complexe et essentiel de la fonction de reproduction. Au cours du cycle sexuel, l'oviducte crée de façon dynamique un microenvironnement (cellule et fluide tubaire)

propice au transport, à la survie et à l'interaction des gamètes puis au développement embryonnaire précoce.

Les interactions cellulaires et moléculaires entre les gamètes ou le jeune embryon et l'oviducte permettent d'ajuster le microenvironnement tubaire à l'évolution de leurs besoins spécifiques (GÉRARD et MERMILLOD., 2008).

Les sécrétions des cellules oviductales semblent être directement impliquées dans la capture, le transport, les modifications et la survie des ovules pondus, mais également dans le transport et les modifications des spermatozoïdes juste avant la fécondation, l'activité de ces tissus dépend également de la période du cycle œstral (BARIL *et al.*, 1993).

1.1.3. L'utérus :

L'utérus est l'organe de la gestation. C'est un viscère creux, pourvu d'une muqueuse riche en glandes et d'une musculature puissante et appendu de chaque côté à la région lombaire par un fort méso, le ligament large. La couleur est jaune rosé (BATELIER., 2005 ; BARONE., 1978). Chez la vache, il est de type bipartitus, pèse en moyenne 400 grammes, la paroi de l'utérus se compose de trois tuniques : une séreuse ou périmètre, une musculature ou myomètre et une muqueuse ou endomètre (CREVIER., 1995).

Il comprend trois parties :

- Les deux cornes qui fusionnent sur une plus ou moins grande longueur pour former le corps de l'utérus ;
- Les cornes et le corps de l'utérus, qui sont toujours situés dans l'abdomen sur le bord du ligament large ;
- Le col ou cervix, qui est situé sur le plancher de la cavité pelvienne (BARIL *et al.*, 1993).

1.1.4. Le vagin :

C'est un conduit impair, et médian, entièrement logé dans la cavité pelvienne. Il est en quelque sorte annexé au sinus-urogénital pour constituer avec lui l'organe copulateur de la femelle, il est long de 8 à 10 cm (BARONE., 1978). C'est l'endroit où la semence est déposée lors de la saillie. (BARIL *et al.*, 1993)

1.1.5. Le sinus uro-génital :

Partie commune aux appareils urinaire et génitale. Il est divisible en deux segments différents par la topographie et la structure : le vestibule du vagin et la vulve et le clitoris.

Le vestibule du vagin est un conduit large et impair, dans l'extrémité crâniale duquel s'ouvrent l'ostium vaginal et l'ostium externe de l'urètre, tandis que la partie opposée communique avec l'extérieur par la fente vulve.

La vulve est la partie externe de l'appareil génitale femelle. Elle occupe la partie ventrale du périnée. Elle est constituée par deux lèvres qui délimitent la fente vulvaire. Les deux lèvres de la vulve se raccordent sur deux commissures dorsale et ventrale (BARONE., 1978).

1.2. Physiologie de l'appareil reproducteur femelle :

1.2.1. L'ovogenèse :

L'ovogenèse, débutée lors du développement embryonnaire, s'est arrêtée à la prophase méiotique, laissant les ovocytes primaire entourés de cellules folliculeuses. Le nombre de ces follicules primordiaux, 235000 à la naissance chez la vache (MAILLOT *et al.*, 2001), diminuera avec l'âge par dégénérescence. Au cours de la succession des cycles, certains ovocytes iront jusqu'à la maturation et la ponte ovulaire, tandis que la majorité dégènera dans les follicules atrésiques.

Seulement quelques centaines d'ovocytes primordiaux achèveront ainsi la première division de la méiose pour évoluer en ovocyte secondaire avec émission du premier globule polaire, suivie de la seconde division méiotique. C'est au stade métaphase de cette division qu'a lieu l'ovulation, et la maturation finale se déroulera lors de la fécondation, avec émission du second globule polaire (BOSIO, 2006)

1.2.2. Folliculogenèse :

La folliculogenèse est un phénomène continu, succession des différentes étapes du développement du follicule ; structure endocrine temporaire, depuis le moment où il sort de la réserve constituée lors du développement embryonnaire, jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation.

A partir de la puberté, chaque jour, environ 80 follicules primordiaux (diamètre 30 μm) débutent leur croissance par multiplication des cellules folliculaires et développement de l'ovocyte (FIENI *et al.*, 1995 ; MAILLOT *et al.*, 2001). Cette croissance aboutit successivement aux stades de follicule primaire, secondaire puis tertiaire, à partir duquel commence la différenciation de l'antrum. Au cours de cette croissance, les follicules acquièrent également des récepteurs les rendant potentiellement capables de répondre à une stimulation gonadotrope : récepteurs à LH pour les cellules de la thèque interne et récepteurs à FSH pour les cellules de la granulosa (ENNUYER, 2000 ; FIENI *et al.*, 1995).

La maturation qui s'ensuit et qui ne concerne que quelques centaines de follicules pour toute la période de la vie génitale, est communément décrite par les concepts de recrutement, sélection et dominance. Elle est sous l'influence des gonadotrophines puis l'émergence d'un ou de plusieurs follicules ovulatoires.

Le recrutement est l'entrée en croissance terminale d'un groupe de follicules gonadodépendants. La sélection est l'émergence parmi les follicules recrutés du follicule ovulatoire. La taille folliculaire au moment de la sélection correspond globalement à la taille où apparaissent les récepteurs à LH sur la granulosa (massifs de cellules folliculaires). Enfin, la dominance correspond à l'amorce de la régression des autres follicules recrutés et au blocage du recrutement d'autres follicules.

Avant la phase de recrutement, le développement folliculaire est très lent puisque le stade précavitaire n'est atteint qu'après 200 jours (ENNUYER, 2000 ; FIENI et *al.*, 1995). Au cours de cette période, l'ovocyte passe de 20 à 120 μm et s'entoure de la membrane pellucide.

Les follicules dont la taille est supérieure à 5 mm sont recrutables, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles aux gonadotrophines.

Après recrutement, la croissance folliculaire est extrêmement rapide (environ 1.5 mm/jour), essentiellement par gonflement de l'antrum.

Le moment de la sélection est difficile à déterminer chez la vache en raison de l'existence de vagues folliculaires qui entraîne la juxtaposition de phénomènes de régression et de recrutement. Chaque vague de croissance dure chez la vache une dizaine de jours (2 vagues par cycles) ou environ six jours (3 vagues par cycles).

Plus précisément, les vagues débutent à J2, J8 et J14 pour des cycles à 3 vagues (J0 correspondant à l'ovulation) : c'est le cas le plus fréquents chez la génisse. Elles apparaissent à J2 et J11 pour des cycles à 2 vagues, essentiellement chez les vaches adultes. (ENNUYER, 2000)

Pour chacune de ces vagues, qui surviennent au hasard entre les deux ovaires, un follicule grossit beaucoup plus que les autres. C'est ce follicule dominant qui sera susceptible d'ovuler si sa phase de maturité correspond à la lyse du corps jaune du cycle précédent. Ce follicule ovulatoire se caractérise par une taille maximum de 16 à 20 mm (des follicules de 8 à 10 mm peuvent toutefois ovuler), un nombre de cellules de la granulosa maximum ainsi qu'une atrophie systématique des follicules de taille immédiatement inférieur.

La croissance terminale du follicule préovulatoire, qui se déroule pendant la phase folliculaire, est explosive, de l'ordre de 5 à 6 mm par jour (FIENI *et al.*, 1995)

Le follicule ovulera si le corps jaune du cycle précédent a régressé. En général, un seul follicule ovule par cycle ; la fréquence des ovulations multiples est de 3 à 6% chez la vache. (BOSIO, 2006)

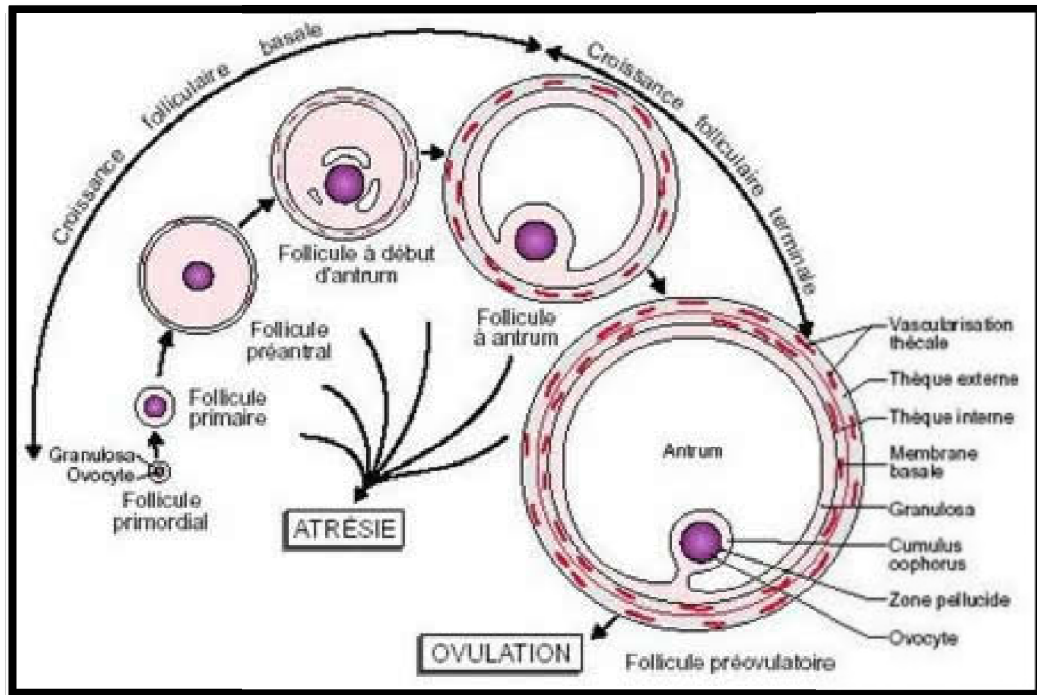


Figure 2 : Chronologie du développement folliculaire (MONIAUX *et al.* 1999).

Le liquide folliculaire :

Le liquide folliculaire participe aux étapes finales de la maturation de l'ovocyte. Il contrôle avant, l'ovulation, les dernières modifications transcriptionnelles qui permettront à l'embryon d'effectuer ses synthèses protéiques au cours des premières divisions de segmentation. Le liquide folliculaire pourrait également protéger l'ensemble ovocyte cumulus contre les enzymes protéolytiques qui attaquent la couche de collagène de la paroi du follicule au moment de l'ovulation. Son rôle réel est finalement commun, il est présent sur le site de fécondation en parallèle avec la capacitation des spermatozoïdes dans l'oviducte, il a en outre un rôle dans le transport de l'ovocyte de l'ovaire à l'oviducte lors de l'ovulation. (HANSEN *et al.*, 1991).

Le liquide folliculaire contiendrait des facteurs chimiotactiques (VILLANUEVA. DIAZ *et al.*, 1994), qui stimulent le métabolisme des gamètes (HICKS *et al.*, 1972) et

qui induisent l'hyperactivation et la réaction acrosomique des spermatozoïdes (ZHU *et al*, 1994).

Lors de la remontée des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles, ils interagissent avec les cellules et les sécrétions utérine, tubaire puis folliculaires (ZHU *et al*, 1991), ces sécrétions joueraient également un rôle essentiel lors du développement embryonnaire précoce jusqu'à ce que l'utérus soit apte à accueillir le conceptus. (MINAMI et IRITANI, 1993)

Des taux élevés de vitamine C dans la sécrétion folliculaire (PASCU *et al*, 1970) et d'hypotaurine (MEIZL *et al*, 1980) suggèrent un rôle important de ces sécrétions dans la protection des gamètes et de l'embryon contre les phénomènes d'oxydation.

Les acides aminés sont présent naturellement dans le liquide folliculaire et seraient également nécessaires pour la bonne réalisation des étapes précédant le développement embryonnaire (maturation folliculaire, ovulation et fécondation) (WASTON, *et al*, 2000). Parmi les différentes acides aminés ; la taurine et l'hypotaurine qui sont des composés importants pour la survie et la capacitation du sperme, le processus de fertilisation et le développement embryonnaire, sont présents dans les sécrétions génitales, l'hypotaurine aurait des effets protecteurs sur les dommages causés par le stress oxydatifs (GUERIN et MENEZO, 1995).

1.2.3. Phase lutéale :

Immédiatement après l'ovulation débute la phase lutéale, tout follicule rompu étant le siège de remaniements cytologiques et biochimiques qui conduisent à la formation du corps jaune, cet organite contient des grandes cellules issues de la granulosa et des petites provenant de la thèque interne. En fin de croissance, il atteint un diamètre minimal de 20 mm (MIALOT *et al.*, 2001). Il sécrète essentiellement la progestérone, mais aussi des œstrogènes.

L'évolution du corps jaune chez la vache se réalise en trois temps : une période de croissance de 4 à 5 jours, au cours de laquelle il est sensible aux prostaglandines ; un temps de maintien d'activité pendant 8 à 10 jours, enfin, s'il n'y a pas eu de fécondation, une période de lutéolyse est observée macroscopiquement à partir du 17^{ème} -18^{ème} jours du cycle, aboutissant à la formation d'un reliquat ovarien ; le corps blanc (FIENI *et al.*, 1995).

1.2.4. Le cycle œstral de la vache :

La vache appartient aux espèces à cycle continu, c'est-à-dire des cycles sans interruption et se succèdent toute l'année. La durée du cycle est en moyenne de 15 à 25 jours, avec une succession de plusieurs (2 ou 3) vagues folliculaires ; les variations dépendent de l'âge mais aussi de la race, de la saison et des conditions d'entretiens de l'animal (DERIVAUX, 1971).

Par définition, les vaches sont en œstrus (ou chaleurs) quand elles acceptent la monte (en se tenant immobiles) par un taureau ou d'autres vaches. Cet œstrus dur en moyenne 12-15 heures après la fin de l'œstrus (DERIVAUX, 1971), l'activité de l'ovaire est mis en évidence par l'apparition d'un comportement d'œstrus, celui-ci permettant de caractériser le début d'un cycle œstral.

Les données relatives à la sexualité et la reproduction de la vache sont regroupées dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Donnés sur la reproduction de la vache

Propriété	Donnée	Référence
Age de la puberté	6-7 mois	(DRIANCOURT et al., 1991)
Saison sexuelle	Toute l'année	(DRIANCOURT et al., 1991)
Type d'ovulation	Spontanée	(DERIVAUX, 1971)
Type de cycle	Polyœstrus	(DRIANCOURT et al., 1991)
Moment de l'ovulation	10-12 heures après la fin de l'œstrus	(DRIANCOURT et al., 1991)
Moment de l'implantation	35 jours	(DERIVAUX, 1971)
Durée de gestation	280 jours (210-360)	(DRIANCOURT et al., 1991)
Nombre de veaux par portée	1 1-2	(DRIANCOURT et al., 1991) (Mc DONAL, 1969)

1.2.4.1. Les différentes phases du cycle :

Le cycle œstral de la femelle bovine est classiquement divisé en quatre périodes : (MARIEN, 1993)

- Le proœstrus : c'est une phase au cours de laquelle on assiste d'une part à la régression du corps jaune du cycle précédent et d'autre part au développement du follicule préovulatoire, c'est une phase d'imprégnation œstrogénique.
- L'œstrus : phase d'acceptation du mâle, elle se traduit par des signes majeurs et mineurs, c'est une période de fin de maturation et ovulation ; c'est une phase d'imprégnation œstrogénique maximale.
- Le postœstrus ou métœstrus : cette phase correspond d'une part à l'ovulation et d'autre part à la formation et au fonctionnement du corps jaune ; c'est une phase d'imprégnation progestéronique.
- Le diœstrus : cette phase correspond au fonctionnement du corps jaune et lutéolyse ; c'est une phase d'imprégnation progestéronique.

Les durées des différentes phases du cycle sexuel de la vache sont regroupées dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Durée des différentes phases du cycle sexuel de la vache

Proœstrus (jours)	Œstrus (heures)	Métœstrus (jours)	Diœstrus (jours)
3-4 (Mc DONALD, 1969)	19 (Mc DONALD, 1969)	2 (Mc DONALD, 1969)	15 (Mc DONALD, 1969)

L'évolution cyclique comprend alors deux phases distinctes :

- La phase folliculaire ; œstrogénique qui se traduit cliniquement par la présence d'un écoulement muqueux de plus en plus abondant et filant, et qui correspond à la maturation des follicules de De Graaf.
- La phase lutéinique ou lutéale ; progestéronique, qui s'étend au cours de l'activité du corps jaunes cyclique ; d'un écoulement muco-sanguinolent, d'une absence de sécrétions muqueuses et d'une consistance flasque des cornes utérine.

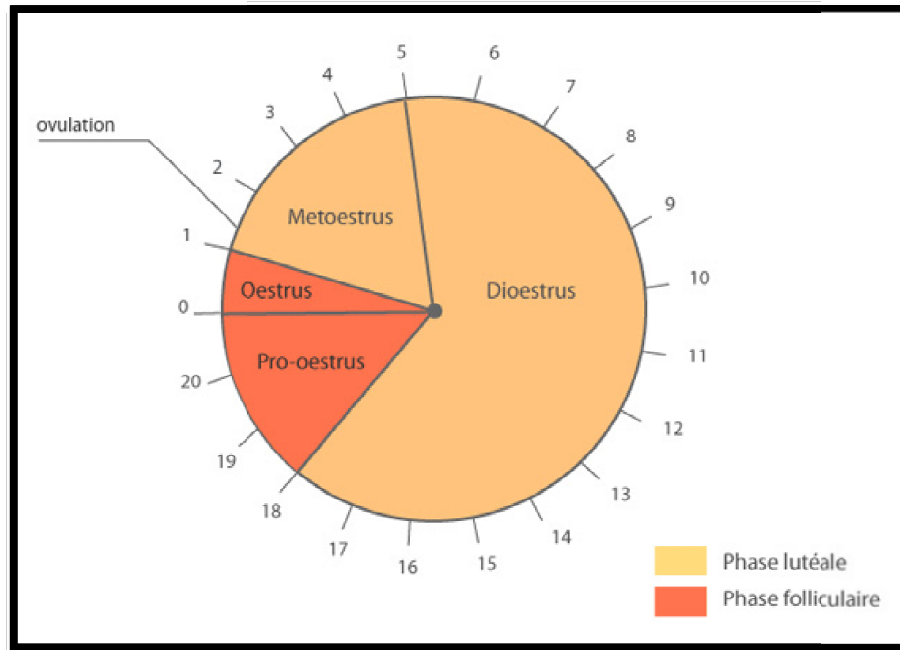


Figure 3 : le cycle œstral de la vache. (Reprologie.com)

1.2.4.2. Régulation hormonal du cycle œstral :

La physiologie du cycle sexuel est complexe et fait intervenir le système nerveux central (axe hypothalamo-hypophysaire) et l'appareil génital (ovaire et utérus) (BRUYAS, 1991). Les interactions entre ces organes au cours d'un cycle sont représentées sur la figure 4. Quand le corps jaune régresse à la fin du cycle (du 15^{ème} aux 19^{ème} jours du cycle), le rétrocontrôle négatif exercé par la progestérone sécrétée au cours de la phase lutéale par le corps jaune sur l'axe hypothalamo-hypophysaire est levé progressivement (MEREDITH, 1995). Les gonadotrophines hypophysaires, FSH et LH, stimulent la croissance du follicule dominant sous la dépendance de la sécrétion pulsatile de GnRH jusqu'au stade préovulatoire, et son activité sécrétoire, libérant des quantités croissantes d'œstradiol. En 2 à 3 jours, la forte augmentation d'œstradiol plasmatique (à l'origine du comportement de chaleurs) entraîne une décharge importante de FSH et de LH, provoquant l'ovulation.

