

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Hassiba Benbouali de Chlef

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Science Agronomiques et Biotechnologie



# THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

## DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Agronomie

Par

**Elhassen LANKRI**

Thème :

---

### ETUDE DES FACTEURS DE RÉUSSITE DE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE EN CUNICULTURE LIÉS AU MALE

---

Soutenue le 09/07/2020, devant le jury composé de :

Mourad TAHERTI	MCA	UHB Chlef	Président
Ahmed AICHOUNI	Professeur	Université de Tissemsilet	Rapporteur
Habib AGGAD	Professeur	ISV Tiaret	Examineur
Nacira ZERROUKI	Professeur	Université de Tizi-ouzou	Examinatrice
Azdinia ZIDANE	MCA	UHB Chlef	Examinatrice

## Résumé

En élevage cunicole, le mâle est la base du succès de la reproduction. Il joue un rôle très important dans la réussite et dans la rentabilité de cet élevage, car il influence la fertilité et la prolificité. Le succès de l'insémination artificielle (IA) qui est en cours de développement chez le lapin, dépend en grande partie de la qualité de la semence. C'est dans ce sens que s'inscrit notre objectif principal qui est l'étude des facteurs de réussite de l'insémination artificielle liés au lapin mâle de la souche synthétique ITEL V 2006.

97 lapins mâles et 15 femelles ont été utilisés pour réaliser trois expérimentations afin d'obtenir trois objectifs. Durant toute l'expérimentation, deux éjaculats successifs à intervalle de 15 minutes ont été récoltés sur chaque mâle.

Dans la première expérience, l'effet du rythme de collecte du sperme récolté au vagin artificiel sur un ensemble de caractères de production des spermatozoïdes a été analysé. Pendant 4 semaines, 6 différents rythmes ont été comparés sur 10 mâles chacun : rythme extensif ( $n = 80$  éjaculats), rythme intermédiaire ( $n = 159$ ), rythme intensif ( $n = 228$ ), rythme très intensif ( $n = 155$ ), rythme ascendant ( $n = 194$ ), rythme descendant ( $n = 188$ ). Le sperme récolté une fois par semaine (rythme 1) a eu une meilleure qualité pour l'insémination artificielle : concentration =  $502 \pm 29.10^6$  spz / ml, volume =  $0,48 \pm 0,11$  ml, motilité massale =  $5,21 \pm 0,77$ , motilité individuelle =  $3,36 \pm 0,56$ , libido =  $17,8 \pm 2,4$  secondes, pH =  $6,86 \pm 0,12$ . Les rythmes les plus productifs (nombre moyen de doses de semence utilisables par semaine) ont été les rythmes intensifs 3 et 4 avec le sperme récolté 3 fois ou 4 fois par semaine.

Dans la deuxième expérience, l'effet de la durée et de la température de conservation du sperme sur la qualité de la semence de lapins adultes. Quatre expériences ont été menées pour évaluer la qualité de la semence de 10 mâles. Des échantillons de semence ont été mélangés après analyse individuelle des éjaculats et divisés en fractions, puis dilués dans un dilueur à base de tris. Ils étaient, ensuite conservés à quatre températures différentes, pendant 96 heures. Des échantillons ont été prélevés après 24, 48, 72 et 96 h. L'expérimentation a été répétée 4 fois durant 1 mois à raison d'une fois par semaine. Les paramètres microscopiques de l'éjaculat ont été évalués avant et après le processus de conservation. Les résultats de l'analyse ont montré que le pourcentage de la motilité et de la vitalité des spz dans la semence fraîche est de  $82,86\% \pm 7,82$ ,  $73,69\% \pm 1,29$  respectivement. Alors que pour la semence conservée et pour les mêmes paramètres, une diminution des valeurs de la motilité et de vitalité a été observée avec la durée de conservation ( $p < 0,05$ ). La semence conservée à  $15^\circ\text{C}$  pendant 24h a présenté les meilleures valeurs comparativement aux autres températures ( $61,75\% \pm 2,05$  et  $66,5\% \pm 1,12$  respectivement pour la motilité et la vitalité, ( $p < 0,05$ ). Nous avons enregistré une motilité et une vitalité nulles pour la semence conservée à  $4^\circ\text{C}$  à partir de 72h.

Dans la troisième expérience, l'objectif étudié est l'effet d'une augmentation du taux protéique via l'alimentation sur l'ardeur sexuelle et les caractéristiques de leur semence a été étudié. 27 lapins mâles ont été repartis en trois lots expérimentaux. Le 1<sup>er</sup> lot (A) reçoit *ad libitum* un aliment standard du type granulé contenant 14,5% de protéines. Le 2<sup>ème</sup> lot (B) reçoit uniquement 120 g/jour du même aliment standard, sans aucune supplémentation. Le 3<sup>ème</sup> lot (C) reçoit une ration de 120g/j du même aliment standard dont la teneur en protéines est augmentée à 19,7 % par une supplémentation avec 41,6g de peptone de viande. Des pesées journalières des quantités ingérées, ainsi que des mesures hebdomadaires du poids corporel et de la libido des mâles, ont été effectuées. Pour chaque mâle, les éjaculats ont été récoltés et évalués une fois par semaine. Les résultats montrent que la consommation alimentaire journalière moyenne des lapins était de 131,7g/j, 115,2g/j et 112g/j

respectivement pour les mâles des lots A, B et C. L'effet de l'alimentation n'était pas accentué, car peu de variations ont été observées. En effet, les lapins ont bien réagi aux sollicitations avec un taux de récolte utile très élevé (100%). Il a été enregistré, par ailleurs, un volume moyen de  $0,48 \pm 0,10$ ml, une concentration moyenne de  $444,58 \pm 54,83 \times 10^6$  spermatozoïdes par ml (spz/ml) et des valeurs moyennes de  $4,76 \pm 0,74$  et  $3,15 \pm 0,56$  respectivement pour la motilité massale et la motilité individuelle. De même, peu de variations significatives étaient observées, mis à part la vitalité et les anomalies, aucune différence n'a été révélée pour les caractéristiques des éjaculats entre les trois lots. Par contre la vitalité et le pourcentage des spermatozoïdes (spz) anormaux sont affectés lorsque les mâles sont rationnés et lorsqu'ils n'ont subi aucune supplémentation. La supplémentation corrige la carence liée au rationnement des mâles à raison de 120g/j d'aliment standard.