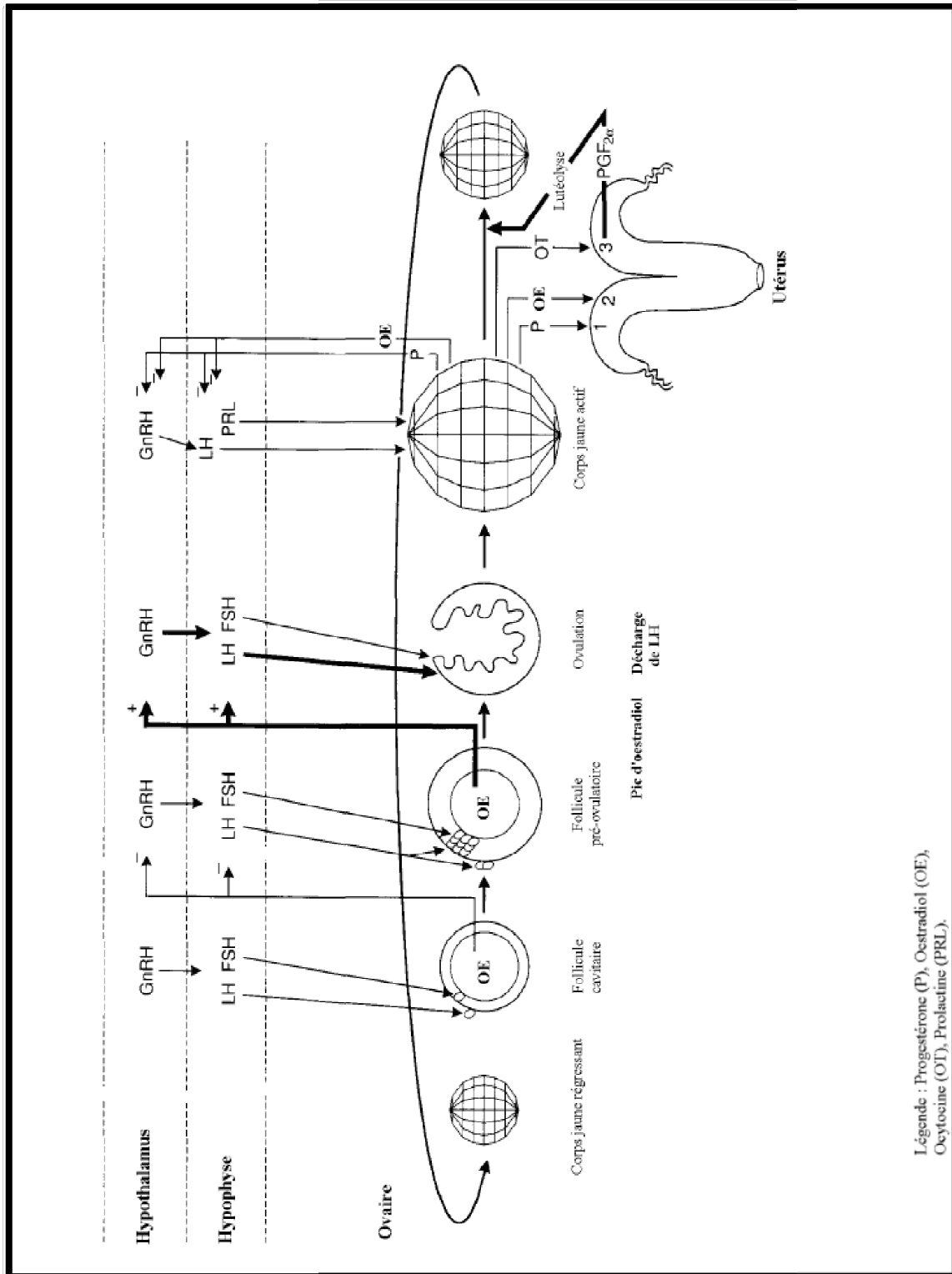


Figure 4 : Interactions entre hypothalamus, hypophyse, ovaire et utérus au cours du cycle œstral (d'après MEREDITH, 1995).

Le corps jaune néoformé se développe sous l'influence trophique de LH et de la prolactine, d'origine hypophysaire, il sécrète à la fois de la progestérone et de l'œstradiol, à l'origine d'un rétrocontrôle négatif marqué sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, ce qui inhibe une éventuelle sécrétion préovulatoire de gonadotrophines tout en permettant l'émergence d'une nouvelle vague folliculaire. La progestérone provoque le stockage de précurseurs d'acides gras dans l'endomètre (MEREDITH, 1995).

Après le 10^{ème} jour du cycle, à partir de ces précurseurs, l'œstradiol induit la synthèse de prostaglandines utérines PGF2 α , qui seront ensuite libérées par l'action de l'ocytocine lutéale sur ses récepteurs utérins. Leur effet lutéolytique aura pour conséquence d'un point de vue hormonal la diminution progressive de la progestéromémie. (MEREDITH, 1995)

1.2.4.2.1. Régulation de la sécrétion de GnRH :

L'initiateur et le régulateur fondamental de la fonction reproductrice est la GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone ou gonadolibérine*). Cette hormone est synthétisée et libérée par les neurones hypothalamiques, et se lie aux récepteurs spécifiques situés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse, ce qui provoque la synthèse et la libération des gonadotrophines, FSH et LH (FIENI *et al.*, 1995).

La FSH à son tour, agit spécifiquement sur les petits follicules ovariens pour stimuler leur croissance, tandis que la LH agit en plus sur le follicule dominant mûr pour provoquer la maturation finale et l'ovulation (FIENI *et al.*, 1995).

La GnRH est sécrétée par l'hypothalamus de façon pulsatile, et elle est elle-même responsable de la pulsativité des sécrétions gonadotrope (FIENI *et al.*, 1995).

1.2.4.2.2. Régulation de la croissance folliculaire :

Les stades initiaux de la folliculogenèse se produisent indépendamment des gonadotrophines. (WEBB *et al.*, 2003). En revanche, la FSH et la LH deviennent indispensables au développement des follicules dès le début de la maturation, grâce à une action synergique séquentielle, mais aussi parfois simultanée. Ces hormones sont animées d'une sécrétion de bas « tonique » à caractère pulsatile, de faible fréquence mais aussi à intervalles réguliers, puis, 24 heures avant l'ovulation, d'une décharge importante de courte durée, décharge « cyclique » ou ovulatoire, également pulsatile mais de haute fréquence (WEBB *et al.*, 2003).

a) Croissance folliculaire pré antrale :

Ce phénomène continu démarre lors de l'entrée en croissance des follicules primordiaux, à partir de la sortie du stock, jusqu'à la taille de 5 mm. Les gonadotrophines ne sont probablement pas indispensables dans l'initiation de la croissance folliculaire (MCNATTY *et al.*, 1999), bien que les ARNm des récepteurs à FSH et à LH semblent apparaître précocement (BAO *et al.*, 1998).

La régulation de cette première phase, dite non-gonadodépendante, semble être largement assurée par des facteurs locaux, à l'origine d'interactions entre les cellules de la granulosa et l'ovocyte : activines et inhibines, protéines BMP (*Bone Morphogenetic Proteins*), facteurs de croissance, en particulier IGF (Insulin-like Growth Factors), bFGF (basic Fibroblast Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor). et TGF β (Transforming Growth Factors β) (MCNATTY *et al.*, 1999).

b) Recrutement :

La formation de l'antra folliculaire coïncide avec l'acquisition d'une dépendance du développement folliculaire vis-à-vis des gonadotrophines. Au cours de la maturation folliculaire, les cellules de la granulosa acquièrent des récepteurs spécifiques à la FSH. La sécrétion de la FSH va provoquer à leur niveau deux effets biologiques : d'une part, grâce à l'action conjointe de l'IGF-I, la stimulation de l'aromatisation des androgènes, fournie par les cellules de la thèque, en œstrogènes ; d'autre part, l'apparition de récepteurs à LH sur les membranes cellulaires, toujours en relation avec l'IGF-I. Les œstrogènes synthétisés grâce à l'action synergique de la FSH et de la LH stimulent la multiplication des cellules de la granulosa, induisant ainsi la croissance du follicule et le développement de la cavité antrale remplie de liquide folliculaire (ENNUYER, 2000 ; FIENI *et al.*, 1995).

L'IGF-II, produit par les cellules thécales, serait le principal facteur ovarien de croissance folliculaire impliqué dans la régulation de la croissance des follicules cavitaires chez la vache (WEBB *et al.*, 1999).

c) Sélection :

Lors de la sélection, l'augmentation de la fréquence des pulses de LH stimule la production d'œstradiol et d'inhibine par la granulosa des gros follicules. Œstradiol et inhibine agissent conjointement en réduisant progressivement la sécrétion de la FSH, réduction, responsable de la sélection (WEBB *et al.*, 1999). En effet, la prévention de la chute de FSH par injection de cette hormone à petite dose conduit à une polyovulation (ENNUYER, 2000). Lorsqu'un follicule dominant a acquis

suffisamment de récepteurs à LH pour lui permettre de subsister quand le taux de FSH diminue, il sécrète de grandes quantités d'œstrogènes et continue à croître en raison de l'augmentation de sa propre sensibilité à la FSH et à la LH, et par production de facteurs locaux, notamment des IGF. L'action de l'IGF- I semble régulée par la concentration en ses protéines ligands, les *IGFBP (Insulin-like Growth Factor Binding Proteins)*: une diminution de la concentration en IGFBP, entraînant une plus grande biodisponibilité de l'IGF-I, serait déterminante dans le mécanisme d'acquisition de la dominance (AUSTIN *et al.*, 2001 ; MONGET *et al.*, 2002). La sécrétion réduite de FSH ne permet plus en revanche la croissance des follicules non sélectionnés (ENNUYER, 2000).

d) Dominance :

La LH induit la synthèse de progestérone par les cellules de la granulosa. La progestérone a un effet inhibiteur sur la production de 17- β -œstradiol : ainsi, sa sécrétion par le follicule dominant maintient les autres follicules dans un état d'immaturation en inhibant l'aromatase à leur niveau. Les follicules dominants ne seraient pas affectés en raison des concentrations importantes d'œstradiol présentes dans leur liquide folliculaire, tandis que les follicules atreétiques se caractérisent par leur richesse en androgènes (FIENI *et al.*, 1995). L'inhibine folliculaire, outre son action inhibitrice sélective sur la FSH empêcherait également l'aromatase (FIENI *et al.*, 1995).

La LH assure la maturation du follicule dominant, dont l'avenir dépend de la fréquence des décharges de LH, régulées par la GnRH. Lorsqu'un corps jaune est présent, la fréquence d'une décharge de LH toutes les 3 ou 4 heures aboutit à la perte de dominance et à l'atresie du follicule, donc à l'absence d'ovulation et d'œstrus. Une nouvelle vague folliculaire émerge alors, également précédée d'une augmentation transitoire de FSH, celle-ci commençant environ 60 heures avant le recrutement et se terminant lorsque celui-ci débute (HAMILTON, 1995).

Lorsque la fréquence est d'un pic par heure, l'ovulation peut avoir lieu. Celle-ci est possible lors de la levée de l'inhibition de la progestérone sur la production de GnRH, à la suite de la lyse du corps jaune du cycle précédent (ENNUYER, 2000).

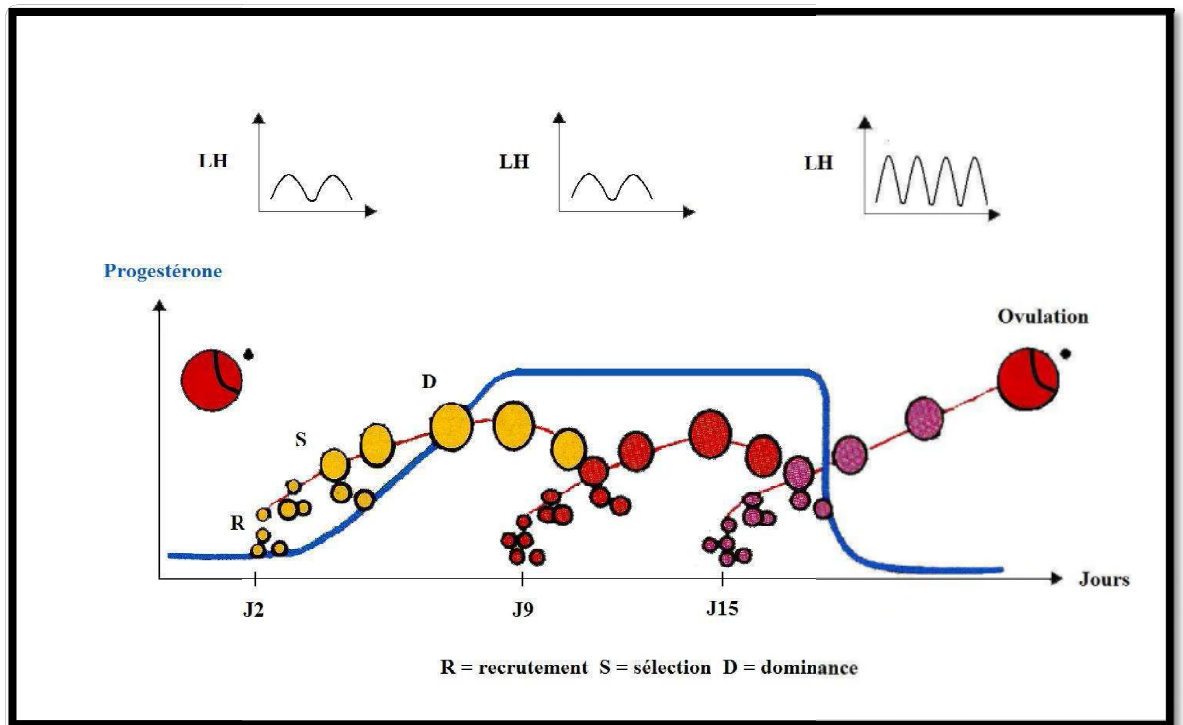


Figure 5 : Croissances folliculaires au cours d'un cycle œstral chez la vache. (D'après ENNUYER, 2000).

1.3. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle :

L'appareil génital mâle a pour rôle de produire des gamètes mâles et de les mettre en place dans les voies génitales de la femelle. Il est composé de trois grandes parties :

- Les glandes sexuelles ou testicules ou gonades ;
- Les voies génitales ou spermatiques ;
- Les glandes annexes.

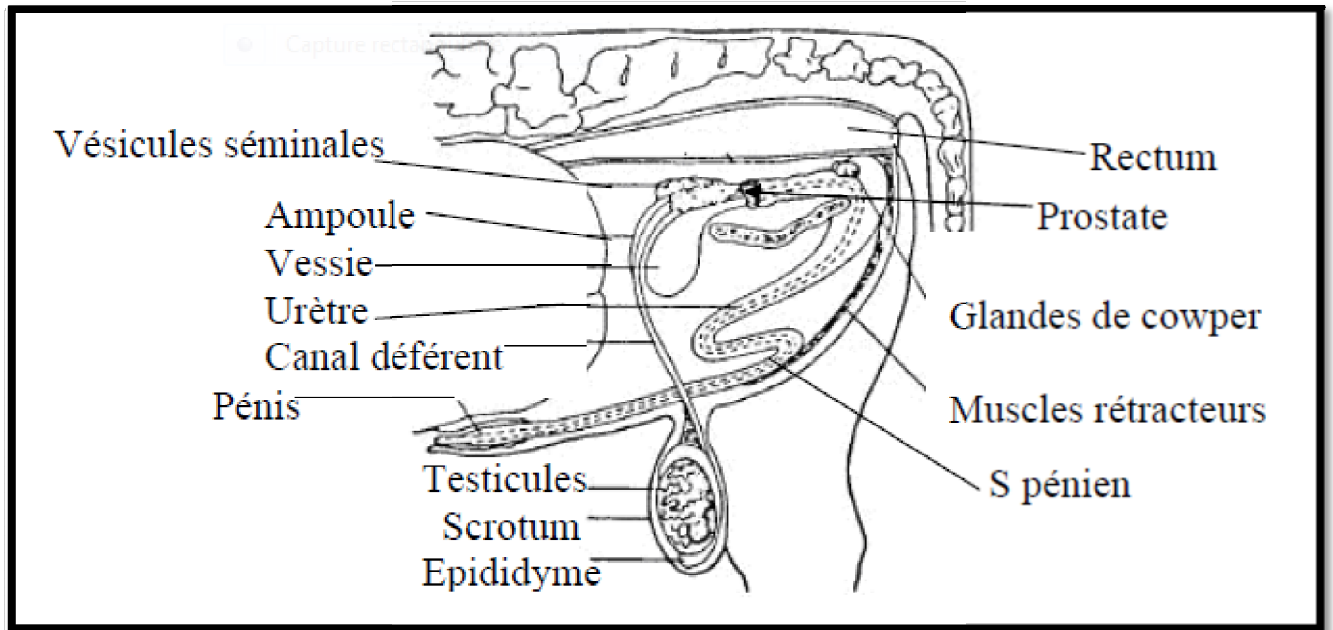


Figure 6 : Appareil reproducteur du taureau. (THIBIER, 1977)

1.3.1. Les testicules :

Les testicules sont des organes pairs, ils assurent une double fonction : une fonction exocrine avec la production de spermatozoïdes ou spermatogénèse et une fonction endocrine avec la production des hormones mâles.

Les testicules sont logés dans les bourses, dont le revêtement cutané est le scrotum, à l'extérieur de l'abdomen, afin que leur température soit inférieure de quelques degrés à celle du corps. Cette localisation permet le déroulement normal de la spermatogénèse.

Chez le taureau, la descente des testicules dans les enveloppes testiculaires s'effectue avant la naissance, vers 3 à 4 mois de gestation (CHENOWETH, 1997). Le testicule est pendulaire, à axe vertical et pèse approximativement 500 grammes vers deux ans. Il mesure alors en moyenne 11 à 15 cm de haut sur 7 à 9 cm de large, et 7 à 9 cm d'épaisseur pour une circonférence scrotale de 35 cm (SETCHELL, 1991). Chaque testicule est revêtu par une capsule fibreuse : l'albuginée. Elle s'enfonce dans le testicule pour constituer le corps de Highmore perforé par des vaisseaux et le rete testis. Entre l'albuginée et le corps de Highmore, sont tendues des cloisons ou septa, divisant le tissu en lobules. Chaque lobule contient 1 à 4 tubes séminifères très contournés, à l'intérieur desquels a lieu la spermatogénèse. La structure du tube séminifère comprend un épithélium séminal composé des cellules de Sertoli et des cellules germinales ainsi qu'un tissu de

soutien, la lamina propria, formée de fibres de collagène et de couches de cellules myoïdes (BARONE, 1990). Les espaces compris entre les tubes séminifères sont occupés par du tissu conjonctif au sein duquel sont répartis de petits amas de cellules interstitielles ou cellules de Leydig.

Les testicules sont irrigués par l'artère testiculaire, issue de l'aorte abdominale, qui se divise en branches terminales situées à l'intérieur de l'albuginée et des cloisons interlobulaires. Les veines testiculaires sont regroupées autour de l'artère testiculaire pour constituer le plexus pampiniforme qui permet le refroidissement du sang artériel. Les testicules sont innervés par des rameaux sensitifs et moteurs qui accompagnent l'artère testiculaire (DADOUNE, 2001).

1.3.2. Les voix spermatiques :

Elles recueillent, stockent et conduisent les spermatozoïdes ; elles comprennent :

- L'épididyme : plaqué contre le testicule, constitué de trois parties : la tête, le corps et la queue. La continuité de la tête de l'épididyme avec le testicule est assurée par les conduits efférents. Chez le Taureau il atteint 33 à 35 mètres selon MARTIN et SHAUDER (1938). De nombreux auteurs ont étudié la structure histologique de l'épididyme, HENRY (1900) sur le Rat, BENOIT (1925) chez différents animaux de laboratoire et aussi chez le Chat, le Chien, le Cheval et le Taureau, REID et CLELAND (1957) REID (1959) chez le Rat, NICANDER (1957-1958) chez le lapin, l'étalon, le Bélier et le Taureau. D'après ces auteurs la paroi du canal épидидymaire est constituée de trois couches cellulaires. En allant de la périphérie vers la lumière du canal on rencontre successivement : une couche de fibres musculaires lisses circulaires, une couche discontinue de cellules basales et enfin une couche continue de hautes cellules cylindriques. Cette structure de base se retrouve tout au long de l'épididyme mais la couche musculaire très mince dans la tête de l'épididyme, s'épaissit considérablement au niveau de la queue .L'épididyme phagocyte les spermatozoïdes dégénérés, réabsorbe le liquide testiculaire, sécrète des substances jouant un rôle dans la maturation des spermatozoïdes et permet leur évacuation dans le conduit déférent. (ORGEBIN-CRIST, 1961).
- Le canal déférent : faisant suite au canal épидидymaire, ce canal s'engage dans le trajet inguinal où il contribue à former le cordon testiculaire, il pénètre dans la cavité abdominale et atteint la face dorsale de la vessie formant un très léger

renflement pelvien avant de se jeter dans l'urètre. (BARONE, 1978 ., BONNES *et al.*, 2005).

- l'urètre: est un conduit uro-génital (il transporte urine et spermatozoïdes). L'urètre constitue la partie terminale des voies conduisant le sperme lors de l'éjaculation. Long de 100 à 120 cm, il comprend une partie pelvienne et une partie pénienne (RIGAL, 2008).
- Le pénis : Le pénis du taureau est de type fibro-élastique, les corps caverneux sont pauvres en tissus érectiles et pourvus d'une albuginée très épaisse (RIGAL, 2008). Pendant l'accouplement, le pénis sort du fourreau à la suite du déploiement de l'inflexion sigmoïde du pénis en forme de S ; les spermatozoïdes sont transportés des testicules jusqu'à l'urètre par le canal déférent et sont expulsés par le pénis (KABERA, 2008).

1.3.3. Les glandes annexes :

La palpation transrectale chez le taureau permet d'examiner ces glandes accessoires (REGAL, 2008). Il existe trois glandes qui sont : les glandes vésiculaires ou vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales :

- Les deux vésicules séminales : Crânio-latéralement à la prostate, les glandes vésiculaires sont aisément palpables par voie transrectale. Elles présentent une structure lobulaire, de 8 à 15 centimètres de long, de 3 à 5 centimètres de large pour 1 à 2 centimètres d'épaisseur. Des vésicules séminales normales sont uniformes en taille, lobulées, mobiles et turgescents (RIGAL, 2008). Les deux vésicules séminales secrètent un produit lubrifiant, coagulant, protégeant (antibiotique), et nourrissant la semence dans l'urètre. Ce sont les principales glandes annexes à l'origine de la sécrétion de fructose, principal substrat énergétique des spermatozoïdes. Les concentrations en fructose sont particulièrement élevées dans le plasma séminal du taureau et du bélier. Les glandes vésiculaires produisent également de l'inositol et de l'acide citrique en quantité importante. Chez le taureau, des concentrations élevées en sodium, potassium, calcium et magnésium sont observées. Le pH alcalin des sécrétions des glandes vésiculaires est dû à une concentration importante en bicarbonates (KNOBII *et al.*, 1988).
- La prostate: sécrète un liquide riche en élément minéraux, zinc principalement puis calcium, magnésium et potassium. Les sécrétions prostatiques

contiennent de nombreuses protéines dont la plupart présentent une activité protéasique. Le pH du liquide prostatique est acide ; il contient de l'acide citrique et une protéine spécifique, la spermine, qui intervient dans les mécanismes de défense immunitaire. La prostate est également source de vésicules lipidiques qui peuvent transférer des lipides par fusion membranaire avec les spermatozoïdes (DACHEUX, 2001).

- Les glandes bulbo-urétrales : appelée aussi glande de Cowper, produisent une sécrétion qui donne une consistance au sperme et nettoie l'urètre avant l'éjaculation. Le principal composant de la sécrétion des glandes bulbo-urétrales est la sialomucine qui est responsable de la gélification de la semence après son émission. Elles contiendraient aussi des phéromones jouant un rôle dans l'attraction des femelles (KNOBIL *et al.*, 1988).

1.4. Physiologie de l'appareil reproducteur mâle :

1.4.1. La spermatogenèse :

La spermatogenèse est le processus par lequel les cellules germinales diploïdes indifférenciées sont progressivement transformées en cellules haploïdes hautement spécialisées nommées spermatozoïdes (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001). Ce phénomène reste quiescent jusqu'à ce que la puberté du mâle soit atteinte. La durée de la spermatogenèse est d'environ 54 jours chez le taureau ; La durée moyenne de transit dans l'épididyme est de 8 jours (HOCHEREAU *et al.*, 1964). L'entrée des spermatogonies souches dans le processus de spermatogenèse ou cycle séminal se fait à intervalles réguliers de 13,5 jours. La spermatogenèse se déroule en trois phases : la phase proliférative, la phase méiotique et la phase de différenciation (EDDY, 1998).

- La phase proliférative :

La prolifération des spermatogonies souches se déroule en périphérie des tubes séminifères, et les spermatogonies remontent progressivement vers la lumière des tubules au fur et à mesure qu'ils franchissent les diverses étapes de maturation et qu'ils deviennent des spermatozoïdes différenciés relâchés dans la lumière. (DEJONGE et BARRAT, 2006). Lors de cette étape, les spermatogonies de type A seront responsables de maintenir une population de cellules germinales suffisantes pour la spermatogenèse, et leurs multiples divisions mitotiques seront responsables de l'immense production subséquente de spermatozoïdes. Ces spermatogonies sont

en contact avec la lame basale de l'épithélium séminifère et ils se transformeront en spermatocytes de premier ordre (FRASER, 2013).

– La phase méiotique :

L'étape suivante sera la phase méiotique de ces spermatocytes. Cette étape sera marquée par la synthèse de l'ADN nécessaire à la réplication des chromosomes, par la recombinaison et l'échange de matériel génétique entre 2 chromosomes homologues et par le détachement des cellules de la lame basale de l'épithélium. Les spermatocytes de premier ordre subiront une première division méiotique, dite réductionnelle, afin de devenir des spermatocytes de deuxième ordre comportant chacun un chromosome formé de deux chromatides. Ceux-ci subiront une deuxième division méiotique, celle-ci dite équationnelle, alors qu'il y aura séparation des centromères pour faire place aux spermatides, cellules haploïdes qui ne comporteront qu'un seul chromatide (DEJONGE et BARRAT, 2006).

– La phase de différenciation :

Lors de la phase de différenciation, aussi appelée spermiogenèse, les spermatides ronds subiront plusieurs modifications morphologiques qui les transformeront en spermatozoïdes sans toutefois subir de division cellulaire (BERNDSTON and DESJARDINS, 1974). Cette étape sera caractérisée par le développement du flagelle, de l'acrosome et de la tête du spermatozoïde. Une élimination presque complète du cytoplasme sera observée et la condensation extrême de l'ADN nucléaire mettra fin aux activités transcriptionnelles et traductionnelles du spermatozoïde (DEJONGE et BARRAT, 2006). Ces nouvelles cellules haploïdes spécialisées seront alors relâchées de l'épithélium séminal pour se retrouver dans la lumière des tubules.

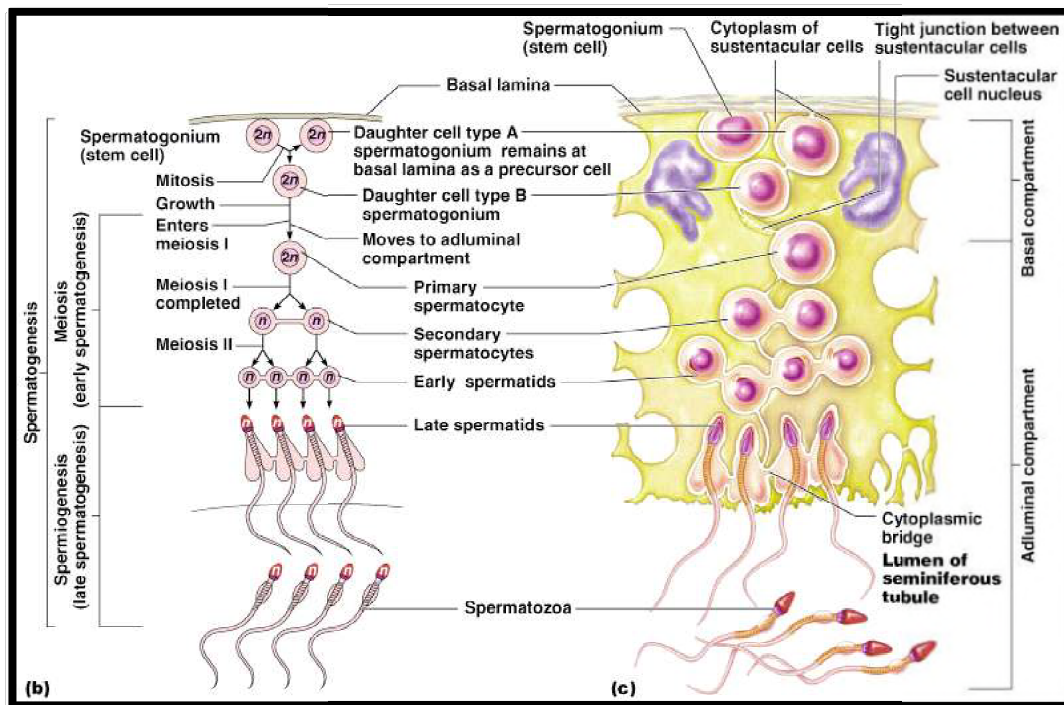


Figure 7 : Schéma récapitulatif de l'évolution des cellules de la lignée germinale mâle. (GAYRARD, 2007).

1.4.2. Le spermatozoïde :

Le spermatozoïde normal mesure environ 70 μm chez le taureau. La tête du spermatozoïde est de forme ovoïde et aplatie, elle mesure 8 à 9 μm de longueur, 4 à 4,5 μm de largeur et 0,5 à 1 μm d'épaisseur. L'acrosome couvre environ 60% de la tête et forme sur le bord antérieur une crête apicale, sorte de bourrelet (BAHR et ZEITLER, 1964).

La pièce intermédiaire fixée à la tête, forme un cylindre d'environ 10 à 12 μm de long et d'un diamètre de 1 μm . Le flagelle mesure de 52 à 55 μm de longueur pour un diamètre de 0,5 μm et se termine par une section filamenteuse de 0,2 μm de diamètre (BAHR et ZEITLER, 1964).

Le cytosquelette de la tête du spermatozoïde couvre trois régions : la partie sub-acrosomale, qui est située entre l'acrosome et le noyau, la partie post-acrosomale, qui est située entre le noyau et la membrane plasmique postérieure forment la thèque périnucléaire précédemment citée, la troisième région occupée par le cytosquelette est la région para-acrosomale, située entre l'acrosome et la membrane plasmique sub-acrosomale. La tête comprend aussi une vésicule ; l'acrosome qui contient les protéases et les récepteurs nécessaires pour la liaison du

spermatozoïde à la zone pellucide de l'ovule, lors de la réaction acrosomale. Elle est entourée des membranes acrosomales internes et externes (DEJONGE et BARRAT, 2006).

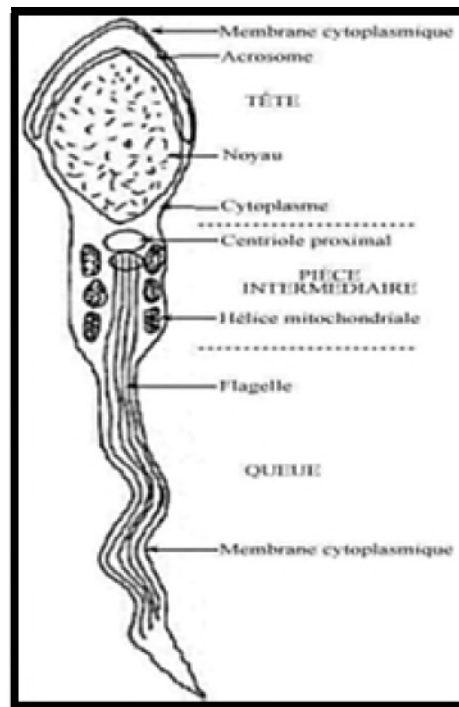


Figure 8: Représentation schématique de la morphologie du spermatozoïde mûr (Source : <http://mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio2460>)

1.4.3. Régulation de la fonction sexuelle mâle :

La fonction sexuelle mâle est essentiellement contrôlée par les sécrétions hormonales. L'hypothalamus secrète un peptide appelé GnRH qui stimule la synthèse hypophysaire et la libération de deux hormones gonadotropes FSH et LH.

Les cellules de Sertoli (cellules somatiques des tubes séminifères) possèdent des récepteurs sensibles à la FSH. Les cellules de Leydig (cellules interstitielles des testicules) possèdent des récepteurs sensibles à la LH.

La testostérone sécrétée par les cellules de Leydig intervient dans le contrôle des caractères sexuels : primaires ; (développement de l'appareil reproducteur et de son fonctionnement), secondaires ; (morphologie de type mâle) et tertiaires ; (comportement). Les cellules de Sertoli produisent l'Inhibine qui exerce une rétroaction au niveau hypophysaire. Elles produisent également de l'ABP (*Androgen Binding Protein*) assurant le transport de la testostérone vers les cellules germinales et la lumière du tube séminifère. Les interactions entre ces hormones contribuent à

assurer un équilibre dynamique (indispensable au déroulement de la gamétogenèse et à l'émission du sperme (KABERA, 2008).

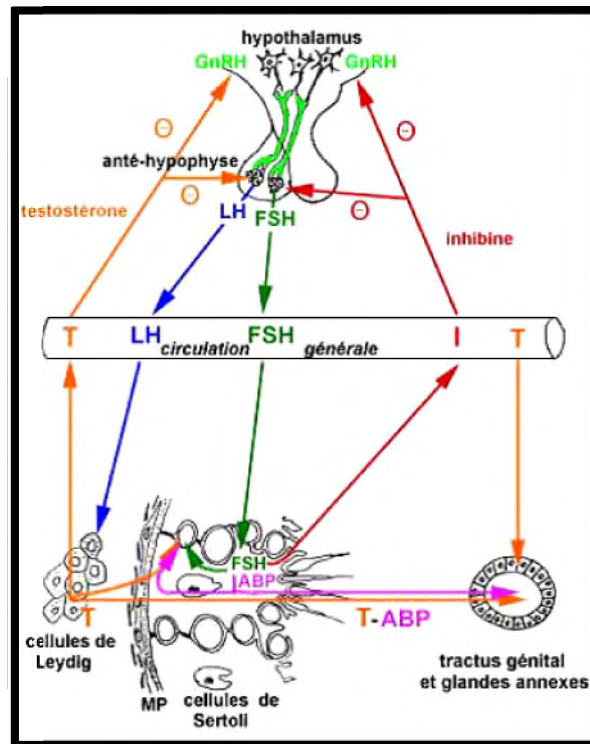


Figure 9: Contrôle neuroendocrinien de l'appareil génital masculin (Source: <http://spiral.univlyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasculin/gm6rd.html> (page consultée le 20 septembre 2007)

1.5. La fécondation :

La fécondation chez les mammifères est un phénomène complexe. Cet événement nécessite une parfaite synchronie entre deux types cellulaire d'origine très différentes, qui doivent se rencontrer et se fusionner. Le processus de fécondation comprend les étapes suivantes :

1.5.1. La capacitation:

Avant de rencontrer les COC (complexe ovocytes -cumulus), les spermatozoïdes doivent subir dans le tractus génital femelle une dernière série de modifications qui les rendras aptes à féconder l'ovule. Ces modifications sont désignées par le terme de capacitation. (ABOU-HAILA et TULSIANI, 2009).

La capacitation consiste entre autre à séparer les spermatozoïdes du plasma séminal et de modifier et réorganiser différentes molécules de leur membrane

plasmatique (JONE, 1989). Ces modifications sont effectuées tout au long de l'utérus et de l'oviducte lorsque les spermatozoïdes sont libérés du plasma séminal contenant des facteurs décapacitants. Les principaux objectifs de la capacitation sont de rendre le spermatozoïde hyperactivé, capable d'effectuer la réaction d'acrosome et capable de se lier à l'ovule. L'hyperactivation du spermatozoïde consiste en une augmentation significative de sa mobilité. Le déplacement latéral de la tête du spermatozoïde et le battement asymétrique de son flagelle en seraient augmentés. (HARVEY, 2006). Ce changement essentiel serait utile afin de traverser le mucus présent dans l'oviducte et le cumulus entourant le gamète femelle. L'hyperactivation favoriserait aussi le détachement du spermatozoïde de la paroi de l'oviducte afin de rejoindre le site de fécondation.

Trois mécanismes entre en jeu pour que la capacitation ait lieu :

- L'enlèvement par les glycosaminoglycanes des voies génitales femelles des protéines liées à la membrane plasmique du spermatozoïde possédant un récepteur pour ces glycanes ; d'autres protéines non liées à la membrane par des liaisons covalentes, sont détachées et fixées par l'albumine ; le pH bas du milieu utérin ($\leq 6,5$) facilite aussi leur détachement.
- L'enlèvement du cholestérol libre par l'albumine et la lipoprotéine HDL, présente dans les sécrétions génitales, qui sont des accepteurs du cholestérol.
- Le remaniement de chaînes oligosaccharidiques de protéines intramembranaire par des enzymes présentes dans le milieu génital et l'entrée de calcium (Ca^{2+}) (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001).

1.5.2. La réaction acrosomiale :

L'acrosome est une enveloppe composée de la membrane interne et externe et elle couvre la portion antérieure du noyau du spermatozoïde. L'acrosome contient plusieurs molécules qui seront par la suite libérées suite à un signal extérieur. Ces molécules, qui peuvent être des protéinases ou des glycohydrolases, seront très importantes afin de permettre au spermatozoïde hyperactivé de traverser la zone pellucide.

La réaction d'acrosome permettrait aussi à certaines protéines de la membrane interne de l'acrosome d'être exposées à l'environnement extracellulaire.

Ces protéines auraient un rôle important dans la fécondation, notamment pour la liaison secondaire des spermatozoïdes à la zone pellucide de l'ovule.

La réaction d'acrosome ne peut se produire que si et seulement si le spermatozoïde a été capacité. C'est lorsque le spermatozoïde a procédé à son attachement primaire à la zone pellucide de l'ovule. La réaction acrosomique est dépendante des ions Ca^{2+} , elle s'accompagne toujours d'une élévation du calcium intracellulaire et qui est induite par les glycoprotéines de la zone pellucide (GAYRARD, 2007).

1.5.3. La fusion des gamètes :

Le spermatozoïde après avoir franchi la zone pellucide, pénètre dans l'espace périvitellin et entre en contact avec la membrane plasmique de l'ovocyte. Il s'immobilise alors et les deux gamètes fusionnent. La fusion se produit entre la membrane plasmique de l'ovocyte et celle du spermatozoïde. La membrane plasmique du spermatozoïde est intégrée à celle de l'ovocyte au cours de la fusion. Par contre, la membrane acrosomique interne est incorporée dans le cytoplasme de l'ovocyte en même temps que le noyau du spermatozoïde. L'enveloppe nucléaire disparaît rapidement après la fusion et la chromatine mâle commence à se décondenser (GAYRARD, 2007).

L'activation de l'ovocyte par le spermatozoïde entraîne des modifications de son métabolisme, ainsi que des remaniements cellulaires importants qui se manifestent par l'expulsion des granules corticaux et l'achèvement de la deuxième division de la méiose. (GAYRARD, 2007).

CHAPITRE 2 :
ALIMENTATION ET NUTRITION DANS LA
REPRODUCTION

L'impact de la nutrition sur la reproduction est reconnu depuis longtemps, Aristote a écrit que la nutrition était le facteur environnemental le plus important dans le contrôle de la conception, actuellement, les effets de la nutrition sur la reproduction vont dans le même sens, les animaux en mauvaise condition, ou perdant de poids ont généralement des performances reproductives décevantes, cela est le résultat d'une hiérarchisation des propriétés des nutriments. Après le vêlage, la vache dirige en priorité l'énergie consommée vers la production, et en second lieu vers la reprise de la condition de chair (tissus adipeux). C'est seulement une fois que ces besoins sont satisfaits que le processus de reproduction soit ré-initié. (BRISSON, 2003)

2.1. Le statut énergétique dans la reproduction :

L'énergie à un grand impact sur les performances de reproduction, c'est un aspect de la nutrition dont la gestion présente des défis importants et encore d'avantage pour les vaches fortes productrice. Pour des performances de reproduction satisfaisantes, l'énergie joue des rôles multiples : production d'hormones de la reproduction comme la LH, la progestérone, activité ovarienne, développement des ovocytes. Toutes les précautions prise pour améliorer la consommation de matière sèche en début de lactation aura un effet positif sur la reproduction. (BRISSON, 2003)

L'état énergétique d'un animal n'est pas facile à apprécier, l'estimation de la valeur énergétique de la ration n'est pas suffisante car les quantités ingérées varient beaucoup entre les individus, notamment pendant le post-partum, et particulièrement pour les fourrages. La notion d'état corporel, qui évalue l'état d'engraissement superficiel, est la méthode la plus couramment employée. Elle présente l'avantage d'être peu coûteuse en investissement et en temps. Son interprétation est moins sujette à caution que celle de la pesée, rendue délicate par les variations de poids des réservoirs digestifs et utérins. (WOLTER, 1992), cette technique est complémentaire des dosages chimiques.

2.2. Note d'état corporel :

La couverture grasseuse de 4 points anatomiques arrière (base de la queue, tubérosité ischiatique, détroit caudal et ligne du dos), et 2 points latéraux (pointe de la hanche, apophyses transverses et épineuse) est évaluée visuellement grâce à des grilles de notation comme celle établie par l'ITEB (BAZIN, 1984). À chaque critère anatomique est attribuée une note de 0 (vache cachectique) à 5 (vache très grasse) ;

la moyenne de ces 6 notes donne une note globale, dont la précision est évaluée en demi-point. Un point de note correspond à environ 20-25 Kg de lipides chez un animal de 600 Kg. (Tableau3).

Tableau 3: Principaux critères d'appréciation de l'état corporel des vaches laitières Prim'Holstein (BAZIN, 1984).

NOTE	NOTE ARRIERE				NOTE FLANC	
	Pointe des fesses	Ligament sacro-tubéral	Détroit caudal	Epine dorsal	Pointe de la hanche	Apophyses vertébrales
5	Invisible	Invisible	Comblé	Invisible (dos plat)		
4	Peu invisible	Peu visible	Presque comblé	A peine visible		Epineuses repérables
3	Couverte	Bien visible	Limites planes	Visible couverte		Epineuses visibles
2	Non couverte	Légèrement couvert	Légèrement creusé	Ligne marquée	Crête invisible	Transverses à angle vif
1		En lame	Profond	Ligne irrégulière	Crête visible	Transverses séparées
0		Très saillant	Très creusé	Corps vertébral apparent		

L'inconvénient de cette technique est sa subjectivité, qui peut être plus ou moins maîtrisée grâce à des critères de notation très précis, un nombre restreint de personnes effectuent ces notations. La répétabilité de la notation (corrélation entre les notes attribuées à un même animal par un même juge au cours de différents tests) atteint 82% et la reproductivité (corrélation entre la note mise par plusieurs juges au cours d'un même test) 79%. (AGABRIEL *et al.*, 1986)

La notation d'état corporel est donc un outil de choix pour les scientifiques et les éleveurs : outre son faible coût et sa facilité de mise en œuvre, cette technique bien maîtrisée permet une estimation fiable de l'état d'engraissement. (BROSTER et BROSTER, 1998)

2.3. Influence de l'équilibre énergétique :

Au cours du post-partum et pendant une durée variable, la vache présente un équilibre énergétique négatif dont la valeur et la durée dépendent des apports

alimentaires, du niveau de production laitière, mais également des réserves corporelles acquises par l'animal au moment du vêlage.