**Mots clés:** Performances de reproduction, lapin, semence, spermatozoïde, spermogramme, insémination artificielle.

## ملخص

في تربية الأرناب، الذكر هو أساس نجاح التكاثر، إذ يلعب دوراً هاماً في نسبة المردودية لهذا النوع من التربية بنأثيره على نسبة الخصوبة. نجاح عملية التلقيح الإصطناعي، والتي لا تزال في طور التقدم عند الأرناب، مرتبطة كثيراً بنوعية السائل المنوي، في هذا الإطار يندرج هدفنا الرئيسي و هو: دراسة عوامل نجاح التلقيح الاصطناعي المتعلقة بذكر الأرناب ذو النوعية الهجينة (ITELV2006).

٩٧ أرناب ذكر و ١٥ أنثى أستعملت لتحقيق ثلاث تجارب من أجل بلوغ ثلاث أهداف. طوال مدة التجربة، قذفتين متتاليتين متباعدة بـ ١٥ دقيقة جنيت من كل ذكر.

في التجربة الأولى، قمنا بدراسة أثر معدل جني السائل المنوي بإستعمال المهبل الإصطناعي على مجموع صفات الإنتاج للخلايا المنوية، لمدة ٤ أسابيع. وذلك بدراسة ٦ تواترات و مقارنتها فيما بينها بمعدل ١٠ ذكور في كل تجربة. التواتر المتباعد (٨٠ قذفة)، التواتر المتوسط (١٥٩ قذفة)، التواتر المكثف (٢٢٨ قذفة)، التواتر جد مكثف (١٥٥ قذفة)، التواتر المتزايد (١٩٤ قذفة)، التواتر المتناقص (١٨٨ قذفة). تحصلنا على نوعية جيدة للسائل المنوي من أجل التلقيح الإصطناعي في التواتر ١، بجني مرة واحدة في الأسبوع، و ذلك بالمواصفات التالية: (تركيز:  $1.0 \times 29 \pm 0.2$  خلية منوية/ملل، حجم:  $0.48 \pm 0.11$  ملل، الحركة الكلية:  $0.21 \pm 0.07$ ، الحركة الفردية:  $0.36 \pm 0.06$ ، الرغبة الجنسية:  $0.8 \pm 0.17$ ، ثانية، درجة الحموضة:  $6.86 \pm 0.12$ ، التواترات الأكثر إنتاجية (العدد المتوسط لجرعة السائل المنوي المستعملة في الأسبوع) كانت التواترات المكثفة ٣ و ٤، بمعدل ٣ أو ٤ جنيات في الأسبوع.

في التجربة الثانية، الهدف المدروس كان تأثير مدة و درجة حرارة تخزين السائل المنوي على نوعيته عند الأرناب البالغين. ٤ تجارب أجريت لتقييم نوعية السائل المنوي لـ ١٠ أرناب ذكور. بعد التحليل الفردي للعينات، قمنا بدمجها ثم تقسيمها إلى أجزاء، لتميعها في سائل مكون أساساً من المركب TRIS. خزنا العينات في ٤ درجات حرارية مختلفة لمدة ٩٦ ساعة، أخذنا عينات بعد ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعة. التجربة أعيدت ٤ مرات خلال شهر بمعدل مرة في الأسبوع. الصفات الميكروسكوبية للسائل المنوي قيّمت قبل و بعد عملية التخزين. نتائج التحليل بيّنت أن نسبة الحركة و النسبة المئوية للحيوانات المنوية الحية قبل التخزين كانت:  $82.86\% \pm 7.82$  و  $73.69 \pm 1.29$  بالترتيب. بعد التخزين لاحظنا هبوط في نسبة الحركة و نسبة الحيوانات المنوية الحية مع ( $p < 0.05$ ) فتخزين السائل المنوي في ١٥ درجة مئوية مدة ٢٤ ساعة، أعطت أحسن القيم مقارنة مع درجات الحرارة الأخرى ( $61.75\% \pm 2.05$ ) و ( $66.5\% \pm 1.12$ ) بالترتيب بالنسبة للحركة و النسبة المئوية للحيوانات المنوية الحية ( $p < 0.05$ ). سجلنا نسبة حركة و نسبة الحيوانات المنوية الحية شبه منعدمة بالنسبة للسائل المنوي المخزن في ٤ °م ابتداءً من ٧٢ سا.

في التجربة الثالثة، قمنا بدراسة تأثير زيادة نسبة البروتينات في الغذاء على الرغبة الجنسية و صفات السائل المنوي. ٢٧ أرناب ذكر، مقسمة الى ٣ مجموعات تجريبية: "أ"، يُقدّم لها غذاء عادي بنسبة ١٤,٥٪ من البروتينات، "ب"، يُقدّم لها فقط ١٢٠ غ/يوم من نفس غذاء المجموع الأولى بدون أي زيادة. "ج"، يُقدّم لها وجبة بـ ١٢٠ غ/يوم من نفس الغذاء مع زيادة في نسبة البروتينات لتصل إلى ١٩,٧٪ بإضافة ٤١,٦ غ من ببتون اللحم، قمنا بوزن يومي للكميات المستهلكة و وزن أسبوعي للكتلة الجسمية و الرغبة الجنسية للذكور، مع تحليل للسائل المنوي المجني مرة واحدة في الأسبوع. النتائج المتحصّل عليها بيّنت أن متوسط إستهلاك الغذاء اليومي للأرناب كان: ١٣١,٧ غ/يوم، ١١٥,٢ غ/يوم، و ١١٢ غ/يوم بالترتيب بالنسبة للذكور المجموعات أ، ب، ج. أثر التباين في التغذية لم يكن واضحاً، بحكم التغيرات القليلة الطارئة الملاحظة، مع هذا، نسبة الجني