Avant et après le vêlage, une sous-alimentation sévère (apports inférieurs de 10 à 20 % aux besoins requis) et prolongée de la vache affecte la fonction ovarienne, folliculaire et lutéale, et contribue à allonger la durée de l'anœstrus après le vêlage. Davantage que la valeur absolue de l'état corporel lors du vêlage, c'est la quantité et la durée des pertes en énergie (équilibre énergétique négatif) qui affecteraient le délai nécessaire à l'obtention d'une gestation. (HANZEN, 2004). La sous-alimentation contribue à diminuer le nombre d'œstrus manifestés par l'animal avant sa première insémination et donc à entraîner une réduction de sa fertilité. Elle est également de nature à réduire les manifestations œstrales lors des premières croissances folliculaires au cours du post-partum.

Les effets de l'alimentation en général, et de l'équilibre énergétique en particulier, sur l'activité ovarienne au cours du post-partum sont complexes (MONGET, 2004).

Les états de sous-nutrition sont associés à une réduction de la libération de GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*) par l'hypothalamus et de la pulsatilité des hormones hypophysaires LH (hormone lutéinisante) et FSH (hormone folliculostimulante). La voie des peptides endogènes opiacés (EOP) mériterait d'être davantage étudiée. En début de lactation, un équilibre énergétique négatif se traduit par une hypoglycémie et par une hypo-insulinémie qui exercent divers effets sur l'hypothalamus et l'ovaire. Une médiation par l'*Insulin-like Growth Factor* (IGF) des effets de l'équilibre énergétique sur l'activité ovarienne au cours du post-partum est également envisageable, la concentration de ce facteur étant inversement proportionnelle au niveau de production laitière, mais positivement corrélée avec le niveau de déficit énergétique. (MONGET, 2004)

La leptine s'opposerait à l'inhibition de la GnRH par le neuropeptide Y et de l'hormone LH par les endorphines et l'alpha-MSH (*Melanocyte Stimulating Hormone*). La leptine jouerait le rôle d'adipostat capable de renseigner l'hypothalamus de la femelle sur les réserves énergétiques à long terme, et donc sur la possibilité de mener à bien une croissance folliculaire optimale, suivie d'une ovulation et d'une gestation. (HANZEN, 2004)

Ces quelques illustrations de l'impact de l'alimentation sur la fertilité confirment l'intérêt pratique d'une détermination régulière de l'état corporel des

animaux au moment du vêlage et dans les semaines qui suivent, même si, en général, la balance énergétique est évaluée sur la base d'apports et de besoins de la vache moyenne du troupeau et qui ne s'appliquent donc pas nécessairement à des situations individuelles. Une plus grande exactitude dans l'évaluation individuelle d'un équilibre énergétique négatif serait obtenue par l'identification d'une diminution des concentrations sanguines du glucose et de l'insuline, d'une augmentation des concentrations de l'acide β -hydroxybutyrique ou des acides gras, et par le dosage de la leptine, des hormones thyroïdiennes et de l'IGF-I (HANZEN, 2004).

Chapitre 3 :
Techniques de collecte et d'analyse du sperme

La collecte du sperme est une phase capitale en centre de recherches et d'insémination. En effet, sa réalisation conditionne en grande partie la qualité biologique et bactériologique de la semence. Le sperme des taureaux est classiquement collecté au vagin artificiel, cette méthode nécessite un entraînement des taureaux. Une autre méthode de récolte du sperme est l'électro-éjaculation, est utilisée de façon plus ponctuelle, elle constitue une alternative intéressante à la méthode de collecte du sperme au vagin artificiel ; notamment lorsque les taureaux ne sont pas capables de donner le coup de rein concomitant à l'éjaculation. Une troisième méthode est la collecte du sperme au niveau de l'épididyme directement après la mort de l'animal, cette méthode paraît très importantes vu la haute valeur du sperme épидидymaire.

3.1. Techniques de collecte du sperme épидидymaire :

On peut prélever du sperme épидидymaire d'un animal vivant sous anesthésie générale avec une intervention chirurgicale. Le principe consiste à faire une microponction du canal déférent en lui introduisant un petit tube (canule) et permettre à son extrémité d'avancer à l'extérieur à travers le scrotum pour la collection du sperme dans une petite fiole (DEUTSCHEUR *et al.*, 2007).

Comme on peut aussi procéder à une collecte post-mortem à partir d'un animale mort. Trois méthodes principales de récupération de sperme épидидymaire post-mortem ont été adoptées dans différentes espèces domestiques et sauvages :

a. la méthode de découpage « cutting-method » :

Cette technique consiste à réaliser plusieurs coupes avec une lame sur la partie caudale de l'épididyme et le fluide spermatique émergeant des tubules est rassemblé (KAABI *et al.*, 2003).

b. La méthode « float-up » :

La méthode float-up a été décrite par CARY *et al.*, en 2004. La partie caudale de l'épididyme et le canal déférent sont incisés avec un scalpel dans une boîte de pétris, lavé avec 2.5 ml de solution (alcool à 70°) chauffée à 37°C et ensuite transférée dans une deuxième boîte de Pétri et lavée encore avec 2.5 ml de la même solution (alcool à 70°). La suspension de sperme obtenue à partir des deux étapes

de lavage est filtrée à travers une passoire inoxydable de 200µm et rassemblée dans un tube en verre (CARY *et al.*, 2004).

c. La méthode « retrograde-flushing » :

La méthode de rinçage est décrite par MARTINEZ-PASTOR *et al.*, en 2006. Les parties caudales et les canaux déférents sont isolés du reste de l'épididyme en faisant une coupe avec un scalpel près de la jonction du corps et de la partie caudale proximale. Ensuite, une aiguille est introduite dans la lumière du canal déférent. Le fluide spermatique est alors rincé avec une seringue chargée avec 4 ml d'une solution isotonique chauffée à 37°C dans une direction rétrograde en allant du canal déférent vers la partie caudale (MARTINEZ-PASTEUR *et al.*, 2006).

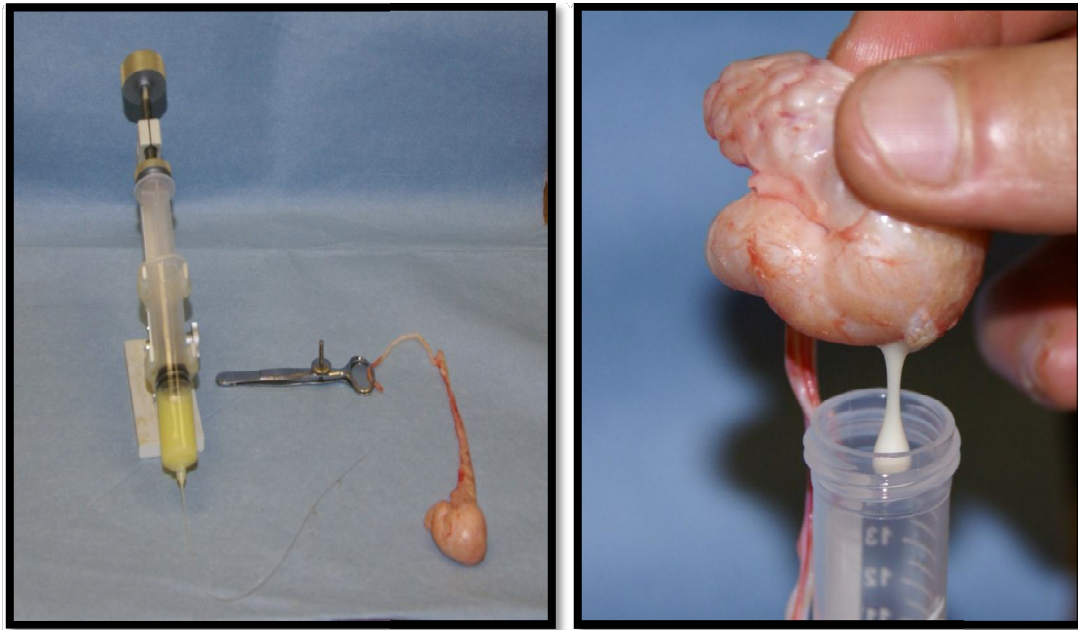


Figure 10 : collecte de semence avec la méthode « retrograde-flushing » (STOUT., 2012).

3.2. Evaluation de la qualité du sperme :

L'évaluation de la qualité du sperme a pour objectif d'apprécier ses caractéristiques afin de définir le niveau possible de sa dilution. Elle permet ainsi de préparer une semence correspondant à l'optimum biologique et économique recherché. Elle comporte des examens macroscopiques, microscopiques, physico-chimiques et biochimiques (KABERA, 2008).

3.2.1. Examens macroscopiques :

Ils ont pour but d'apprécier le volume de l'éjaculat, sa couleur et sa viscosité.

a. Volume de l'éjaculat :

Le volume de l'éjaculat est lu sur le tube de collecte gradué. Ce volume varie de 0,5 à 14 ml, en fonction de l'âge, la race, l'alimentation, l'état de santé, les conditions de récolte ainsi que de la fréquence de récolte. Le volume moyen est de 6 ml chez un taureau adulte, tandis qu'il est de l'ordre de 2 ml chez le jeune. (KABERA, 2008).

b. Couleur du sperme :

Chez le taureau, la couleur normale du sperme est dans la plupart des cas ivoire-crème ou blanc-laiteux, blanc-jaunâtre (en fonction de la concentration de spermatozoïdes). La couleur de l'éjaculat peut varier du blanc clair au jaune brillant (EZEKWE, 1988) et son aspect est généralement homogène et crémeux (DJABAKOU *et al.*, 1984).

Le sperme pathologique peut avoir, selon les cas, une couleur brunâtre, rosée, bleuâtre, jaunâtre, rougeâtre ou grisâtre.

c. Viscosité du sperme :

Elle traduit la consistance du sperme et en même temps sa concentration en spermatozoïdes. Une bonne viscosité est probablement synonyme d'une bonne concentration en spermatozoïdes.

3.2.2. Examens microscopiques

Ils comportent l'évaluation de la motilité, de la concentration en spermatozoïdes, du pourcentage en spermatozoïdes vivants et de la morphologie des spermatozoïdes.

a. Motilité :

C'est un élément d'appréciation de la vie ou de la mort des spermatozoïdes et de leur niveau de vivacité. Elle peut porter sur la semence globale après récolte (motilité massale et motilité individuelle) ou sur la semence diluée en s'intéressant

aux spermatozoïdes individualisés (motilité individuelle), cette évaluation est subjective.

– **Motilité massale :**

Elle s'apprécie au microscope au grossissement x10. A l'examen microscopique d'une goutte de sperme non diluée, l'observateur s'intéresse aux mouvements et à l'effet du déplacement des spermatozoïdes dans le liquide séminal. A l'issue de l'observation, en fonction du mouvement de masse des spermatozoïdes, une note de 0 à 5 est attribuée à chaque éjaculat. Certains auteurs convertissent cette note en pourcentage fictif de spermatozoïdes mobiles. L'exigence minimale pour un éjaculat correspond à un bon mouvement de masse qui doit être tourbillonnant [une note supérieure à 3 (environ 60% de spermatozoïdes mobiles)] (Tableau 4).

Tableau 4 : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité massale (coopérative l'aigle, 2007). [Http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm](http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm), page consulté le 12 Septembre 2007.

Note	0	1	2	3	4	5
% de spermatozoïde mobile	0%	Environ 20%	Environ 40%	Environ 60%	Environ 80%	Près de 100%

– **Motilité individuelle :**

Elle s'apprécie au microscope au grossissement x40. C'est l'appréciation du mouvement des spermatozoïdes par leur déplacement à travers le champ microscopique. Les mouvements normaux des spermatozoïdes sont oscillatoires et progressifs. Ce test se réalise sur du sperme dilué à 1/10 de sérum physiologique. Il permet de déterminer approximativement le taux de spermatozoïdes vivants et d'affecter au sperme une note allant de 0 à 5 (Tableau 5). Un bon sperme doit avoir au moins 60 à 70 % de spermatozoïdes vivants (KABERA, 2008). (Évaluation objective voir titre 3.3)

Tableau 5 : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité individuelle dans une grille de notation de 0 à 5.

Critères	Notes
Absence de spermatozoïdes : azoospermie	0
Absence de spermatozoïdes vivants : spermatozoïdes morts (absence de mobilité)	1
25% de spermatozoïdes vivants	2
60% de spermatozoïdes vivants	3
80% de spermatozoïdes vivants	4
100% de spermatozoïdes vivants	5

b- Concentration du sperme :

Elle peut être déterminée par :

- comptage direct des spermatozoïdes en utilisant la cellule de THOMA sur du sperme dilué à 3% de Na Cl ;
- l'utilisation de la densité optique ;
- l'utilisation de compteur électronique ;
- la détermination du volume cellulaire par centrifugation.

Après comptage des spermatozoïdes, en utilisant la cellule de THOMA, le nombre de spermatozoïdes est déterminé par la formule : $C=N \times 4 \times 10 \times d$, avec :

- N : le nombre de spermatozoïdes (spermatozoïde) dans quatre grandes carrées de la cellule de THOMA ;
- C : la concentration en spermatozoïdes du sperme ;
- x4 : puisque la cellule contient 16 carrées ;
- x10 : profondeur de la chambre ;
- d : taux de dilution.

Le bon sperme a une concentration supérieure à $0,5 \cdot 10^9$ spermatozoïdes/ml. (KABERA, 2008).

c- Pourcentage de spermatozoïdes vivants :

La détermination se fait à l'aide de colorants spéciaux (Eosine nigrosine, bleu de méthylène ou bleu de bromophénol) qui peuvent traverser la membrane des

spermatozoïdes morts et les différencient donc des vivants. En fonction du taux de spermatozoïdes vivants, une note est attribuée à chaque éjaculat et varie de 0 à 5 (Tableau 5). (KABERA, 2008)

d- Morphologie des spermatozoïdes :

L'examen morphologique permet de différencier les spermatozoïdes normaux des anormaux et les spermatozoïdes vivants des morts. Cette méthode est basée sur la coloration sélective de certains organes selon qu'ils soient normaux ou anormaux ou selon que les cellules soient mortes ou vivantes. La morphologie est appréciée sur des frottis de sperme colorés (encre de Chine, Giemsa, Eosine-aniline ou bleu de bromophénol). Pour être admissible, le sperme doit contenir moins de 25% de spermatozoïdes anormaux et plus de 60 % de spermatozoïdes vivants (note ≥ 3 : tableau 5). (KABERA, 2008)

3.2.3. Etude physico-chimique et biochimique du sperme :

L'activité métabolique des spermatozoïdes est un important indicateur de la qualité du sperme. L'évaluation peut se faire par plusieurs moyens tels que la mesure du pH (DERIVAUX, 1971), l'indice de fructolyse, la réduction du bleu de méthylène, le test de résistance au NaCl, l'oxydation du pyruvate (MELROSE et TERNER, 1952), la réduction de la résazurine, etc. Le pH normal du sperme est proche de la neutralité (pH=7) avec de faibles variations (6,8 à 7,2). Mais plusieurs auteurs cités par TRAORE (1996), préconisent qu'il est légèrement acide car le pH peut descendre à 6,5.

3.3. Evaluation de la mobilité spermatique :

La mobilité est l'un des paramètres les plus importants utilisé pour l'évaluation de la qualité et la fertilité du sperme, et qui nous prévoie d'importantes informations sur le statu énergétique du sperme chez les mammifères. La mobilité est un facteur essentiel pour le sperme afin d'atteindre le site de fécondation au niveau de l'oviducte (YÁNIZ *et al.*, 2000 ; YÁNIZ *et al.*, 2006).

Les méthodes conventionnelles d'analyse du sperme, y compris l'évaluation de la mobilité sont subjectives. La mobilité massale et la notation progressive du sperme sont communes dans l'analyse de routine du sperme dans la plupart des

cliniques d'andrologie (YEUNG *et al*, 1997). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) suggère quatre grades (A), progression rapide ; (B), progression lente ; (C), mobile mais non progressive ; (D), immobile (WHO, 2010), toutefois, de grandes variations ont été décrites dans l'estimation subjective de la mobilité spermatique, aussi bien pour l'évaluation du même éjaculat (CONTRI *et al* ; 2010).

Traditionnellement, la mobilité spermatique a été évaluée par des évaluations subjectives comme la mobilité massale et individuelle et aussi des paramètres qui sont objectifs tels la concentration et les anomalies morphologiques. Des variations de 30 à 60% ont été signalées lors d'une évaluation subjective par microscope optique de la mobilité spermatique chez l'homme et les animaux (AMANN, 1989 ; AUGER *et al* ; 1993 ; BARROS *et al* ; 1973 ; BURKAM, 1984 ; BUDWORTH *et al* ; 1988 ; COETZEE *et al* ; 1999). Mais d'après FREUND et CAROL (1964), le comptage par hémocytomètre est affecté par plusieurs facteurs et ils ont conclu que les variations marquées ont été causées par des comptages par différents techniciens et même des comptages dupliqués par le même technicien. Une haute précision dans l'évaluation est essentielle pour des diagnostics corrects (COOPER *et al* ; 1992), ou pour décrire les variations biologiques en fertilité et en infertilité des populations (MATSON, 1997). En outre différents types d'hémocytomètres et de chambres de comptage tels la cellule de BÜRKER-TÜRK, THOMAS et MAKLER sont apparues pour une meilleure évaluation des paramètres spermatiques. (GINSBURG et ARANT, 1990), mais aussi d'autres systèmes comme : le coultercounter, la spectrophotométrie et la cytométrie en flux pour évaluer la concentration spermatique, mais ces techniques mesurent qu'un seul paramètre, cependant, une évaluation objective globale du sperme est encore difficile à obtenir et l'analyse du sperme reste incomplète (VERSTEGEN *et al* ; 2001).

Pour une meilleure précision et objectivité de résultat, le système CASA (*Computer-Assisted Semen Analysis*), est le premier proposé par DOTT et FOSTER depuis 30 ans qui est maintenant utilisé dans plusieurs centres d'andrologie humaine et vétérinaire, les images obtenues permettent l'analyse de plusieurs paramètres dont la concentration du sperme, la mobilité spermatique et certaines morphologies en particulier la tête du spermatozoïde. (VERSTEGEN *et al* ; 2002). Le principal avantage de CASA est qu'il permet une analyse objective de la mobilité des spermatozoïdes dans les échantillons, la disponibilité des données enregistrées par

CASA facilite la comparaison des résultats et permet à trouver des différences subtiles entre les mâles ou les traitements (VERSTEGEN *et al* ; 2002), en outre, les systèmes CASA semblent avoir une grande précision et répétabilité (DAVIS *et al* ; 1992).

Cependant CASA ne sont pas des dispositifs prêts à l'emploi (HOT *et al* ; 1994), plusieurs facteurs comme : l'expertise de l'utilisateur, l'optique, les paramètres d'acquisition d'image, le nombre de domaines analysés, la concentration de l'échantillon et la dilution et la chambre d'analyse, pourraient également affecter les résultats de la mobilité spermatique lors de l'utilisation de CASA (CONTRI *et al* ; 2010). Pour éviter cette variation, des efforts ont été réalisés dans différentes espèces pour standardiser les méthodes d'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes en utilisant CASA (VERSTEGEN *et al* ; 2002). L'effet du type de chambre d'analyse utilisée a été étudié à la fois chez l'homme (LE LANNOU *et al* ; 1992), et certaines espèces animales telles que l'espèce bovine (CONTRI *et al* ; 2010 ; LENZ *et al* ; 2011), canine (IGUER-OUADA et VERSTEGEN ; 2001), et équine (HOOGEWIJS *et al* ; 2012). Chez les ovins, de nombreux travaux de recherches ont été publiés à l'aide de l'application de système CASA (ORDAS *et al* ; 2010 ; BRAVO *et al* ; 2011 ; YANIZ *et al* ; 2011 ; ALVAREZ *et al* ; 2012, MENDROZA *et al* ; 2012).

L'analyse du sperme assisté par ordinateur fournit les moyens pour une classification objective d'une population de spermatozoïde. En utilisant des images numériques du trajet de chaque spermatozoïde, la machine CASA est capable d'analyser, par des algorithmes de traitement, les propriétés du mouvement des spermatozoïdes. Les paramètres fréquemment rapportés par CASA comprennent :

- la vitesse curviligne (VCL) qui est la vitesse moyenne mesurée sur la piste réelle suivie par la cellule point par point en micromètres par seconde,
- l'amplitude du déplacement latéral de la tête (ALH) en micromètres,
- la fréquence de battement de tête (BCF) qui est la fréquence à laquelle la tête du spermatozoïde croise l'axe médiane de déplacement en Hertz,
- la vitesse moyenne de trajectoire (VAP) qui correspond à la vitesse moyenne du parcours de la cellule lisse en micromètres par seconde,

- la vitesse linéaire (VSL) ou rectiligne qui représente la vitesse moyenne mesurée en ligne droite entre le début et la fin d'une piste en micromètres par seconde,
 - la rectitude (STR) qui est la valeur moyenne du rapport VSL/VAP en pourcentage (cette rectitude estime la proximité de la voie de la cellule à une ligne droite à 100% correspondant à la rectitude optimale),
 - la linéarité (LIN) qui est la valeur moyenne du rapport VSL/VCL en pourcentage (la linéarité estime la proximité de la trajectoire de la cellule à une ligne droite).
- (Figure 12).

Ces paramètres CASA ont été modélisés et raffiné mathématiquement pour décrire au mieux les paramètres de mouvement de chaque spermatozoïde qui se déplace à travers un champ microscopique (BOYER *et al*, 1989).

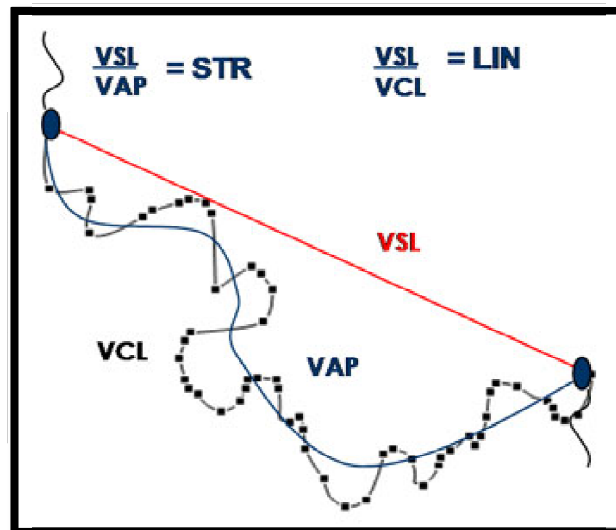


Figure 11 : Représentation schématique des différentes vitesses mesurées par CASA. VSL : vitesse linéaire, VCL : vitesse curviligne, VAP : vitesse moyenne de la trajectoire, STR : la rectitude, LIN : linéarité. (Source : casa-scopus.com).

Partie Expérimentale

Chapitre 1 :
Matériels et méthodes

Notre présente étude a été effectuée, d'une part, sur les matrices de cinq femelles (vaches et génisses) âgées de 12 à 24 mois de notes d'états corporels allant de 1 à 3 récupérées au niveau de l'abattoir communal de BEJAÏA et des tueries de KHERRATA et de CHEMINI et d'autre part sur des testicules des taureaux collectés au niveau de l'abattoir communal de la wilaya.

1.1. Les matrices :

Les matrices des vaches ont été collectées juste après abattage et ont été transportées au laboratoire dans une glacière maintenue à 4°C par des blocs de glace puis elles ont été conservés sous froid (congelées) jusqu'à utilisation. (Figure 12)



Figure 12 : matrice de vache collectée après abattage.

1.2. Les testicules :

Les testicules des taureaux ont été récupérés à l'abattoir tôt le matin juste après abattage puis transportés au laboratoire.

1.3. Préparation des échantillons :

1.3.1. Échantillons prélevés des matrices :

a. Liquide folliculaire :

Après l'abattage des vaches, le liquide folliculaire est prélevé directement après récupération des matrices à l'aide d'une seringue de 5 ml des follicules

apparents sur la surface de l'ovaire puis conserver sous froids jusqu'à utilisation.
(Figure 13)

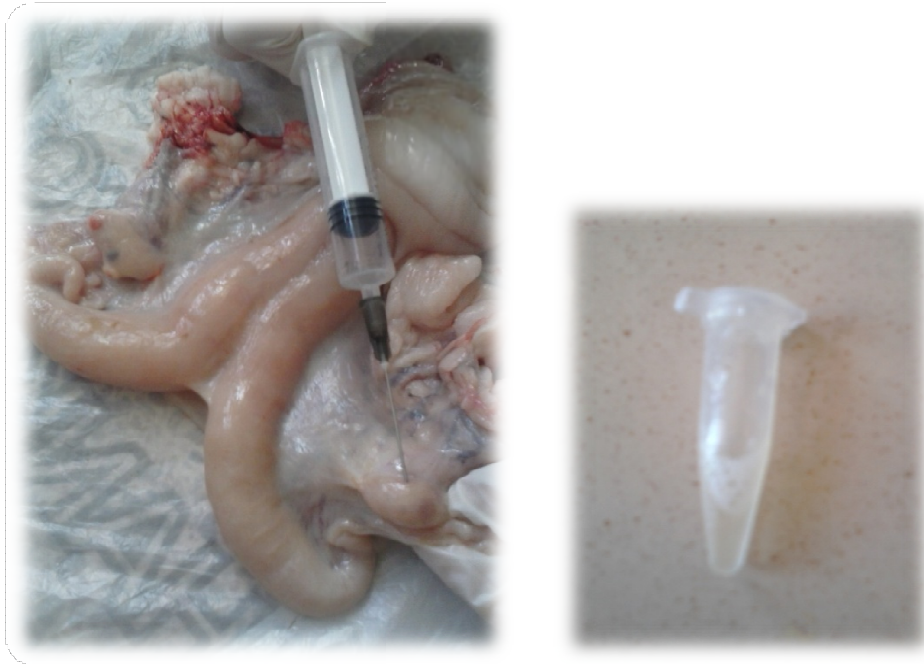


Figure 13: prélèvement du liquide folliculaire.

b. cellules oviductales :

La dissection des oviductes est réalisée comme suite :

- Les oviductes ont été récupérer sur des matrices des vaches abattues dans différents abattoirs de la wilaya de Bejaïa. (Figure 14)



Figure 14 : récupération des oviductes sur une matrice de vache.

- Les tissus conjonctifs ont été enlevés avec un bistouri et les oviductes ont été nettoyés par du papier absorbant. (Figure 15)



Figure 15 : Oviductes nettoyés et dépourvus des tissus conjonctifs.

- On ouvre l'oviducte longitudinalement à l'aide des ciseaux (A) et les cellules ont été récupérées à l'aide d'une lame en verre stérile, puis elles sont transformées dans des boîtes de pétri (B). (figure 16)

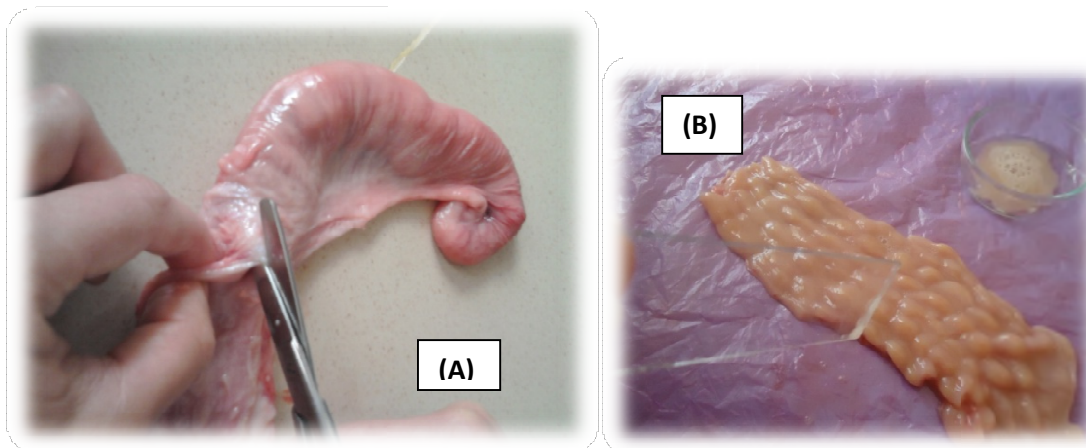


Figure 16 : oviducte coupé longitudinalement et récupération des cellules oviductales.

- On les rince avec du NaCl à 9%, puis transformer dans des eppendorfs.
- Centrifugation à 3000 RPM pendant 10 minutes, puis récupération du surnageant. (figure17)



Figure 17: Centrifugation et récupération du surnageant.

1.3.2. Prélèvement du sperme épидидymaire des testicules :

Le sperme épидидymaire a été recueilli sur les testicules prélevés après abattage des animaux. Le contenu de la région caudal est récupéré à l'aide de la méthode de rinçage rétrograde « retrograde-flushing ».

- **Dissection de l'épididyme :**

La dissection de l'épididyme est réalisée comme suite :

- Les tissus qui enveloppent le testicule et l'épididyme ont été enlevés avec un bistouri. (figure 18).



Figure 18 : Testicule après l'avoir dépourvu de la tunique vaginale.

- Puis on isole complètement l'épididyme et le canal déférent du testicule avec un bistouri et on le rince avec de l'eau et il est séché avec du papier absorbant. (figure 19).



Figure 19 : Epididyme juste après sa dissection et son isolation du testicule.

- Puis il est nettoyé des tissus en excès et du tissu conjonctif et isolé avec les vaisseaux sanguins pour éviter toute contamination de la semence avec le sang. (figure 20).



Figure 20: L'épididyme après l'avoir dépourvu des tissus conjonctifs.

- **Récolte de la semence :**

- La semence est récoltée avec la méthode rétrograde : l'aiguille d'une seringue remplie d'air **(a)**, est introduite dans la lumière du canal déférent, un clamp est placé juste à la fin de la queue et début du corps épididymaire **(b)**. Une incision est réalisée au niveau de la queue de l'épididyme à l'aide d'un bistouri **(c)**, et un tube gradué (eppendorf) est placé juste en dessous afin de récolter la semence **(d)**. (figure 21).

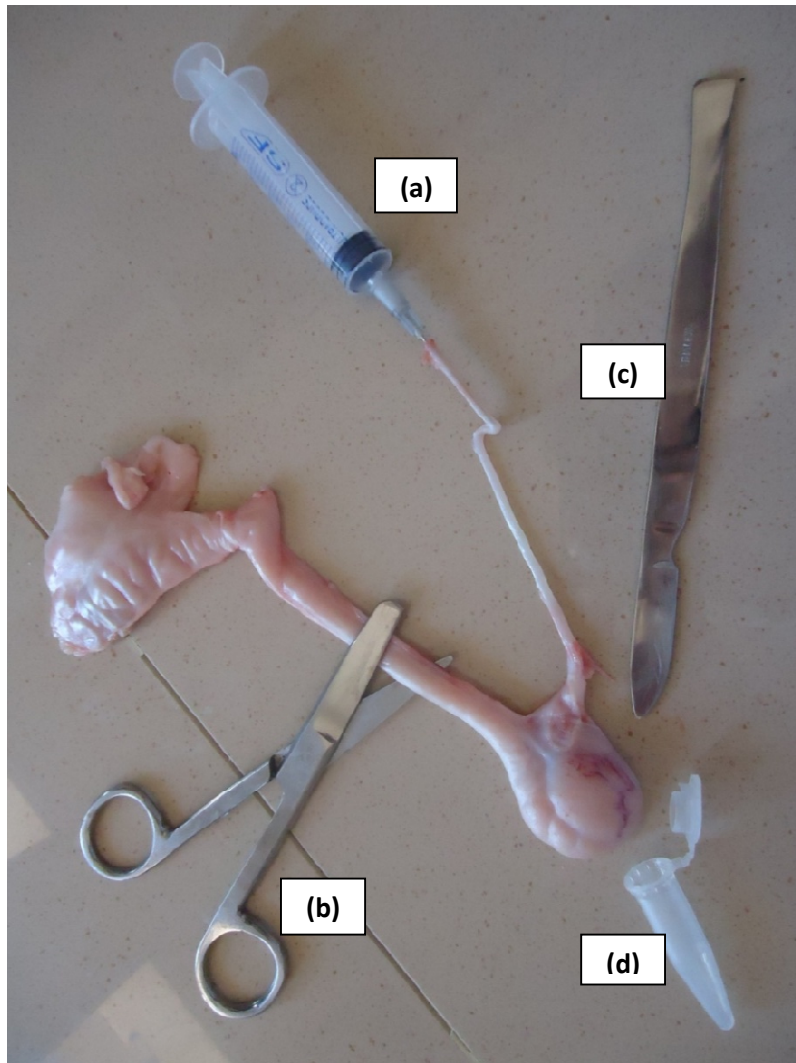


Figure 21: Récolte de la semence par la méthode rétrograde.

- La semence est récoltée dans un tube et elle est fin prête à être analysée. (figure 22)



Figure 22 : Semence épидидymaire pure et fraîchement collectée.

1.4. protocole expérimental :

a. Dilution du sperme :

Le milieu de dilution utilisé est une solution physiologique (0,9% de NaCl), le taux de dilution : $1/40^e$ (soit 25 μ l de semence fraîche dans 975 μ l de solution physiologique pour un volume total de 1 ml), celui-ci est considéré comme témoin lors de notre analyse.

b. Co-incubation des échantillons avec le sperme (traitements):

Les échantillons des cellules oviductales (5) et de liquides folliculaires (4) ont été dilués $1/2^e$ (V/V) avec la suspension du sperme dilué (soit 100 μ l de l'échantillon dans 100 μ l de semence diluée). Le mélange a été incubé pendant 3 heures à température ambiante et en plein air avec évaluation de la mobilité à différents instants.

c. Évaluation des caractéristiques du sperme (témoin et traitements) :

Les caractéristiques du sperme dilué seul (le témoin) et du sperme Co-incubé avec les cellules oviductales et les liquides folliculaires (les traitements) ont été évaluées objectivement en utilisant le système CASA (composé d'un microscope à contraste de phase et d'un ordinateur avec un logiciel SCA (Sperm Class Analyser), qui est un analyseur automatisé. (Figure 23) en suivant le protocole suivant :

- Une goutte de 10 μ l du témoin ou du traitement est déposée sur la chambre de comptage de MAKLER.

- Puis observé sous microscope à contraste de phase avec un grossissement de 10.

Ces caractéristiques ont été évaluées à différents instants : t0 (le moment de la Co-incubation), t15mn, t30mn, t45mn, t60mn, t90mn, t120mn, t180mn, de l'incubation, à chaque moment d'analyse ce sont les spermatozoïdes nageant à la surface des tubes qui ont été prélevé.

Deux champs différents ont été enregistrés pour avoir la moyenne des données enregistrés par suite.



Figure 23 : analyseur informatique de marque SCA utilisé pour le calcul des vitesses de progression des spermatozoïdes.

d. Analyses statistiques :

Les données de l'évaluation objective des caractéristiques du sperme issue du CASA ont été mises en forme grâce au logiciel Microsoft Excel 2007. L'évolution des paramètres étudiés (notamment VSL, BCF, % de spermatozoïdes mobiles et le % de spermatozoïdes progressifs rapides) en fonction du temps et l'effet des traitements et de la note d'état corporel sur ces paramètres a été analysé grâce au logiciel Statview 4.55 (Abacus Concepts Inc., 1996).

Chapitre 2 :
RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Étude de l'effet du liquide folliculaire provenant de vaches d'états corporels différents sur la mobilité spermatique:

2.1.1. Influence sur la mobilité globale :

L'effet du liquide folliculaire (LF) sur la mobilité des spermatozoïdes en fonction du temps et de l'état corporel des vaches est représenté dans la figure suivante (figure 24).

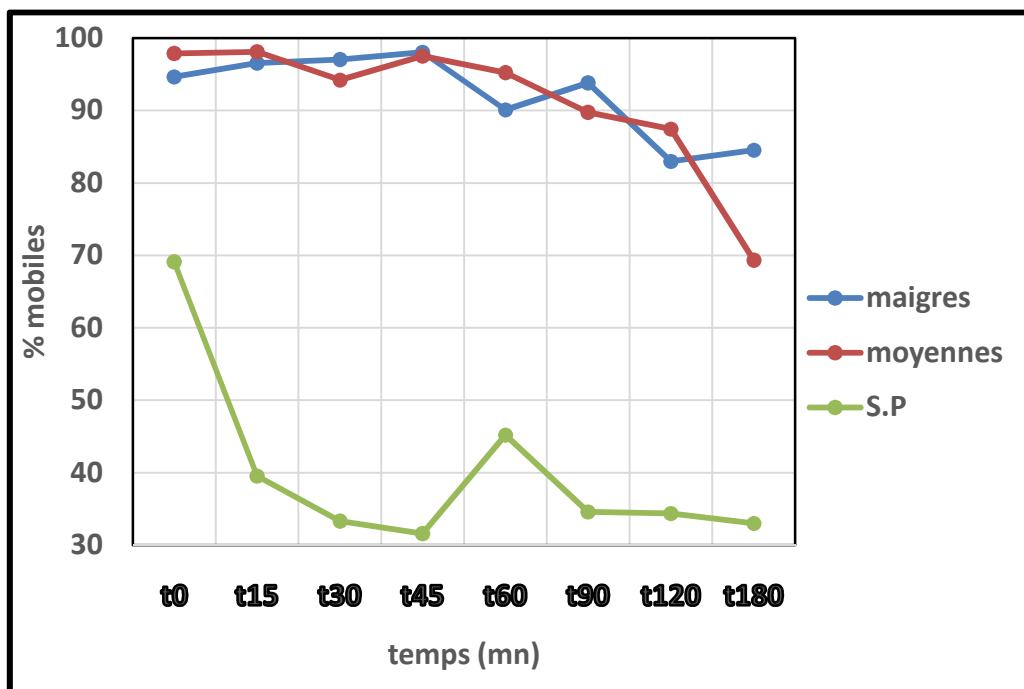


Figure 24 : Variation du pourcentage de spermatozoïdes mobiles traités par le liquide folliculaire en fonction du temps et de l'état corporel des vaches.

La figure 24 montre que globalement, le liquide folliculaire influence énormément sur le % de spermatozoïdes mobiles qu'il provient de vaches maigres ou à état corporel moyen et ce durant les 3 heures de suivi et ce comparativement au témoin (S.P : solution physiologique).

En effet, le % de spermatozoïdes mobiles dans les liquides folliculaires a tourné aux alentours de 90% (de 82,99 à 98,09%) jusqu'à 2 heures d'incubation et même après 3 heures, ce pourcentage est resté au-dessus de la barre des 69%.

Alors que pour le témoin, le pourcentage le plus élevé (69,1%) est enregistré à T0 et n'a, ensuite, jamais dépassé les 45,23 % enregistrées après 1 heure d'incubation.

Par ailleurs, l'effet de l'état corporel sur le % de spermatozoïdes mobiles est en faveur des vaches ayant une note d'état corporel normale par rapport aux vaches maigres à T0 (97,86% vs 94,66%), après 15 minutes (98,09% vs 96,55%), après 1 heure (95,22% vs 90,1%) et après 2 heures (87,46% vs 82,99%) de Co-incubation.

Inversement, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles est plus élevé dans les échantillons contenant le liquide folliculaire de vaches maigres par rapport à ceux contenant du liquide folliculaire de vaches à état corporel moyen notamment après 30 minutes (97,01% vs 94,21%) et après 3 heures (84,54% vs 69,31%) de co-incubation tandis qu'après 45 minutes d'incubation, les deux groupes de vaches ont des pourcentages équivalents (98,06% vs 97,53%).

2.1.2. Influence sur le % de spermatozoïdes progressifs rapides :

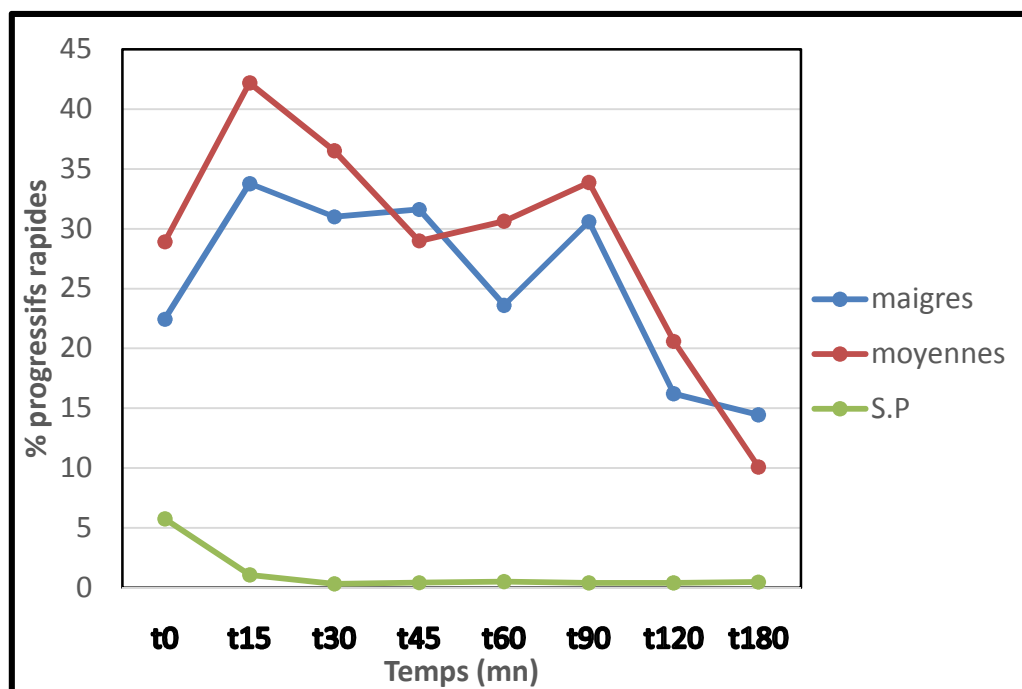


Figure 25 : Variation du pourcentage de spermatozoïdes progressifs rapides traités par le liquide folliculaire en fonction du temps et de l'état corporel des vaches.