للمحاولات المحققة كانت عالية (١٠٠٪) . كما سجلنا متوسط الحجم بـ ٤٨,١٠±٠,١٠ ملل، متوسط التركيز ٥٨,٨٣±٤٤٤,٥٨×١٠ اخلية منوية/ملل، و ٨٦,٧٤±٤,٠٧ و ١٥,٥٦±٣,١٥ على التوالي بالنسبة لمتوسط الحركة الكلية و الحركة الفردية. مع تغيرات قليلة للصفات الأخرى ما عدا نسبة الحيوانات المنوية الحية و نسبة الإعتلالات. لم نلاحظ وجود فرق لصفات السائل المنوي بين المجموعات الثلاثة، كما لاحظنا أن النسبة المئوية للحيوانات المنوية الحية و نسبة الإعتلالات تتأثر عند تحديد الوجبة الغذائية و بدون إضافات. إضافة البروتينات تعالج بعض النقص المتعلق بالوجبة الغذائية المحددة للذكور بقيمة ١٢٠ غ/يوم من الغذاء العادي.

**الكلمات المفتاحية:** القدرة الإنتاجية، أرنب، سائل منوي، خلية منوية، تحليل السائل المنوي، تلقيح إصطناعي.

## Abstract

In rabbit farming, the male is the basis for successful reproduction. It plays a very important role in the success and profitability of this breeding, because it influences fertility and prolificacy. The success of artificial insemination (AI), which is being developed in rabbits, depends largely on the quality of the semen. It is in this sense that our main objective is inscribed, which is the study of the success factors of artificial insemination linked to the male rabbit of the synthetic strain ITELV 2006.

97 male and 15 female rabbits were used to carry out three experiments in order to obtain three objectives. During the whole experiment, two successive ejaculates at 15-minute intervals were collected from each male.

In the first experiment, the effect of the collection rate of sperm collected on the artificial vagina on a set of spermatozoa production characteristics was analyzed. During 4 weeks, 6 different rhythms were compared on 10 males each: Extensive rhythm (n = 80 ejaculates), intermediate rhythm (n = 159), intensive rhythm (n = 228), very intensive rhythm (n = 155), ascending rhythm (n = 194), descending rhythm (n = 188). The sperm collected once a week (rhythm 1) had a better quality for artificial insemination: concentration =  $502 \pm 29.10^6$  spz / ml, volume =  $0.48 \pm 0.11$  ml, mass motility =  $5.21 \pm 0, 77$ , individual motility =  $3.36 \pm 0.56$ , libido =  $17.8 \pm 2.4$  seconds, pH =  $6.86 \pm 0.12$ . The most productive rhythms (average number of usable semen doses per week) were the intensive rhythms 3 and 4 with the sperm harvested 3 times or 4 times per week.

In the second experiment, the effect of the storage time and temperature on the semen quality of adult rabbits. Four experiments were conducted to evaluate the semen quality of 10 males. Semen samples were mixed after individual analysis of the ejaculates and divided into fractions and then diluted in a Tris diluent. They were then kept at four different temperatures for 96 hours. Samples were taken after 24, 48, 72 and 96 h. The experiment was repeated 4 times for 1 month once a week. The microscopic parameters of the ejaculate were evaluated before and after the preservation process. The results of the analysis showed that the percentage of motility and vitality of spz in fresh semen is  $82.86\% \pm 7.82$ ,  $73.69\% \pm 1.29$  respectively. For the conserved semen and for the same parameters, a decrease in the motility and vitality values was observed with the conservation time ( $p < 0.05$ ). The semen kept at  $15^\circ \text{C}$  for 24 hours presented the best values compared to other temperatures ( $61.75\% \pm 2.05$  and  $66.5\% \pm 1.12$  respectively for motility and vitality,  $p < 0.05$ ). We recorded zero motility and vitality for the semen stored at  $4^\circ \text{C}$  from 72 hours.

In the third experiment, the objective studied is the effect of an increase in dietary protein level on sexual ardour and semen characteristics. 27 male rabbits were divided into three experimental lots. Lot A received *ad libitum* a standard pelleted feed with 14.5% crude proteins, and lot B received only 120 g/day of the same diet. The 3rd lot (C) received 120 g/day of the same pelleted feed, the protein level of which was increased up to 19.7% by daily supplementation with 6.6 g/meat peptone. Daily measurements of intake quantities and weekly measurements of body weight and male libido were carried out. For each male, the ejaculates were collected once a week for 8 wk. The average daily intake was 131.7 g/d, 115.2 g/d and 112 g/d for the males of lots A, B and C respectively. Body weight gains in 8 wk were +229, -134 and +59 g for lots A, B and C. Rabbits responded well to solicitations and had a very high useful collection rate (100%). The mean volume of ejaculates was identical for the 3 lots (0.48 ml). A mean concentration of  $444.58 \times 10^6$  spermatozoa per ml of ejaculate (spz/ml) and mean values of 4.76 and 3.15, respectively, for mass and individual motility were recorded without significant difference between groups. In the same way, few significant variations were observed, apart from vitality and abnormalities; no difference was

revealed for the ejaculate characteristics between the three groups, although vitality and percentage of abnormal spz are affected when the males are rationed and without supplementation. It can be deduced from these results that the protein supplementation partly corrected the reduction in performance associated with male feeding at 120 g/day of standard diet with 14.5% proteins

**Key words:** Reproductive performance, rabbit, semen, spermatozoon, spermogram, artificial insemination.

## *Dédicace*

*A mes parents,  
Qui m'ont toujours soutenu en témoignage de ma  
reconnaissance.*

*A mon épouse,  
Pour tout son soutien*

*A mes frères, mes sœurs et mes camarades*

*A toute ma famille et ma belle famille*

*A tous ceux qui m'ont aidé et m'ont encouragé*

## REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, louange à ALLAH, seigneur de l'univers ; comme il se doit, pour la majesté de ta force et l'immensité de ton pouvoir.*

*Nous exprimons notre reconnaissance totale à Allah de nous avoir donné les forces, la volonté et le courage pour accomplir ce travail modeste et de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Au Docteur TAHERTI Mourad à l'université de Chlef, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse. Hommage respectueux.*

*A Monsieur AICHOUNI Ahmed, Professeur à l'université de Tissemsilet, qui nous a fait l'honneur de diriger cette thèse avec gentillesse et bienveillance.*

*A Madame ZERROUKI Nacira, Professeur à l'Université de Tizi-Ouzou, qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse. Qu'elle en soit vivement remerciée.*

*Un grand merci à AGGAD Habib, professeur à ISV Tiaret, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse, Sincères remerciements.*

*Toute notre reconnaissance également à madame ZIDANE Azdinia Docteur à l'université de chlef, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse, Sincères remerciements.*

*Notre reconnaissance va en particulier à madame BOUDOUR khedidja, pour sa disponibilité et son aide précieuse, qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.*

*Mes reconnaissances a mes amis Ibrahim, Nouredine, Abdennour, Abderraouf, en particulier à mon ami le plus rapproché, KHELILI Ahmed.*

*Nous ne cesserons de remercier tous les collaborateurs chacun dans son secteur et sa spécialité pour la réalisation de ce travail.*

***El hassen***

## Table des matières

Résumé .....	II
ملخص .....	IV
Abstract .....	VI
Dédicace .....	VIII
Remerciements .....	IX
Table des matières .....	X
Liste des abréviations .....	XVI
Liste des tableaux .....	XVIII
Liste des figures .....	XIX
Introduction générale .....	1

### A. Partie Bibliographique

#### Chapitre I: Anatomie et physiologie de la reproduction chez le lapin

I.1. Anatomie de l'appareil génital mâle .....	3
I.1.1. Section glandulaire.....	3
I.1.1.1. Morphologie.....	3
I.1.1.2. Les enveloppes des testicules.....	3
I.1.1.3. Les structures intra testiculaires .....	4
I.1.2. Section tubulaire .....	5
I.1.2.1. L'épididyme .....	5
I.1.2.2. Le conduit différent .....	5
I.1.2.3. La glande vésiculaire .....	5
I.1.3. La section uro-génitale .....	5
I.2. La physiologie de l'activité sexuelle .....	6
I.2.1. Le développement des gonades et la puberté .....	6
I.2.2. La maturité sexuelle .....	6
I.2.3. Spermatogenèse et production de spermatozoïde.....	7
I.2.3.1. Le cycle spermatogénétique.....	7
I.2.3.2. La maturation épидидymaire .....	8

I.2.3.3. Le spermatozoïde .....	8
I.2.4. Régulation hormonale .....	8
I.2.5. Etablissement de la spermatogenèse .....	9
I.2.5.1. La phase infantile .....	9
I.2.5.2. La phase pré pubertaire .....	10
I.2.5.3. La puberté .....	10
I.2.5.4. La maturité sexuelle.....	10
I.2.6. La fertilité du mâle .....	10
I.2.6.1. La production de spermatozoïdes par le testicule .....	10
I.2.6.2. Le comportement sexuel .....	11
I.2.6.3. La production de sperme .....	11

## ***Chapitre II: L'insémination artificielle chez le lapin***

II.1. Les étapes de l'insémination artificielle .....	12
II.1.1. Récolte de sperme .....	12
II.1.1.1. Matériel de collecte .....	12
II.1.1. 2. La préparation du mâle à la collecte .....	12
II. 2. Méthodes classiques d'évaluation du sperme .....	13
II. 2. 1. Les mesures macroscopiques .....	13
a) L'aspect de l'éjaculat .....	13
b) La couleur .....	13
c) Le volume .....	14
d) Le pH .....	14
II. 2. 2. Les mesures microscopiques .....	15
a) La motilité des spermatozoïdes .....	15
b) Les spermatozoïdes anormaux.....	15
c) La concentration.....	16
d) La viabilité.....	16
II.3. Limites des techniques classiques d'examen du sperme .....	16
II.4. Les nouvelles méthodes d'évaluation de la semence .....	17
II.4.1. Mesure de la concentration .....	17
II. 4.1.1. La spectrophotométrie .....	17
II. 4.1.2. Le NucleoCounter .....	17

II.4.2. Evaluation de la motilité des spermatozoïdes .....	18
II. 4.2.1. Analyse du sperme assistée par ordinateur .....	18
II.4. 3. Evaluation de l'intégrité de la membrane plasmatique .....	19
II. 4. 3.1. Test hypo-osmotique .....	19
II. 4. 3. 2. La fluorescence .....	20
II. 4. 4. Evaluation morphologique et ultra-structurale .....	20
II. 4. 4.1. Les techniques de microscopie électronique .....	20
II. 4. 4. 2. Analyse automatisée de la morphométrie du spermatozoïde (ASMA) .....	21
II. 4. 5. capacitation .....	21
II. 4. 6. Réaction acrosomique .....	21
II. 4. 7. L'évaluation de la fertilité in vivo et in vitro .....	22
II. 5. Dilution.....	22
II.6. L'insémination artificielle chez le lapin .....	23
II. 6.1. Intérêt de l'insémination artificielle chez le lapin .....	23
II. 6.1. 1. Intérêt économique .....	23
II. 6.1. 2. Intérêt génétique .....	23
II. 6.1. 3. Intérêt sanitaire .....	23
II. 6. 2. Technique de l'insémination artificielle .....	23
II. 6. 2.1. La mise en place de la semence .....	24

### ***Chapitre III: Facteurs de réussite de l'insémination artificielle chez le lapin***

III.1. Facteurs liés au mâle .....	26
III.1.1. Facteurs liés à l'animal .....	26
III.1.1.1. Le logement des mâles .....	26
III.1.1.2. Les conditions d'élevage .....	26
III.1.1.3. Le facteur génétique .....	26
III.1.1.4. L'âge .....	28
III.1.1.5. L'état de santé.....	29
a). La stérilité du mâle.....	29
b). Les maux de patte.....	29
III.1.2. Facteurs liés à la semence .....	29
III.1.2.1. Les chocs de la semence .....	29