La figure 25 montre l'effet du liquide folliculaire sur le pourcentage de spermatozoïdes progressifs rapides est également évident tout comme son effet sur le pourcentage de mobiles (tel que l'a bien montré précédemment la figure 24).

Tandis que le pourcentage de ce type de spermatozoïdes dans les échantillons contenant du liquide folliculaire varié de 10 à 42% durant toute la durée de Co-incubation, il n'a jamais atteint les 6% (maximum 5,76% à T0) et a tourné au tours de 0,4% la plupart du temps pour le témoin.

Par ailleurs, l'effet de l'état corporel sur le % de spermatozoïdes progressifs est nettement plus élevé pour les vaches à état corporel normal par rapport aux vaches maigres notamment à T0 (28,9% vs 22,43%), après 15 minutes (42,18% vs 33,77%), après 30minutes (36,5% vs 31,00 %) et après 1 heures (30,62% vs 23,6%) et aussi après 90 minutes et 2 heures.

En revanche, le pourcentage de spermatozoïdes progressifs rapides est légèrement moins élevé dans les échantillons contenant le liquide folliculaire de vaches à état corporel moyen par rapport à ceux contenant du liquide folliculaire de vaches maigres seulement après 45 minutes (28,98% vs 31,61%) et après 3 heures (10,09% vs 14,44%) d'incubation.

2.1.3. Influence sur la vitesse de progression linéaire (VSL) :

L'effet de la note d'état corporel sur la vitesse linéaire (VSL) des spermatozoïdes est représenté sur la figure 26.

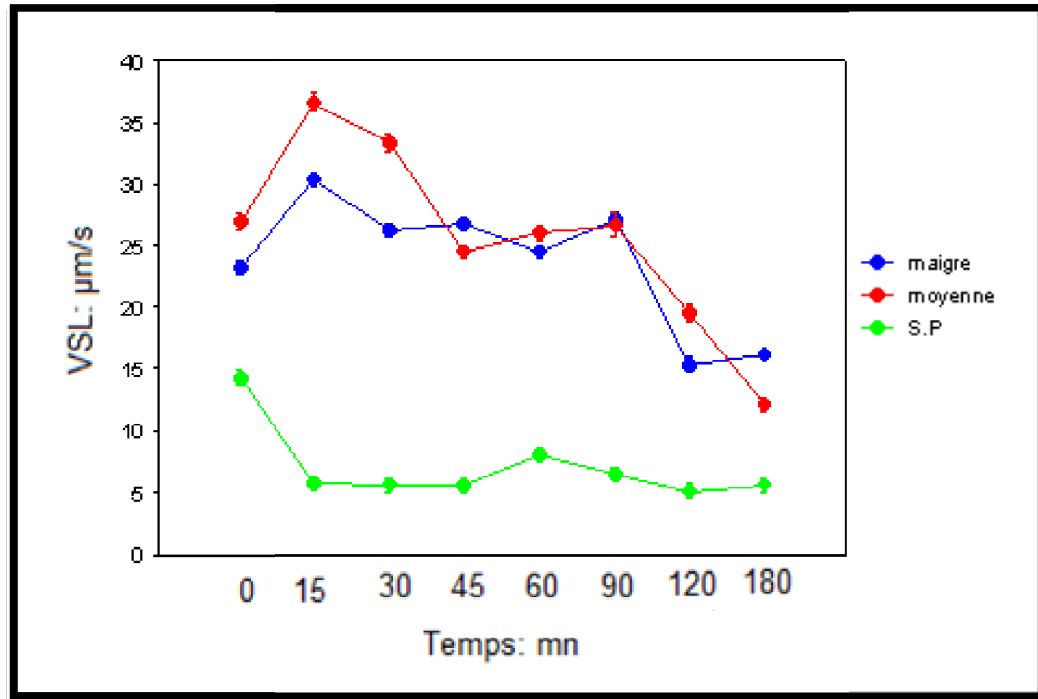


Figure 26 : Variation de la vitesse linéaire (VSL) des spermatozoïdes traités par le liquide folliculaire en fonction du temps d'incubation et de l'état corporel des vaches.

Tout comme ça été le cas pour les paramètres précédents (% de spermatozoïdes mobiles et progressifs rapides), le liquide folliculaire a influencé d'une manière très hautement significative ($P < 0,001$), que ce soit à T0 ou après 15, 30, 45, 60, 90, 120 et 180 minutes d'incubation, sur la vitesse de progression linéaire des spermatozoïdes (VSL) par rapport au témoin comme le montre clairement la figure 26.

en effet, les spermatozoïdes dans les échantillons contenant du liquide folliculaire ont progressé de plus de 4 à 6 fois plus rapidement par rapport à ceux du témoin durant les quatre premiers tests (à 15, 30 et 45 minutes) et de plus de 2 à 4 fois plus rapidement dans les trois derniers (à 1, 2 et 3 heures).

À titre d'exemples, à T0, la VSL a été, en moyenne, de $25,08 \pm 0,60 \mu\text{m}/\text{sec}$ dans le liquide folliculaire contre $14,26 \pm 0,59 \mu\text{m}/\text{sec}$ dans le témoin. Après 45 minutes d'incubation, la VSL dans le liquide folliculaire a été, en moyenne, de $29,76 \pm 0,46 \mu\text{m}/\text{sec}$ contre $5,55 \pm 0,49 \mu\text{m}/\text{sec}$ dans la solution physiologique (témoin).

Par ailleurs, l'effet de l'état corporel sur la VSL est significativement plus important ($p < 0,05$) pour les vaches à état corporel normal par rapport aux vaches

maigres à T0 ($26,93 \pm 0,58$ vs $23,24 \pm 0,62$ $\mu\text{m}/\text{sec}$), après 15 minutes ($36,63 \pm 0,67$ vs $30,33 \pm 0,62$ $\mu\text{m}/\text{sec}$), après 30 minutes ($33,24 \pm 0,67$ vs $26,29 \pm 0,51$ $\mu\text{m}/\text{sec}$) et à 120 minutes ($19,54 \pm 0,66$ vs $15,38 \pm 0,57$ $\mu\text{m}/\text{sec}$). Alors que, les spermatozoïdes dans le liquide folliculaire des vaches maigres ont progressé à une vitesse (VSL) significativement ($p < 0,05$) plus importante que les spermatozoïdes dans le liquide folliculaire des vaches à état corporel moyen après 45 minutes ($26,85 \pm 0,46$ vs $24,52 \pm 0,47$ $\mu\text{m}/\text{sec}$) et après 3 heures ($16,29 \pm 0,39$ vs $12,15 \pm 0,55$ $\mu\text{m}/\text{sec}$) uniquement.

2.1.4. Influence sur la fréquence de battement de la tête (BCF) :

Le liquide folliculaire a également influencé très significativement ($P < 0,05$), quel que soit le temps d'incubation (de 0 à 3 heures), sur la fréquence de battement de la tête des spermatozoïdes (BCF) par rapport au témoin (figure 27).

Effectivement, la BCF des spermatozoïdes dans les échantillons contenant du liquide folliculaire a été statistiquement plus élevée, en moyenne, de 4 fois (de 1,8 à 5 fois) par rapport à celle du témoin.

Exemple : à T0, la BCF a été, en moyenne, de $6,1 \pm 0,1$ Hz dans le liquide folliculaire contre $3,34 \pm 0,12$ Hz pour le témoin. Après 15 minutes d'incubation, la BCF dans le liquide folliculaire a atteint, en moyenne, $7,39 \pm 0,1$ Hz contre $1,56 \pm 0,12$ Hz seulement pour le témoin.

D'autre part, la BCF a été significativement plus importante ($p < 0,05$) pour les vaches à état corporel normal par rapport aux vaches maigres à T0 ($6,31 \pm 0,1$ vs $5,86 \pm 0,1$ Hz), à 15 minutes ($7,83 \pm 0,1$ vs $6,95 \pm 0,1$ Hz), à 30 minutes ($7,15 \pm 0,09$ vs $6,71 \pm 0,1$ Hz), à 60 minutes ($6,52 \pm 0,12$ vs $5,77 \pm 0,1$ Hz) et à 90 minutes ($6,81 \pm 0,15$ vs $6,44 \pm 0,11$ Hz) d'incubation et à aucun moment (ni à 45, ni à 180 minutes), la différence en faveur des vaches maigres n'a été significative.

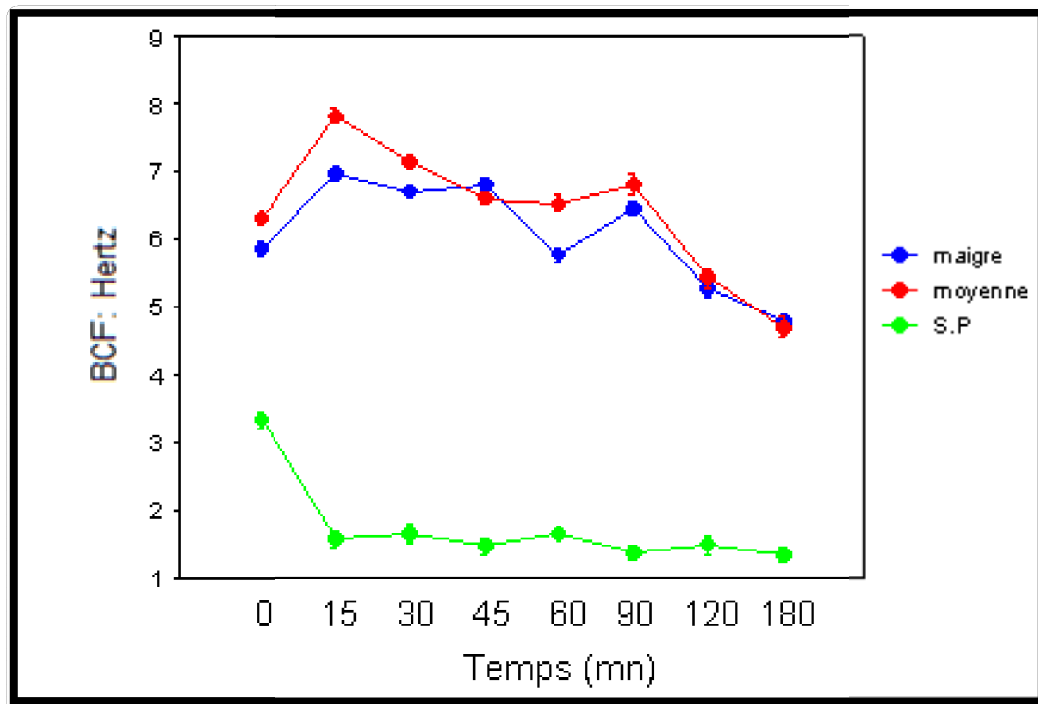


Figure 27 : Évolution de la fréquence de battement de la tête par rapport à l'axe de progression (BCF) des spermatozoïdes traités par le liquide folliculaire en fonction du temps et de l'état corporel des vaches.

2.2. Étude de l'effet des cellules oviductales provenant de vaches d'états corporels différents sur la mobilité spermatique :

2.2.1. Influence sur la vitesse de progression linéaire (VSL) :

Contrairement à ce qui a été observé précédemment dans le liquide folliculaire, les spermatozoïdes Co-incubés avec les cellules oviductales ont réagi négativement et ce pour l'ensemble des paramètres étudiés et durant toute la durée de l'essai. Ainsi, on a décidé de ne présenter que les résultats concernant un des paramètres uniquement (c'est-à-dire la VSL) et aussi de limiter le temps de suivi à 1 heure au lieu de 3 heures.

La Figure suivante illustre la variation de la vitesse de progression linéaire (VSL) des spermatozoïdes dans les cellules oviductales de vaches de différents états corporels en fonction du temps et sa comparaison par rapport à celle des spermatozoïdes dans le témoin contenant le milieu de dilution (S.P).

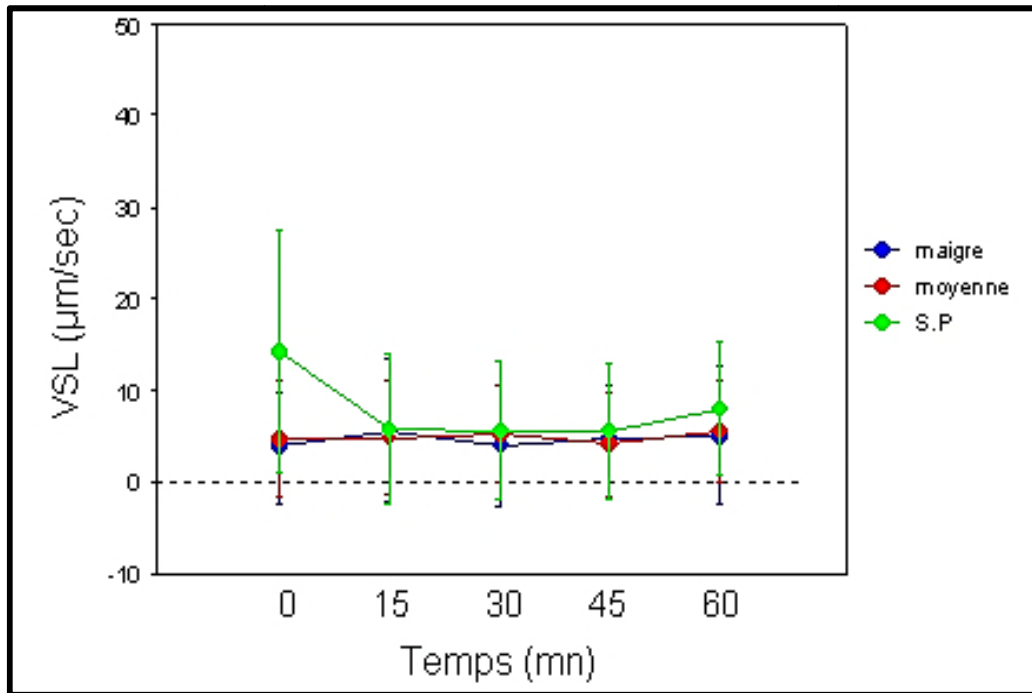


Figure 28 : Variation de la vitesse linéaire (VSL) des spermatozoïdes traités par les cellules oviductales en fonction du temps d'incubation et de l'état corporel des vaches.

Comme l'illustre clairement la figure, les cellules oviductales n'ont, à aucun moment du test, stimulé la vitesse de progression des spermatozoïdes par rapport au témoin (S.P). Au contraire, la progression des spermatozoïdes a été même inhibée au départ et après une heure d'incubation ($p < 0,05$) également toujours par rapport au témoin S.P.

Il est à signaler que les mêmes remarques sont appliquées aux autres paramètres non abordés.

Par ailleurs, l'influence de l'état corporel a été très discrète par rapport à ce qui a été observé dans le liquide folliculaire.

Globalement, la VSL des spermatozoïdes dans les cellules oviductales provenant des vaches à état corporel moyen et dans celles provenant de vaches maigres a été statistiquement identique ($p > 0,05$) sauf à 30 minutes d'incubation où la VSL des premières (les moyennes) est légèrement supérieure à celle des secondes (les maigres) ($5,22 \pm 0,19$ vs $4,01 \pm 0,53$ $\mu\text{m}/\text{sec}$; $p < 0,05$).

2.3. Discussion :

2.3.1. Effet du liquide folliculaire sur la mobilité spermatique :

Comparativement au témoin S.P renfermant le milieu de dilution seul, la mobilité du sperme traité par le liquide folliculaire a été élevée dès les premières minutes de la Co-incubation et elle a persistée durant toute la durée de l'étude l'augmentation ce qui confirme l'effet positif du liquide folliculaire sur la mobilité spermatique. De nombreux auteurs ont affirmé cette stimulation et ce maintien de la mobilité des spermatozoïdes par le fluide folliculaire et ce chez de nombreuses espèces : le porc (LEE *et al.*, 1992), le bovin (IJAZ *et al.*, 1994) et l'humain (MENDOZA et TESARIK, 1990). En effet, il a été démontré que les cellules de la granulosa (cellules tapissant l'intérieur du follicule) ont un effet positif sur la mobilité des spermatozoïdes bovins (IJAZ *et al.*, 1994) et humain (BASTIAS *et al.*, 1993).

Par ailleurs, les effets significatifs du liquide folliculaire sur la vitesse de progression linéaire (VSL), sur le pourcentage de spermatozoïdes progressifs rapides et sur la fréquence de battement de la tête (BCF) constatés dans notre présente étude ont été également signalés notamment par MC NUTT *et al* (1994). Ces auteurs ont suggéré qu'en fait, les spermatozoïdes incubés avec le liquide folliculaire deviennent hyperactifs et ils ont conclu que cet effet semble démontrer la présence de facteurs capacitants dans la liqueur folliculaire.

De plus, de nombreuses études ont mis l'accent sur le fait que le rôle du fluide folliculaire est beaucoup plus d'induire la capacitation et la réaction de l'acrosome, que d'agir au niveau de la mobilité. Ainsi, le liquide folliculaire a permis de capaciter et d'induire la réaction de l'acrosome chez le HAMSTER (LIBERSKY et, BOATMAN, 1995), le bélier (ZIBRIN *et al.*, 1997), le bovin (MCNUTT et KILLIAN, 1991) et l'humain (BASTIAS *et al.*, 1993 ; SIEGEL *et al.*, 1990).

Selon ces auteurs, le liquide folliculaire renfermerait de nombreux composés dont l'effet sur la capacitation a été bien démontré. Parmi ces composés, HAMAMAH *et al* (1996) cités par Lapointe (1998) ont évoqués les glycosaminoglycans sulfatés et non sulfatés, LIBERSKY et BOATMAN (1995) ont signalés les concentrations de progestérone de 1000 fois supérieure à celle du sérum chez le rat et le hamster,

RAVNIK *et al* (1990) ont parlés des accepteurs de cholestérols tels des protéines de transfert de lipides...etc.

D'autre part, notre présente étude a révélé un effet significatif de l'état corporel sur les paramètres de la mobilité spermatique étudiés. Nos résultats suggèrent que le liquide folliculaire des vaches à état corporel moyen (NEC = 3) agirait plus sur la mobilité, la vitesse de progression linéaire (VSL) et la fréquence de battement de la tête (BCF) que le liquide folliculaire provenant de vaches dont l'état corporel est mauvais (NEC \leq 2). Ainsi, la nutrition et particulièrement le niveau énergétique agirait sur l'accueil réservé aux spermatozoïdes dans le tractus génital femelle.

L'effet de la nutrition et de la balance énergétique sur la reproduction, la fertilité et sur la croissance folliculaire n'es plus à démontré et il a fait l'objet de nombreuses études. Ci-dessous, on expose les suggestions de quelque unes de ces études susceptibles d'apporter une explication sur l'effet avéré de l'état corporel (qui reflète l'état de la balance énergétique de la vache) sur la mobilité spermatique révélé par nos résultats :

– L'état corporel influence sur le nombre et la croissance des follicules :

PRADO *et al* (1990) et RYAN *et al* (1994) ont rapporté que l'apparition du premier gros follicule et la dynamique de la croissance folliculaire sont affectées par le niveau d'apport énergétique de la ration et que le nombre de follicules de taille moyenne (5mm < diamètre < 10mm) et le nombre de gros follicules (> 10mm) sont plus élevés chez les vaches en bon état corporel que chez les vaches maigres.

– l'état corporel agit sur les concentrations en IGF1 qui, à son tour, agit sur la croissance folliculaire et la stéroïdogénèse :

Des observations réalisées *in vitro* chez différentes espèces ont montré que l'insuline et l'IGF1 entraînent la multiplication des cellules de la granulosa, stimule la stéroïdogénèse et permettent l'augmentation du nombre de récepteurs à la LH (GRIMARD *et al.*, 1996). Aussi, dans les études *in vivo*, des relations ont été observées entre concentration sérique d'IGF, paramètres de reproduction et statut nutritionnel. HOUSEKNECHT *et al* (1988) et ELSASSER *et al* (1989) ont signalés

que les concentrations sériques d'IGF1 sont plus faibles chez les vaches sous-nourries.

Le déficit énergétique provoque une diminution de la sécrétion d'insuline et d'IGF1 inhibant la sécrétion hypothalamique de GnRH, la sécrétion hypophysaire de LH et de FSH, et surtout la maturation et la stéroïdogénèse des follicules ovariens (SPICER *et al.*, 1990 ; MONGET et MARTIN, 1997).

- L'état corporel agit sur la synthèse de la leptine qui, comme l'IGF1, agit sur les niveaux hormonaux.