III.1.2.1.1. Les chocs mécaniques .....	29
III.1.2.1.1. Les chocs thermiques.....	30
III.1.2.1.1. Les chocs chimiques .....	30
III.1.2.2. La qualité de la semence .....	30
III.1.2.3. Taux de dilution .....	30
III.1.2.4. Dilution et conservation du sperme à basse température .....	31
III.1.2.4. 1. La réfrigération .....	31
III.1.2.4. 2. La congélation .....	32
III.2. Facteurs extrinsèques .....	33
III.2.1. La saison .....	33
III.2.2. La température .....	35
III.2.3. La lumière et la photopériode .....	36
III.2.4. L'altitude.....	37
III.2.5. L'alimentation .....	37
III.2.6. Le rythme d'utilisation .....	39
III.2.7. L'ordre de collecte.....	41
III.2.8. L'effet du préleveur.....	42
III.2.9. La stimulation des mâles .....	42
a). Les traitements hormonaux.....	42
b). Les méthodes de biostimulation.....	42

## ***B. Partie expérimentale***

### ***Chapitre IV : Matériels & Méthodes***

IV.1. Objectifs .....	44
IV.2. Matériels .....	44
IV.2.1. Matériels biologiques .....	44
IV.2.2. Condition d'élevage .....	44
IV.3. Méthodologie .....	45
IV.3.1. Récolte de la semence .....	48
IV.3.1.1. Préparation du matériel de collecte.....	48
IV.3.1.2. Préparation des mâles et récolte spermatique .....	49
IV.3.1.3. Méthodes d'analyse spermatique.....	49
IV.4. Conduite expérimentale .....	52

IV.4.1. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006 .....	52
IV.4.2. Effet de la température et de la température de stockage du sperme sur la qualité de la semence du lapin de la souche ITELV 2006 .....	54
IV.4.3. Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur <i>la libido</i> et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006 .....	55
IV.5. Analyse statistique .....	58

### ***Chapitre IV : Résultats & Discussion***

V.1. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006 .....	59
V.1.1. Evaluation de la production spermatique chez les lapins .....	59
V.1.1.1. Taux de récolte utile des lapins .....	59
V.1.2. Evolution hebdomadaire de l'ardeur sexuelle et des caractéristiques du sperme en fonction du rythme de collecte .....	61
V.1.2.1. Ardeur sexuelle ou libido .....	61
V.1.3. Les caractéristiques de l'éjaculat.....	63
V.1.3.1. Distribution des variables .....	63
V.1.3.2. Comparaison des 2 éjaculats successifs .....	63
V.1.3.3. Effet du rythme de récolte .....	67
V.1.3.4. Corrélations entre les caractéristiques de l'éjaculat .....	75
V.1.3.5. Nombre de doses de semence utilisables .....	76
V.2. Effet de la température et de la durée de stockage du sperme sur la qualité de la semence du lapin de la souche ITELV 2006 .....	78
V.3. Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur <i>la libido</i> et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006 .....	84
V.3.1. La consommation alimentaire .....	84
V.3.2. Evolution du poids corporel.....	84
V.3.3. Evaluation de la production spermatique chez les lapins .....	86
V.3.3.1. Taux de récolte utile des lapins .....	86
V.3.3.2. Evolution hebdomadaire de l'ardeur sexuelle et des caractéristiques de la semence.....	86
V.3.3.2.1. Ardeur sexuelle ou libido.....	86

V.3.3.2.2. Caractéristiques de la semence.....	87
- Caractéristiques macroscopiques .....	87
- Caractéristiques microscopiques.....	88
V.3.4. Effet du niveau d'alimentation et de la supplémentation protéique.....	88
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>91</b>

### ***Production scientifique***

Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006. *Livestock Research for Rural Development 31 (5) 2019* ..... 93

Effect of sperm storage time and temperature on semen quality in the rabbit line ITELV 2006. *The X International Scientific "Agrosym 2019" Jahorina, October 03 - 06, 2019 page 1567-1575* ..... 110

Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur *la libido* et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006. *18<sup>èmes</sup> Journées de la Recherche Cunicole, 27 – 28 mai 2019, Nantes, France page 86-90*..... 120

**Références bibliographiques ..... 125**

**Annexes ..... 140**

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ITELV** : Institut Technique des Elevages.
- j** : jour.
- K** : Potassium.
- Kg** : kilogramme.
- Led**: Light-Emitting Diode.
- LH** : Luteinizing Hormone.
- lx** : lux.
- mEq** : milliéquivalent.
- Mg** : Magnesium.
- mg** : milligramme.
- MI** : Motilité individuelle.
- ml** : millilitre.
- MM** : Motilité massale.
- mM** : milimole.
- Mn** : Minute.
- MOR** : Mortalité.
- Moy** : Moyenne.
- MSE** : Motile spermatozoa per ejaculat.
- Nb** : **n** : nombre.
- Na** : Sodium.
- NSP** : Nombre de spermatozoïdes produits.
- NZ** : Newzealand.
- p** : seuil de signification de la différence entre les moyennes.
- pH** : potentiel en Hydrogène.
- PI** : Propidium Iodide.
- PMSG** : Pregnant Mare Serum Gonadotropin
- Pop Local DZ** : Population locale Algérienne
- PVC** : Polyvinyl chloride (le polychlorure de vinyle ou chlorure de polyvinyle)
- R** : Récolte.
- S** : Semaine.
- SCA** : Sperm-Class Analyzer
- Sec** : Seconde.
- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ANO** : Anomalies.
- ASMA** : Analyse automatisée de la morphométrie du spermatozoïde.
- C** : Collecte.
- Ca** : Calcium.
- CAL** : Californien.
- CASA** : Computer Assisted Sperm Analysis.
- Ccd** : Charge-Coupled Device.
- cm** : centimètre.
- CO** : Concentration.
- CTC** : Chlortétracycline.
- DF** : Facteur de dilution.
- Distr** : Etendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle.
- DMSO**: Diméthylsulfoxyde.
- eCG** : La gonadotrophine chorionique équine.
- EDTA** : Ethylène diaminotétra-acétate.
- ESB** : Encéphalopathie spongiforme bovine.
- ETM** : Ecart type de la moyenne.
- FSH** : Folliculo Stimulating Hormone.
- g** : gramme.
- GnRH** : Gonadotropin-Releasing Hormone.
- h** : heure
- HCG** : Hormone chorionique gonadotrope humaine.
- IA** : Insémination Artificielle.
- ICSH** : Interstitial cell stimulating hormone.
- ID** : Identification.
- IM** : Intra-musculaire.
- IMV** : Institut de médecine vétérinaire.
- INRA** : Institut national de la recherche agronomique.

**SEM** : Scannig Electronic Microscopy.

**SNV** : Science de la nature et de la vie.

**spz** : Spermatozoïde (s).

**T** : Total.

**TEM** : Transmission Electron Microscopy.

**TM** : Taux de mortalité.

**UI** : Unité internationale.

**V** : Valeur.

**VIT** : Vitalité.

**VOL** : Volume.

**Vs** : Versus.

**µg** : microgramme.

**µm** : micromètre.

**%** : pour cent.

**°C** : degré Celsius.

**Liste des tableaux**

**Tableau 1 :** Composition du plasma séminal chez le lapin.. ..... 11

**Tableau 2 :** caractéristiques de la semence du lapin.. .....27

**Tableau 3 :** Résumé les principales caractéristiques de la semence des lapins pour le premier et le deuxième éjaculat.....41

**Tableau 4 :** Caractéristiques de la semence de mâles de deux lignées et Résultats des inséminations artificielles pratiquées avec ces semences .....43

**Tableau 5 :** Analyse de l'aliment standard.....45

**Tableau 6 :** Grille déterminant la couleur du sperme .....51

**Tableau 7 :** Certificat d'analyse de Peptone de viande .....57

**Tableau 8 :** Réponses aux sollicitations, taux des éjaculats utiles et présentant un gel ..... 60

**Tableau 9 :** Caractéristiques macroscopiques du sperme : la couleur.....68

**Tableau 10 :** Caractéristiques macroscopiques du sperme : pH .....69

**Tableau 11 :** Caractéristiques macroscopiques du sperme : volume .....71

**Tableau 12 :** Caractères microscopiques du sperme : concentration .....72

**Tableau 13 :** Caractères microscopiques du sperme : motilités massale et individuelle .....73

**Tableau 14 :** Caractères microscopiques du sperme : mortalité .....73

**Tableau 15 :** Corrélations entre les caractéristiques du sperme.....75

**Tableau 16 :** Nombre de doses de semence utilisables pour les mâles selon le rythme de collecte..... 76

**Tableau 17:** Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du sperme frais .....80

**Tableau 18:** Les caractéristiques de vitalité et de motilité de la semence conservée.....81

**Tableau 19:** La consommation alimentaire moyenne des mâles des trois lots expérimentaux..... 84

**Tableau 20:** Poids corporel moyen et gain de poids moyen pour les trois lots expérimentaux..... 85

**Tableau 21:** Effet du type d'alimentation sur la libido et les caractéristiques de la semence.....90

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins .....	3
<b>Figure 2:</b> Schémas de l'organisation des tubes séminifères de mammifère .....	4
<b>Figure 3:</b> L'appareil reproducteur du lapin mâle .....	6
<b>Figure 4:</b> Le cycle spermato-génétique chez le lapin.....	7
<b>Figure 5:</b> Le spermatozoïde du lapin.....	8
<b>Figure 6:</b> Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle .....	9
<b>Figure 7:</b> Le NucleoCounter.....	18
<b>Figure 8:</b> Système CASA de type Hamilton ThorneSperm Analyzer.....	19
<b>Figure 9:</b> Spermatozoïdes morts et vivants colorés avec le mélange SYBR et PI.....	20
<b>Figure 10:</b> Différentes anomalies observés sous microscope électronique.....	21
<b>Figure 11:</b> Le déroulement de l'IA de la lapine par un seul et par 2 opérateurs.....	24
<b>Figure 12:</b> Influence d'un séjour de 8 heures à 34°C, pratiqué 1 jour ou 5 jours consécutifs en semaine zéro, sur le pourcentage de spermatozoïdes morts déterminé au cours des 8 semaines suivantes .....	35
<b>Figure 13:</b> Pourcentage de spermatozoïdes vivants dans les éjaculats de lapins soumis à un éclairage de 8h ou de 16 heures de lumière par jour.....	37
<b>Figure 14:</b> Production hebdomadaire de spermatozoïdes en fonction du rythme de prélèvement .....	40
<b>Figure 15:</b> Intérieur du bâtiment d'élevage .....	44
<b>Figure 16:</b> Matériel de pesée de l'aliment et de l'animal .....	46
<b>Figure 17:</b> Le protocole expérimental .....	47
<b>Figure 18:</b> Préparation du vagin artificiel .....	48
<b>Figure 19:</b> Matériel d'analyse de la semence .....	50
<b>Figure 20:</b> Élimination du gel de la semence .....	50
<b>Figure 21:</b> Protocole expérimental. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006 .....	53
<b>Figure 22:</b> Protocole expérimental. Effet de durée et de la température de stockage du sperme sur la qualité de la semence du lapin de la souche ITELV 2006 .....	55
<b>Figure 23:</b> La peptone de viande utilisée pour la supplémentation.....	56
<b>Figure 24:</b> Protocole expérimental. Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur <i>la libido</i> et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006 .	57

---

<b>Figure 25:</b> Comparaison de l'ardeur sexuelle entre les deux collectes successives pour les six lots.....	62
<b>Figure 26:</b> Effet du rythme de collecte sur l'ardeur sexuelle .....	63
<b>Figure 27:</b> Comparaison du pH des éjaculats entre les deux collectes successives pour les six lots.....	64
<b>Figure 28:</b> Comparaison du volume des éjaculats entre les deux collectes successives pour les six lots .....	64
<b>Figure 29:</b> Comparaison de la motilité massale des éjaculats entre les deux collectes successives.....	65
<b>Figure 30:</b> Comparaison de la motilité individuelle des éjaculats entre les deux collectes successives .....	65
<b>Figure 31:</b> Comparaison de la concentration des éjaculats entre les deux collectes successives.....	66
<b>Figure 32:</b> Comparaison de la mortalité des éjaculats entre les deux collectes successives.....	66
<b>Figure 33:</b> Comparaison des anomalies des éjaculats entre les deux collectes successives.....	67
<b>Figure 34:</b> l'évolution des paramètres de variation de la semence durant la période de conservation.....	82
<b>Figure 35:</b> La consommation alimentaire des mâles des trois lots expérimentaux.....	84
<b>Figure 36:</b> L'évolution du poids moyen des 9 lapins de chaque lot au cours des 8 semaines d'essai.....	85
<b>Figure 37:</b> Effet du type d'alimentation sur la libido .....	87
<b>Figure 38:</b> Effet du type d'alimentation sur les caractéristiques des spz.....	89