La leptine est une hormone synthétisée par le tissu adipeux qui stimule l'hypothalamus et l'hypophyse. Elle agit directement ou indirectement, en inhibant au niveau hypothalamique la sécrétion du neuropeptide Y qui a un effet inhibiteur sur la sécrétion de GnRH. La sécrétion de la leptine est déprimée par le déficit énergétique, d'où une diminution de la sécrétion de GnRH, de LH et de FSH. (BRUNEAU *et al.*, 1998).

Lors de jeûne ou de prise alimentaire insuffisante, des enképhalines et des β -endorphines (peptides opiacés) sont sécrétées au niveau hypothalamo-hypophysaire et inhibent la sécrétion de GnRH, de LH et de FSH (CANFIELD et BUTLER, 1991).

D'après nos résultats, nous constatons que le liquide folliculaire a un effet positif sur la mobilité des spermatozoïdes en fonction de la note d'état corporel des vaches.

Tous ces éléments suggèrent que cet effet de l'état corporel sur les paramètres de la mobilité est, en grande partie, à relier aux niveaux hormonaux (œstrogènes et progestérone) dans le liquide folliculaire qui dépendent du signe de la balance énergétique et dont l'effet sur la mobilité spermatique est bien connu.

2.3.2. Effet des cellules oviductales sur la mobilité spermatique :

Nos résultats qui ont suggérés l'absence ou même une influence négative des cellules oviductales sur la mobilité spermatique ne concordent pas à ceux de nombreuses études, rapportées ci-dessous, faites sur des cellules oviductales mises en cultures.

Ainsi, La liaison des spermatozoïdes aux cellules de l'oviducte (vivantes) a été démontrée chez plusieurs espèces, autant in vivo qu'in vitro. C'est le cas chez la brebis (GUTIERREZ *et al.*, 1989 ; HUNTER *et al.*, 1982), l'humain (PACEY *et al.*, 1995 ; BONGSO *et al.*, 1993) et le bovin (LEFEBVRE *et al.*, 1995 ; LEFEBVRE et SUAREZ, 1996 ; ELLINGTON *et al.*, 1991). Ils ont aussi remarqué que les taux de liaison étant plus élevé si les cellules provenaient d'oviducte en phase pré-ovulatoire qu'en période post-ovulatoire (THOMAS *et al.*, 1994).

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que la Co-culture des cellules de l'oviducte et des spermatozoïdes capacitait ces derniers. C'est le cas chez le porc (IMAI *et al.*, 1979), le bovin (CHIAN et SIRARD, 1995; GUYADER et CHUPIN, 1991), et l'humain (LAI *et al.*, 1996). De nombreux spermatozoïdes deviennent aussi hyperactivés dans l'oviducte (SHALGI et PHILLIPS, 1998 ; GUERIN *et al.*, 1991).

Ainsi, on peut expliquer cette discordance de nos résultats par rapport à ceux de ces auteurs par le fait que les cellules utilisés dans notre étude ont été probablement affecté par le processus de congélation et décongélation et par le fait qu'elles soient mortes car après la mort de l'animal, les phénomènes de lyse et de mort cellulaires sont particulièrement marqués dans l'oviducte dont la muqueuse épaisse gêne la diffusion de l'oxygène (FONTAINE *et al.*, 2009)

Conclusion et perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A partir des résultats obtenus dans ce présent travail porté sur l'étude de l'effet du liquide folliculaire des vaches de différents états corporels sur la mobilité spermatique, il s'est avéré que celui-ci améliore la mobilité des spermatozoïdes.

En outre, l'effet du liquide folliculaire sur la mobilité spermatique a persisté pendant toute la durée d'étude (3 heures) et la baisse modérée de la mobilité n'a été observée qu'après une heure d'incubation. Cet effet a été démontré en comparant l'évolution des paramètres étudiés (les % des spermatozoïdes mobiles et progressifs rapides, la vitesse de progression linéaire ou VSL et la fréquence de battements de la tête ou BCF) du sperme Co-incubé dans le liquide folliculaire par rapport à leur évolution dans milieu de dilution du sperme seul.

Le liquide folliculaire affecte la mobilité en stimulant notamment la capacitation. L'évolution de la fréquence de battement de la tête (BCF) observée dans notre étude corrobore cette action. Ce phénomène est permis par l'existence des substances capacitantes dans le fluide folliculaire qui permettent un meilleur déplacement des spermatozoïdes que se soit *in vivo* ou *in vitro*.

Par ailleurs, nous avons constaté que le liquide folliculaire agit sur la mobilité spermatique en fonction des états corporels des vaches. En fait, il s'est avéré que le liquide folliculaire des vaches moyennes est le plus favorable pour améliorer la mobilité des spermatozoïdes par rapport à celui des vaches maigres. Ceci pourrait être expliqué par la présence des substances dans le fluide folliculaire tel que les glycoaminoglycans, l'Igf1 et la leptine qui agissent sur la croissance folliculaire et les niveaux hormonaux et qui dépendent de l'alimentation et précisément du signe de la balance énergétique. L'alimentation conditionnerait donc l'accueil réservé aux spermatozoïdes dans les voies génitales femelles durant le processus de fécondation et donc la réussite de ce processus.

Les cellules oviductales n'ont pas montré des résultats optimaux probablement à cause de la mort cellulaire et du processus de congélation-décongélation.

Enfin, les résultats obtenus dans ce présent travail pourraient contribuer à l'amélioration du maintien de la mobilité du sperme dans le domaine de

l'insémination artificielle et du processus de fécondation, en particulier les techniques de fécondation *in vitro* chez les bovins.

Références bibliographiques

A

- **ABOU-HAILA, A., TULSIANI DR. (2009).** Signal transduction pathways that regulate sperm capacitation and the acrosome reaction. *Archives of Biochemistry Biophysics*, 485(1), 72-81.
- **AGABRIEL, J., GIRAUD, JM., PETIT, M., BARBOIRON, C., COULAUD, G., et al. (1986).** Détermination et utilisation de la note d'état d'engraissement en élevage allaitant. *Bull. Tech. C.R.Z.V*, 66, 43-50.
- **ALVAREZ, M., TAMAYO-CANUL, J., MARTINEZ-RODRIGUEZ, C., LOPEZ-URUENA, E., GOMES-ALVES, S., ANEL, L., MARTINEZ-PASTOR, F., DE PAZ, P. (2012).** Specificity of the extender used for freezing ram sperm depends of the spermatozoa source (ejaculate, electroejaculate or epididymis). *Animal Reproduction Science*, 132, 145–154.
- **AMANN, RP. (1989).** Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *Journal of Andrology*, 10, 89-98.
- **AUGER, J., LEONCE, S., JOUANNET, P., RONOT, X. (1993).** Flow cytometric sorting of living, highly motile human spermatozoa based on evaluation of their mitochondrial activity, *Journal of Histochemistry Cytochemistry*, 41, 1247- 1251.
- **AUSTIN, EJ., MIHM, M., EVANS, ACO., KNIGHT, PG., IRELAND, JLH., IRELAND, JJ., ROCHE, JF. (2001).** Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of the follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 64, 839-848.

B

- **BAHR GF; ZEITLER E. (1964).** Study of bull spermatozoa: Quantitative electron microscopy. *The Journal of Cell Biology*, 21, 175-189.
- **BAO, B., GARVERICK, HA. (1998).** Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves. *Journal of Animal Science*, 76, 1903-1921.

- **BARIL G., CHEMINEAU P., COGNIE Y., GUERIN Y., LEBOEUF B., ORGEUR P ET J.C. VALLET. (1993).** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. *Station de la physiologie de la reproduction Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) Nouzilly, 37380 Monnaie, France.*
- **BARONE, R. (1978).** Anatomie comparés des animaux domestiques. *Editions Vigot frères, Tome 3. LYON, 851p.*
- **BARONE, R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. *4, Ed. Vigot, Paris, 896.*
- **BARROS, C., FUJIMOTO, M., YANAGIMACHI R. (1973).** Failure of zona penetration of hamster spermatozoa after prolonged preincubation in a blood serum fraction. *Journal of Reproduction and Fertility, 35, 89-95.*
- **BASTIAS, MC., KARNIJO, H., OSTEEN, KG. (1993).** Assessment of human sperm functional changes after in-vitro coincubation with cells retrieved from the human female reproductive tract. *Hum Reprod, 8, 1670-1677.*
- **BATELLIER, F. (2005).** Reproduction des animaux d'élevage. *Edition par Educagri, 2005, Dijon.*
- **BAYLE, F. (2003).** Techniques de collecte et aminogrammes des liquides tubaire et folliculaire chez les femelles domestiques. Thèse de doctorat. *Université CLAUD BERNARD, LYON I, (médecine-pharmacie).*
- **BAZIN, S. (1984).** Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches Pie-Noires. *Paris (France) : ITEB-RNED, 31 p.*
- **BENOIT, J. (1925).** Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiologique sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. Thèse de doctorat, *Strasbourg , 1-232.*
- **BERNDSTON WE, DESJARDINS C. (1974).** The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. *Am J Anat 140(2):167-179.*
- **BONGSO, A., HO, J., FONG, C-Y., NG, S-C., RATNAM, S. (1993).** Human sperm function after coculture with human fallopian tubal

epithelial cell monolayers: *in vitro* model for studying cell interactions in early human conception. *Arch Androl*; 31:183-190.

- **BONNEN, G., DESCLAUDE, J., DROGOUL, C., GADOUD, R., JUSSIAU, R., MONTMEAS, L., ET AL. (2005).** Reproduction des animaux d'élevages. *Educagri édition, deuxième édition*, 407p.
- **BOSIO, L. (2006).** Relations entre la fertilité et évolution de l'état corporel chez la vache laitière. Thèse de doctorat, *Université CLAUDE BERNARD, LYON I (médecine-pharmacie)*.
- **BOYER SP, DAVIS RO, KATZ DF. (1989).** Automated semen analysis *Cur-r Probl Obstet Gynecology*, 12, 167-200. In **VERSTEGEN, J., IGUEROUADA, M., ONCLIN, K. (2002).** Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, 57, 149-179.
- **BRAVO, J.A., MONTANERO, J., CALERO, R., ROY, T.J. (2011).** Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Ile de France rams. *Animal Reproduction Science*, 129, 22–29.
- **BRISSON, J. (2003).** Nutrition, alimentation et reproduction. *Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec*.
- **BROSTER, WH., BROSTER, VJ. (1998).** Body score of dairy cows. *J. Dairy Res*, 65, 155-173.
- **BRUNEAU, G., VAISSE, C., CARATY, A., MONGET, PH. (1998).** La leptine : une clef pour la reproduction. *S.F.E.R.* 16 p.
- **BRUYAS (1991).** Cycle oestral et detection des chaleurs. *Depeche vet., supplement* , 19, 9-14. In, **POINT, F. (2007).** contribution à l'étude de la détection des chaleurs par vidéosurveillance chez la vache laitière. Comparaisn avec les profils de progestérone. *Thèse de doctorat, université CLAUDE-BERNARD, LYON I (médecine et pharmacie)*.
- **BUDWORTH PR, AMANN RP, CHAPMAN PL. (1988).** Relationships between computerized measurements of motion of frozen thawed bull spermatozoa and fertility. *Journal of Andrology*, 9, 41-54.

- **BUREAU, M. (2000).** l'influence des cellules d'oviducte sur les gamètes dans un système de fécondation *IN VITRO*. Mémoire. *faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, université LAVAL*.
- **BURKAM, LJ. (1984).** Characterization of hyperactivated motility by human spermatozoa during capacitation: comparison of fertile and oligozoospermic sperm population. *Archives of Andrology*, 13, 153. In, **VERSTEGEN, J., IGUER-OUADA, M., ONCLIN, K. (2002).** Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, 57, 149-179.



- **CANFIELD, RW., BUTLER, WR. (1991).** Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69, 740-746.
- **CARY, J.A., MADILL, S., FARNSWORTH, K., HAYNA, J.T., DUOS, L., FAHNING, M.L. (2004).** A comparison of electroejaculation and epididymal sperm collection techniques in stallions. *The Canadian Veterinary Journal*, 45(1), 35.
- **CHENOWETH, P.J.** Clinical Reproductive Anatomy and Physiology of the bull. In: **ROBERT, S. YOUNGQUIST., WALTER, R. THREFALL (2007).** *Curent Therapy in large animal theriogenology, second edition – Saunders Elsevier*, p 217.
- **CHIAN, RC., SIRARD, M-A. (1995).** Fertilizing ability of bovine spermatozoa cocultured with oviduct epithelial cells. *Biol Reprod*; 52:156-162.
- **COETZEE, K., KRUGER, TF., LOMBARD, CJ. (1999).** Repeatability and variance analysis on multiple computer-assisted (IVOS) sperm morphology readings. *Andrologia*, 31, 163-168.
- **CONTRI, A., VALORZ, C., FAUSTINI, M., WEGHER, L., CARLUCCIO, A. (2010).** Effect of semen preparation on CASA motility results in cryopreserved bull spermatozoa. *Theriogenology*, 74, 424–435.

- **COOPER, TG., NEUWINGER, J., BAHRS, S., NIESCHLAG, E. (1992).** Internal quality control of semen analysis. *Fertility and Sterility*, 58, 172–8.
- **CREVIER, N.** anatomie topographique de l'appareil génital de la vache appliquée à l'ovariectomie, *In polycopié de l'ENVA, EPU de chirurgie bovine. MAISON-ALFORT, 19-22 juin 1995, 1-8. In BERTHELIER, N. (2007).* Intérêts de l'ovariectomie pour l'engraissement de vaches de race charolaise. Thèse de Doctorat, *Université CLAUD-BERNARD LYON I.*
- **CROSS, NL., RAZY-FAULKNER, P. (1997).** Control of human sperm intracellular pH by cholesterol and its relationship to the response of the acrosome to progesterone. *Biol Reprod*, 56,1169- 1174.



- **DACHEUX, F. et J-L.** L'épididyme et les glandes annexes. In : **THIBAUT, C et LEVASSEUR, M-C. (2001).** La Reproduction chez les mammifères et l'homme – nouvelle édition. *Paris : INRA Editions ellipses, 2001, 290-315.*
- **-DADOUNE, J-P., DEMOULIN, A.** Structure et fonctions du testicule. In : **THIBAUT, C., LEVASSEUR, M-C. (2001).** La Reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition. *Paris : INRA Editions ellipses, 256-289.*
- **DAVIS, RO., ROTHMANN, SA., OVERSTREET, JW. (1992).** Accuracy and precision of computer-aided sperm analysis in multicenter studies. *Fertility and Sterility*, 57, 648–653. In, **CONTRI, A., VALORZ, C., FAUSTINI, M., WEGHER, L., CARLUCCIO, A. (2010).** Effect of semen preparation on CASA motility results in cryopreserved bull spermatozoa. *Theriogenology*, 74, 424–435.
- **DEJONGE&BARRAT. (2006).** The sperm cell : Production, Maturation, Fertilization, Regeneration. *Cambridge University Press. 372 p.*
- **DERIVAUX, J. (1971).** Reproduction chez les animaux domestiques tome II, le mâle : insémination artificielle, Liège, *Edition Derouaux.-175p.*

- **DERIVAUX, J. (1991).** Reproduction chez les animaux domestiques. Tom1 et 2. *Edition Dérouaux, Lièges*, T1 : 157p, T2 : 175p.
- **DEUTSCHEUR, G.H., WELLS, M.E., et BATTAGLIA, R.A. (1974).** Evaluation of epididymal sperm by the cannulation technique and effects of in vivo storage I Angus bulls. *Journal of animal science*, 39 (36), 1136-1143.
- **DJABAKOU, K., FIMMEN, H.O., BOTTGER, M. (1984).** Examination of bull semen at CREAT, *Trypanotolerance and animal production, Avetonou (Togo)*, 3, 40–44.
- **DOTT, HM., FOSTER, GC. (1979).** The estimation of sperm motility in semen, on a membrane slide, by measuring the area change frequency with an image analyzing computer. *J Reprod Fertil*, 55, 161– 166.
- **DRIANCOURT, MA., GOUGEON, A., ROYERE, D., THIBAUT, C. (1991).** La fonction ovarienne. In, **THIBAUT, C., LEVASSEUR, MC. (2001).** La reproduction chez la mammifères et l'homme. *INRA, ELLIPSES*, 768.



- **EDDY EM. (1998).** Regulation of gene expression during spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 9(4):451-457.
- **ELLINGTON, JE., PADILLA, AW., VREDENBURGH, WL., DOUGHERTY, EP., FOOTE, RH. (1991).** Behavior of bull spermatozoa in bovine uterine tube epithelial cell coculture: an in vitro model for studying the cell interaction of reproduction. *Theriogenology*; 35:977-989.
- **ELSASSER, T.H., RUMSEY, T.S., HAMMOND, A.C. (1989).** Influence of diet on basal and growth hormone-stimulated plasma concentrations of IGF I in beef cattle. *J. Anim. Sci*, 67, 128-141
- **ENNUYER, M. (2000).** Les vagues folliculaires chez la vache. Applications pratiques à la maîtrise de la reproduction, *Point Vétérinaire*, 31 (209), 377-383.
- **EZEKWE, A.G. (1988).** Ejaculate characteristics of two breeds of tropical bulls - N'dama and Muturu, *Joint seminar on animal reproduction for African countries.-Addis-Abeba: CIPEA*.



- **FIENI, F., TAINTURIER, D., BRUYAS, JF., BATTU, I. (1995).** Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. *Bull GTV*, 4 : 35-49.
- **FLORMAN HARVEY, DT. (2006).** Fertilization in Mammals. In: Neill JD, editor. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, Third Edition: Academic Press; 3 edition (October 1, 2005). pp 55-112.
- **FONTAINE, E., REYNAUD, K., THOUMIRE, S., CHEBROUT, M., FAURE, L., SÉGALINI, V., CHASTANT-MAILLARD, S. (2009).** Microenvironnement tubaire: rôle dans la maturation des ovocytes canins *in vivo* et *in vitro*. *Bull. Acad. Vét*, 162, 145-153.
- **FRASER, B., (2013).** Liaison de la protéine spermatique bovine spam-1 à la zone pellucide de l'ovule: Mémoire. *Université Laval, Québec, Canada*.
- **FREUND, M., CAROL, B. (1964).** Factors affecting haemocytometer counts of sperm concentration in human semen. *Journal of Reproduction and Fertility*, 8, 149–155.



- **GAYRARD, V. (2007).** Physiologie de la reproduction des mammifères. *Ecole national vétérinaire de Toulouse*.
- **GERARD, N., MERMILLOD, P. (2008).** Interactions cellulaires et fertilité, *INRA*.
- **GINSBURG, KA., ARMANT, DR. (1990).** The influence of chamber characteristics on the reliability of sperm concentration and movements measurements obtained by manual and videomicrographic analysis. *Fertility and Sterility*, 53, 882–887.
- **GRIMARD, B., HUMBLLOT, P., PONTER, A. A., SAWANT, D., MZALOT, J. P. (1996).** Relations nutrition-reproduction chez la vache allaitante : effet du niveau d'apport énergétique sur la reprise de la croissance des gros follicules ovariens après vêlage. *Renc. Rech. Ruminants*, 3, 179 - 182

- **GUERIN, JF., OUHIBI, N., REGNIER, VIGOUROUX, G., MENEZO, Y. (1991).** Movement characteristics and hyperactivation of human sperm on different epithelial cell monolayers. *Int J Androl*; 14: 412-422.
- **GUERIN, P., GALLOIS, E., CROTEAU, S., REVOL, N., MAURIN, F., GUILLAUD, J., MENEZO, Y. (1995).** Techniques de récolte et aminogrammes des liquides tubaire et folliculaire chez les femelles domestiques. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 146, 805-814.
- **GUTIERREZ, A, GARDE, J, C. G-A, VAZQUEZ, I. (1989).** Ram spermatozoa cocultured with epithelial cell monolayers: an in vitro model for the study of capacitation and the acrosome reaction. *Mol Reprod Dev*; 36:338-345.
- **GUYADER, C., CHUPIN, D. (1991).** Capacitation of fresh bovine spermatozoa on bovine epithelial oviduct cell monolayers. *Theriogenology*, 36(3), 505-512.

SH

- **HAMAMAH, S., WITTEMER, C., BARTHÉLEMY, C., RICHET, C., ZERIMECH, F., ROYERE, D., DEGAND, P. (1996).** Identification of hyaluronic acid and chondroitin sulfates in human follicular fluid and their effects on human sperm motility and the outcome of in vitro fertilization. *Reprod Nutr Dev*; 36, 43-52.
- **HAMILTON, SH., GARVERICK, HA., KEISLER, DH., XU, ZZ., LOOS, K., YOUNGQUIST, RS. (1995).** Characterization of follicle/cyst dynamics and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biology of Reproduction*, 53, 890-898.
- **HANSEN C., SRIKANDAKUMAR A., DOWNEY B.R., (1991).** Presence of follicular fluid in the porcine oviduct and its contribution to the acrosome reaction. *Molecular Reproduction and Development*, 30, 148-153.
- **HENRY, A. (1900).** Etude histologique de la sécrétoire de l'épididyme chez les vertébrés supérieurs. *Arch. Anat. micr.*, 3, 229-292.