***INTRODUCTION  
GENERALE***

## INTRODUCTION

Le lapin est apprécié pour son cycle biologique court, il est également un herbivore capable de bien valoriser plusieurs sources végétales et sous-produits des industries agroalimentaires, mêmes riches en cellulose. Il convertit 20% des protéines ingérées en viande contre 8 à 12% pour les bovins. Enfin, le lapin produit une viande de bonnes qualités nutritionnelle et organoleptique. La cuniculture s'avère une source de protéines non négligeable. En effet, cette espèce animale est réputée pour sa prolificité, 53 lapereaux d'un poids vif de 2,47 kg abattus par lapine/an, ce qui représente une importante quantité de viande soit 131 kg/ lapine/an (Coutelet, 2014).

Le lapin présente une source de protéines non négligeable compte tenu de sa prolificité et de sa capacité à valoriser les sous-produits agro industriels.

En Algérie, la rationalisation de cet élevage n'est apparue qu'à partir de 1987 suite à l'importation de reproducteurs hybrides (Hyplus). Toutefois, cette opération a rapidement échoué (moins de deux années) en raison de l'indisponibilité d'aliments granulés de qualité nutritionnelle ce qui a provoqué une importante mortalité. Après cet échec, la cuniculture rationnelle est relancée une décennie plus tard en adoptant une stratégie basée sur l'exploitation des reproducteurs de population locale. Cette nouvelle situation rencontrera moins de difficultés pour disposer d'un aliment industriel de meilleure qualité ce qui a facilité la multiplication des élevages rationnels notamment dans la région du centre du pays. Cette promotion de la cuniculture a été appuyée par la mise en œuvre de programmes de recherches universitaires orientés vers la caractérisation des reproducteurs locaux et le contrôle des performances de production Afin de mettre à la disposition des éleveurs d'un matériel biologique performant adapté aux conditions locales et d'un aliment équilibré. (Berchiche et al., 2000 a et b ; Zerrouki et al., 2005 ; Lakabi-Ioualitène et al., 2008 ; Mefti-Korteby et al., 2010 ; Kadi et al., 2011 ; Cherfaoui et al., 2013 ; Lounaouci-Ouyed et al., 2014 ; Mazouzi-Hadid et al., 2014).

Pour cela l'Institut Technique de l'Élevage (ITELV) a créé à partir de 2003 une souche synthétique, issue du croisement entre des femelles de la population locale et des mâles d'une souche de l'INRA, plus lourde et plus productive.

L'intérêt de ce croisement est confirmé par la comparaison des performances de production et de reproduction de cette souche avec deux populations locales disponibles en Algérie. Cette

comparaison a permis d'augmenter très significativement le poids de la femelle et ses performances de prolificité. Le nouveau génotype (la souche synthétique) manifeste les mêmes qualités d'adaptation aux conditions locales, en conservant sa supériorité sur les deux populations locales quelle que soit la saison. (Gacem *et al.*, 2009).

En élevage rationnel, la conduite de la reproduction est passée de la saillie naturelle à l'insémination artificielle (IA), technique qui permet la mise en place d'un nouveau système de production : "la conduite en bande", facilitant, ainsi la gestion des élevages et assurant une meilleure rentabilité. (Theau-Clément, 2005).

Malgré la large utilisation de cette technique dans les grandes exploitations de lapins de plusieurs pays dans le monde, elle n'est certes pas devenue une pratique courante en Algérie. Son développement s'est accompagné d'une meilleure connaissance des facteurs de succès liés à la femelle et au mâle. En effet, les deux sexes contribuent à la fertilité, que ce soit en saillie naturelle ou en IA.

Pour les mâles reproducteurs, les travaux expérimentaux sont peu nombreux que pour les femelles et les jeunes mâles en croissance. Depuis qu'on s'intéresse à la pratique de l'IA, on cherche à améliorer les performances chez le mâle soit par l'amélioration génétique soit par l'amélioration des paramètres liés à son environnement tels que l'utilisation d'un régime alimentaire spécialement conçu pour les mâles afin d'optimiser la libido et la qualité du sperme. (Nizza *et al.*, 2000a).

Les facteurs de réussite de l'IA liés à la femelle ont fait l'objet de nombreuses études, dans le monde. Néanmoins, une minorité de travaux de recherche avaient pour objectif les facteurs liés au de la population locale.

Dans ce cadre s'inscrit le présent travail qui vise comme objectif d'étudier les facteurs de réussite de l'IA liés au mâle de la souche synthétique ITELV 2006 suivants:

- \* l'influence du rythme de récolte du sperme sur les caractéristiques des éjaculats recueillis.

- \* L'effet de différentes durées de conservation à différentes températures sur la qualité de la semence.

- \* L'effet du niveau d'alimentation et de la teneur protéique de la ration sur la libido et les caractéristiques de la semence.