- **HICKS, J.J., PEDRON, N., ROSADO, A., (1972).** Modifications of human spermatozoa glycolyses by cyclic adenosine monophosphate (cAMP) oestrogens and follicular fluid. *Fertility and sterility*, 23, 886-893.
- **HOCHEREAU M. T. et al. (1964).** Durée de la spermatogénèse chez le taureau: étude par autoradiographie testiculaire. 5th. *Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem.* 3 :541.
- **HOLT, WV., WATSON, P., CURRY, M., HOLT, C. (1994).** Reproducibility of computer-aided semen analysis: comparison of five different systems used in a practical workshop. *Fertility and Sterility*, 62, 1277–82.
- **HOOGEWIJS, M.K., DE VliegHER, S.P., GOVAERE, J.L., DE SCHAUWER, C., DE KRUIF, A., VAN SOOM, A. (2012).** Influence of counting chamber type on CASA outcomes of equine semen analysis. *Equine Veterinary Journal*, 44, 542–549.
- **HOUSEKNECHT, KL., BOGGS, DL., CAMPION, DR., SARTIN, JL., KISER, TE., RAMPACEK, GB., AMOS, HE. (1988).** Effect of dietary energy source and level on serum growth hormone, insulin-like growth factor 1, growth and body composition in beef heifers. *J Anim Sci*, 66, 2916-2923.
- **HUNTER, RHF., BARWISE, L., KING, R. (1982).** Sperm transport, storage and release in the sheep oviduct in relation to the time of ovulation. *Br Vet J*; 138: 225-232.

J

- **IGUER-OUADA, M., VERSTEGEN, J.P. (2001).** Evaluation of the “Hamilton Thorn computer-based automated system” for dog semen analysis. *Theriogenology*, 55, 733–749.
- **IJAZ, A., LAMBERT, RD., SIRARD, MA. (1994).** In vitro -cultured bovine granulosa and oviductal cells secrete sperm motility-maintaining factor(s). *Mol Reprod Dev*, 37, 54-60.
- **IMAI, H., NIWA, K., IRITANI, A. (1979).** Time requirement for capacitation of boar spermatozoa assessed by their ability to penetrate the zona-free hamster egg. *J Reprod Fertil*; 56:489-492.

J

- **JONES, R. (1989).** Membrane remodelling during sperm maturation in the epididymis. *Oxf Rev Reprod Biol*, 11, 285-337.

K

- **KAABI, M., PAZ, P., ALVAREZ, M., E., BOIXO, J. C., ROUISSI, H., et ANEL, L. (2003).** Effect of epididymis handling conditions on the quality of ram spermatozoa recovered post-mortem. *Theriogenology*, 60 (7), 1249-1259.
- **KABERA, F. (2008).** Appréciation de la qualité de la semence bovine produite au Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de DAHRA au SENEGAL, (Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales).
- **KNOBIL E., NEILL J. (1988).** The Physiology of Reproduction. *Raven Press*, 793-814.

L

- **LAI, YM., CHANG, FFI., LEE, CL., LEE, JD., HUANG, HY., WANG, ML., CHAN, PJ. CHANG, MY., SOONG, YK. (1996).** Coculture of human spermatozoa with reproductive tract cell monolayers can enhance sperm functions better than coculture with Vero cell monolayers. *J Assist Reprod Genet*; 13 :417-422.
- **LE LANNOU, D., GRIVEAU, J.F., LEPICHON, J.P., QUERO, J.C. (1992).** Effects of chamber depth on the motion pattern of human spermatozoa in semen or in capacitating medium. *Hum. Reprod*, 7, 1417–1421.
In, **PALACÍN, I., VICENTE-FIEL, IS., SANTOLARIA, P., YÁNIZ, J.L. (2013).** Standardization of CASA sperm motility assessment in the ram, *Small Ruminant Research*, 112, 128-135.

- **LEE, S-L., KUO, Y-M., KAO, C-C., HONG C-Y., WEI Y-H. (1992).** Purification of a sperm motility stimulator from porcine follicular fluid. *Comp Biochem: Physiol*, 101B, 591-594.
- **LEFEBVRE, R., CHENOWETH, P.J., DROST, M., LECLEAR, CT., MACCUBBIN, M., DUTTON, JT., SUAREZ, SS. (1995).** Characterization of the oviductal sperm reservoir in cattle. *Biol Reprod*; 53: 1066- 1074.
- **LENZ, R.W., KJELLAND, M.E., VONDERHAAR, K., SWANNACK, T.M., MORENO, J.F. (2011).** A comparison of bovine seminal quality assessments using different viewing chambers with a computer-assisted semen analyzer. *Journal of Animal Science*, 89, 383–388.
- **LENZ, RW., AX, RL., GRIMEK, HJ., FIRST, NL. (1982).** Proteoglycan from bovine follicular fluid enhances an acrosome reaction in bovine spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun*, 106, 1092-1098
- **LIBERSKY, EA., BOATMAN, DE. (1995).** Effects of progesterone on in vitro sperm capacitation and egg penetration in the golden hamster. *Biol Reprod*, 53, 483-487.
- **LIBERSKY, EA., BOATMAN, DE. (1995).** Progesterone concentrations in serum follicular fluid and oviductal fluid of the golden hamster during the periovulatory period. *Biol Reprod*, 53, 477-482.
- **LUI, CW., COMETT, LE., MEIZEL, S. (1977).** Identification of the bovine follicular fluid protein involved in the in vitro induction of the hamster sperm acrosome reaction. *Biol Reprod*, 17, 34-41.

M

- **MARIEN, D. (1993).** La dynamique folliculaire chez les bovins .Apports du suivi échographique. *Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon*, 139.
- **MARTIN P. ET SHAUDER W. (1938).** Lehrbuch der Anatomie des haustiere. *stuttgart*. Cité par BLOM E., christensen N. O. *Skaud. vert. Ticszk.* 37, 1-49. In **Klaus-Dieter Budras et Robert E. Habel (2011).** Bovine Anatomy. *Manson Publishing*, 184 pages.

- **MARTINEZ-PASTEUR, F., GARCIA-MACIAS, V., ALVAREZ, M., CHAMORRO, C., HERRAEZ, P., PAZ, P.D., et ANEL, L. (2006).** Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. *Theriogenologie*, 65 (3), 471-485.
- **MATSON, PL. (1997).** Clinical value of tests for assessing male infertility. *Clin Obstr Gynaecol*, 11, 641–54. In, **CHRISTENSEN, P., STRYHN, H., HANSEN, C. (2005).** Discrepancies in the determination of sperm concentration using Bürker-Türk, Thoma and Makler counting chambers. *Theriogenology*, 63, 992–1003.
- **MCDONALD, L.E. (1969).** Veterinary endocrinology and reproduction. Volume 1. Lea and Fibiger, *Philadelphia*, 1960, 460.
- **MCNATTY, KP., HEATH, DA., LUNDY, T., FIDLER, AE., QUIRKE, L., O'CONNELL, A., SMITH, P., GROOME, N., TISDALL, DJ. (1999).** Control of early ovarian follicular development. *J Reprod Fertil Suppl*, 54, 3-16.
- **MCNUTT, TL., KILLIAN, GJ. (1991).** Influence of bovine follicular and oviduct fluids on sperm capacitation in vitro. *J Androl*, 12, 244-252.
- **MCNUTT, TL., OLDS-CLARKE, P., WAY, AL., SUAREZ, SS., KILLIAN, GJ.(1994).** Effect of follicular or oviductal fluids on movement characteristics of bovine sperm during capacitation in vitro. *J Androl*, 15,328-336.
- **MCNUTT-SCOTT, T.L., HARRIS, C. (1998).** Modulation of intracellular glutathione and cysteine metabolism in bovine oviduct epithelial cells cultured in vitro. *Biol. Reprod.* 59, 314–320.
- **MEIZEL, S., LUI, C.W., WORKING, P.K., MRSNY, R.J. (1980).** Taurine and hypotaurine: their effects on motility, capacitation and acrosome reaction of hamster sperm *in vitro* and their presence in sperm reproductive tract fluids of several mammals. *Development Growth and Differentiation*, 2, 483-494.
- **MELROSE, DR., TERNER, C. (1952).** Pyruvate metabolism and assessment of semen quality. *Proc Soc Exp Biol Med*, 80(2), 298–300. In,

KABERA, F. (2008). Appréciation de la qualité de la semence bovine produite au Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de DAHRA au SENEGAL, (Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales).

- **MENDOZA, C., TESARIK, J. (1990).** Effect of follicular fluid on sperm movement characteristics. *Fertil Steril*, 54, 1135- 1139.
- **MENDOZA, N., CASAO, A., DEL VALLE, I., SERRANO, E., NICOLAU, S., ASUMPCAO, M., MUINO-BLANCO, T., CEBRIAN-PEREZ, J.A., PEREZ-PE, R. (2012).** Quality characteristics and fertilizing ability of ram sperm subpopulations separated by partition in an aqueous two-phase system. *Journal of Chromatography B*, 880, 74–81.
- **MEREDITH, MJ. (1995).** Animal breeding and infertility. *UK: Blackwell Science*, 508 p. In, **BOSIO, L. (2006).** Relations entre la fertilité et évolution de l'état corporel chez la vache laitière. Thèse de doctorat, *Université CLAUDE BERNARD, LYON I (médecine-pharmacie)*.
- **MIALOT, JP., CONSTANT, F., CHASTANT-MAILLARD, S., PONTER, AA., GRIMARD, B. (2001).** La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications Journées Européennes de la Société Française de Buiatrie, Paris, 163-168.
- **MINAMI, M., IRITANI, A. (1993).** Role of the oviduct in the development of the mouse embryo. *Molecular Reproduction and Development*, 36, 279-281.
- **MONGET, P. (2004).** Metabolism and bovine reproduction. Médecin vétérinaire du Québec. *proceeding du congrés de Buiatrie Québec*. In, **HANZEN, CH. (2004).** Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, *université de Liège, faculté de médecine vétérinaire*.
- **MONGET, P., FABRE, S., MULSANT, P., LECERF, F., ELSEN, JM., MAZERBOURG, S., PISSELET, C., MONNIAUX, D. (2002).** Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic mammals. *Domest Anim Endocrinol*, 23 (1-2), 139-154.

- **MONGET, PH., MARTIN, GB. (1997).** Involvement of insulin-like growth factors in the interactions between nutrition and reproduction in female mammals. *Human Reproduction* 1 (supplément 1), 33-52.
- **MORALES, P., LLANOS, M., GUTIERREZ, G., KOHEN, P., VIGIL, P., VANTMAN, D. (1992).** The acrosome reaction-inducing activity of individual human follicular fluid samples is highly variable and is related to the steroid content. *Hum Reprod*, 7, 646-651.

W

- **NICANDER, L. (1957).** On the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymis in rabbit. *Acta morphol. Neerlando-Scandin.*, 1, 99-118.
- **NICANDER, L. (1958).** Studies on the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymis in stallions, rams and bulls. *Acta morph. Neerlando-Scandin.*, 1, 337-362.

O

- **ORDAS, L., MATA-CAMPUZANO, M., MARTINEZ-RODRIGUEZ, A., CASPIO, A., ANEL, L., DE PAZ, P., MARTINEZ-PASTOR, F. (2010).** Suitability of the integrated semen analysis system (ISAS) sperm counting chamber for motility assessment, *Reproduction of Domestic Animal*, 45, 102.
- **ORGBIN-CRIST MARIE-CLAIRE. (1961).** Recherche Expérimentale sur la durée de passage des spermatozoïdes dans l'épididyme du taureau: Thèse. *Station de recherche de physiologie animale, centre national de recherches zootechniques, JOUY-EN-JOSAS (SEINE-ET-OISE)*

P

- **PACEY, AA., HILL, CJ., SCUDAMORE, IW., WARREN, MA., BARRATT, CLR., COOKE, ID. (1995).** The interaction in vitro of human spermatozoa with epithelial cells from the human uterine (fallopian) tube. *Hum Reprod*; 10:360-366,
- **PASCUT, T., SUTEANU, M., LUNCA, H. (1970).** Concentration de la vitamine C dans le liquide folliculaire normal pendant les différentes phase du

cycle oestral et dans le liquide des kystes ovariens (folliculaires et lutéiniques), ainsi que dans le sang des mêmes vaches. *Recueils de médecine Vétérinaire*, 146, 1021-1029.

- **PRADO, R., RHIND, S.M., WRIGHT, I.A., RUSSEL, A.J.F., MCMILLEN, S.R., SMITH, A.J., MCNEILLY, A.S. (1990).** Ovarion follicle populations, steroidogenicity and micromorphology at 5 and 9 weeks postmortum in beef cows in two levels of body condition. *Anim. Prod.*, 51, 103-108.

R

- **RAVNIK, SE., ZARUTSKIE, PW., MULLER, CH. (1990).** Lipid transfer activity in human follicular fluid: relation to human sperm capacitation. *J Androl*, 11, 216-226.
- **REID, B. L. (1959).** The structure and function of the epididimys. 2. The histogenesis of the rat epididimys. *Aust. J. Zool.*, 7, 22-38.
- **REID, B. L., CLELAND, I. W. (1957).** The structure and function of the epididimys. 1. The histology of the rat epididimys. *Aust. J. zool.*, 5, 223-246.
- **RIGAL, F., (2008).** Comparaison de la qualité de la semence de Taureau collectés à l'électro-éjaculateur ou vagin artificiel: Thèse. *Université Paul-Sabastier de Toulouse*.
- **ROLLAND, T.F. (2012).** Mise au point et caractérisation d'une culture de cellules oviductales dans l'espèce canine. Thèse de Doctorat, *Ecole Nationale Vétérinaire d'ALFORT*.
- **RYAN, D.P., SNIDJDERS, S., CONDON, T., GREALY, M., SREENAN, J., O'FARELL, K.J. (1994).** Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotrophin releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Anim Reprod. Sci.* 34, pp. 179–191.

S

- **SETCHELL, BP..** Male Reproductive Organs and semen. In : **CUPPS, PT. (1991)**. *Reproduction in Domestic Animals . 4ème édition. San Diego: Academic Press, 221-249.*
- **SHALGI, R., PHILLIPS, DM. (1988)**. Motility of rat spermatozoa at the site of fertilization. *Biol Reprod*; 39: 1207-1213.
- **SIEGEL, MS., PAULSON, RJ., GRACZYKOWSK, JW. (1990)**. The influence of human follicular fluid on the acrosome reaction, fertilizing capacity and proteinase activity of human spermatozoa. *Hum Reprod (Oxf)*, 5, 975-980.
- **SPICER, LJ., TUCKER, WB., ADAMS, GD. (1990)**. Insulin-like growth factor in dairy cows: relationship among energy balance, body condition, ovarian activity, and oestrus behavior. *J. Dairy Sci.* 73, 929-937.
- **STOUT, M.A. (2012)**. Comparison of Epididymal and ejaculated Sperm Collected from the same Holstein Bulls, (Doctoral dissertation, Louisiana state University).

T

- **THIBAUT, C., LEVASSEUR, M-C. (2001)**. La Reproduction chez les mammifères et l'homme. *Nouv. éd. ent. ref. ed. Paris: INRA : Ellipses, 2001.*
- **THIBIER, M. (1977)**. La fonction sexuelle du jeune taurillon (*Bos taurus*): Thèse. Sciences: *Paris*.
- **THOMAS, PGA., BALL, BA., BRINSKO, S. (1994)**. Interaction of equine spermatozoa with oviduct epithelial cell explants is affected by estrous cycle an anatomic origin of explant. *Biolòo Reprod*; 51 :222-228.
- **TRAORE, P. (1996)**. Les méthodes d'évaluation du sperme du taureau destiné à l'insémination artificielle. Thèse : Médecine Vétérinaire : Rabat (IAV Hassan II) (Université de Montréal).

V

- **VILLANUEVA-DIAZ, C., VADILLO-ORTEGA, F., KABLY-AMBE, A., DIAZ PEREZ, M.A., KRIVIZKY, S.K. (1990)**. Evidence that human follicular fluid contains a chemoattractant for spermatozoa. *Fertility and Sterility*, 54, 1180-1182.

W

- **WASTON, A.J., DE SOUSE, P., CAVENEY, A., BARCROFT, L.C., NATALE, D., URQUHART, J., WESTHUSIN, M.E. (2000).** Impact of bovine oocyte maturation media on oocyte transcript levels, blastocyst development, cell number, and apoptosis. *Biology of Reproduction*, 62, 355-364.
- **WEBB, R., CAMPBELL, BK., GARVERICK, HA., GONG, JG., GUTIERREZ, CG., ARMSTRONG, DG. (1999).** Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J Reprod Fertil Suppl*, 54, 33-48.
- **WEBB, R., NICHOLAS, B., GONG, JG., CAMPBELL, BK., GUTIERREZ, CG., GARVERICK, HA., ARMSTRONG, DG. (2003).** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reprod Suppl*, 61, 71-90.
- **WHO. (2010).** World Health Organization (WHO) Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. fifth edition. *WHO Press, Geneva, Switzerland*.
- **WOLTER, R. (1992).** Alimentation de la vache laitière. *Paris : France Agricole*, 223 p. In, **PONCET, J. (2002).** Etude des facteurs de risque de l'infertilité dans les élevages bovins laitiers de l'île de la réunion : influence de l'alimentation sur la reproduction. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Alimentation*.

Y

- **YÁNIZ, J.L., LOPEZ-GATIUS, F., Hunter, R.H. (2006).** Scanning electron microscopic study of the functional anatomy of the porcine oviductal mucosa. *Anatomia Histologia Embryologia*, 35, 28–34.
- **YÁNIZ, J.L., LÓPEZ-GATIUS, F., SANTOLARIA, P., MULLINS, K.J. (2000).** Study of the functional anatomy of bovine oviductal mucosa. *The Anatomical Record*, 260, 268–278.

- **YÁNIZ, J.L., MATEOS, J.A., SANTOLARIA, P. (2011).** Zwitterionic buffers preserve ram semen quality more efficiently than TRIS during storage at 15 °C. *Small Ruminant Research*, 95, 54–60.

3

- **ZHU, J., BARRAIT, C.L.R., LIPPES, J., COOKE, J.D. (1991).** A comparison of the effects of human oviductal and follicular fluid on sperm function, in proceedings of the Society for the study of fertility, Joint Meeting, Paris (Dec 13th – 14th 1991), *Journal of Reproduction and Fertility*, Abstract series n°8 (Abstr. N°7). In, **BAYLE, F. (2003).** Techniques de collecte et aminogramme des liquides tubaire et folliculaire chez les femelles domestiques, thèse doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- **ZHU, J., BARRAIT, C.L.R., LIPPES, J., COOKE, J.D. (1994).** The sequential effects of human cervical mucus, oviductal fluid, and follicular fluid on sperm function. *Fertility and Sterility*, 61, 1129-1135.
- **ZIBRIN, M., CIGANKOVA, V., MESAROS, P., CINKOVA, M. (1978).** Agglutination and acrosome reaction of ram spermatozoa incubated in the bovine follicular fluid. *Vet Med Praha*, 23, 681-690.

WEBOGRAPHIE:

- [http:// Mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio.2460/images/page.12a.jpeg](http://Mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio.2460/images/page.12a.jpeg), page consulté le 05 octobre, 2007.
- <http://mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio2460>.
- <http://spiral.univlyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasc ulin/gm6rd.html> (page consultée le 20 septembre 2007).
- <http://spiral.univlyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasc ulin/gm6rd.html> (page consultée le 20 septembre 2007)
- <Http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm>, page consulté le 12 Septembre 2007.

- PRESENTATION DE LA COOPERATIVE DE L'AIGLE. [En ligne] Accès internet : <http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm> (page consultée le 12 Septembre 2007).
- www.casa-scopus.com.
- www.nzdl.org.
- www.reprologie.com.

RESUME

L'objectif du présent travail a été d'évaluer l'influence du liquide folliculaire et des cellules oviductales sur la mobilité spermatique en fonction des états corporels des vaches. Le liquide folliculaire et les cellules oviductales ont été collectés à partir des matrices de vaches récupérées de l'abattoir et le sperme utilisé est prélevé des épидидymes des testicules des taureaux. Les résultats obtenus montrent que le liquide folliculaire améliore grandement la mobilité spermatique par rapport au témoin. Le liquide folliculaire issue des vaches à état corporel moyen (NEC~3) a amélioré la mobilité des spermatozoïdes mieux que celui issue des vaches à état corporel maigre (NEC<=2). Les cellules oviductales n'ont pas montré des résultats optimaux probablement à cause de la mort cellulaire et du processus de congélation-décongélation.

Mots clés: Liquide folliculaire, cellules oviductales, état corporel, mobilité spermatique.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of follicular fluid and oviduct cells on sperm motility based on body conditions of cows. Follicular fluid and oviduct cells were collected from cows' wombs and sperm used is taken from the epididymis testes of bulls. The results show that the follicular fluid greatly improves sperm motility compared to the control. The follicular fluid from cows with mean body condition (BCS~3) improves sperm motility better than the one from thin cows (BCS<=2). The Oviduct cells did not show optimal results due to cell death thereof by the process of freezing and thawing.

Keywords: Follicular fluid, oviduct cells, body condition, sperm motility.