***PARTIE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

# *Chapitre I*

## *Physiologie de la reproduction chez le lapin*

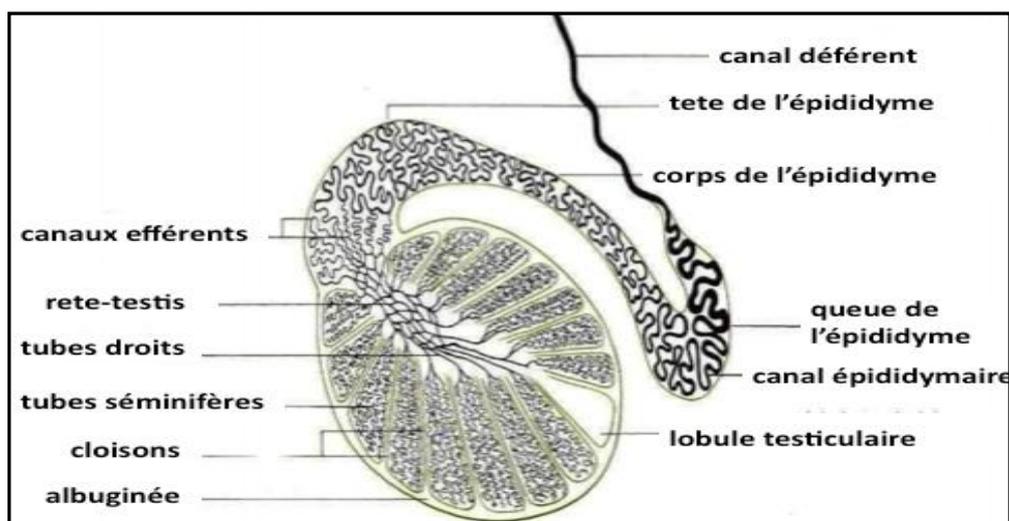
## I.1. Anatomie de l'appareil génital mâle

L'appareil génital mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration du sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales de la femelle. Il est constitué de trois grandes parties.

### I.1.1. Section glandulaire

#### I.1.1.1. Morphologie

Est constituée des deux testicules ovoïdes, de 3 à 3,5cm de longueur et de 1 à 1,5cm de largeur. Leur poids est de 1,5 à 2g chez le lapin adulte (Barone, 1978). Ils sont placés dans des sacs scrotaux et restent en communication avec la cavité abdominale, où ils étaient à la naissance (Lebas *et al.*, 1996). La descente des testicules étant temporaire (Barone, 1978), ils ont la particularité de pouvoir entrer et sortir de la cavité abdominale dès l'âge de 2 mois (Fromont et Tangay, 2001). (Figure 1).



**Figure 1:** Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins (Bonne *et al.*, 1988).

#### I.1.1.2. Les enveloppes des testicules

Chaque testicule est logé dans un sac musculaire très développé qui est en continuité avec le muscle oblique interne autour de l'anneau inguinal, appelé le crémaster. Ce dernier contrôle la remontée et la descente du testicule, qui est presque horizontal quand sa descente est maximale. (Bonne *et al.*, 2005). Le testicule est enveloppé par le scrotum qui est presque glabre et bien visible durant l'activité sexuelle (Bonne *et al.*, 2005).

La gaine vaginale qui constitue la séreuse du testicule et de son cordon est tapissée intérieurement par la tunique vaginale et extérieurement par une tunique fibreuse issue du

fascia transversalis. Elle parcourt la paroi abdominale au travers d'un canal inguinal délimité en haut et en bas par les anneaux inguinaux (Alvarino, 1993 ; Barone, 2001).

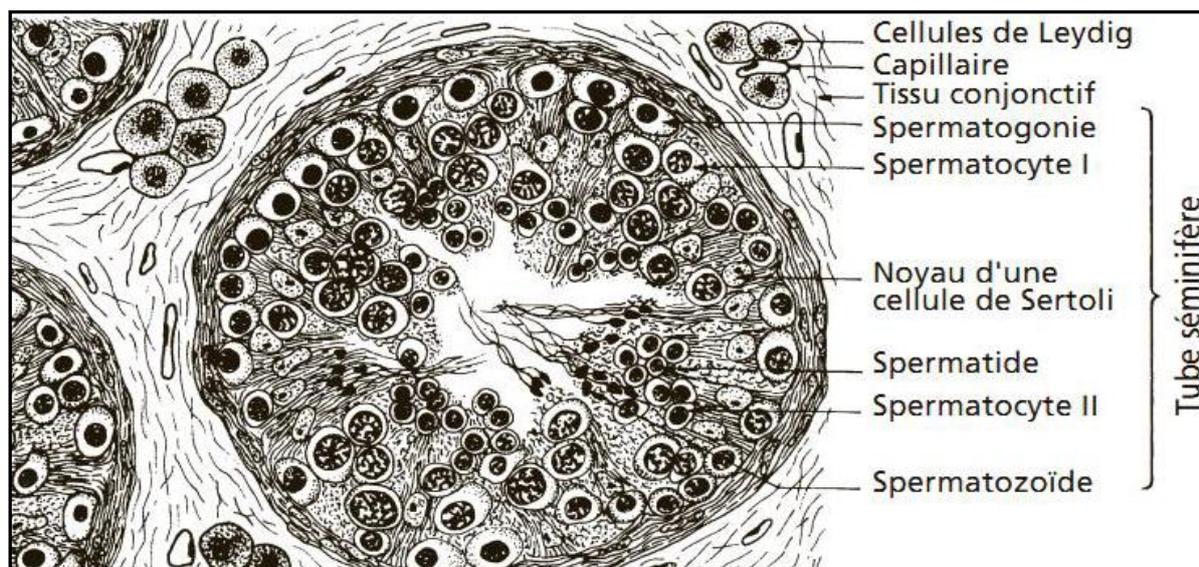
### I.1.1.3. Les structures intra testiculaires

Le parenchyme testiculaire est composé de tubes séminifères et d'espaces interstitiels et divisé en lobes et lobules par des travées conjonctives issues de l'albuginée et du rete testis.

Les tubes séminifères sont en nombre de 2 à 3 tubes par lobule, ils peuvent atteindre 70 mètres. Ils se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le « rete testis », d'où partent une dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993).

L'épithélium séminifère est constitué de cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse (spermatogonies A et B, spermatocytes I et II et spermatozoïdes) et de cellules de Sertoli qui ont un rôle de protection et de contrôle de la maturation et la migration des cellules germinales par synthèse de l'Androgen Binding Protein (ABP), de l'inhibine et de l'activine qui inhibent ou activent la sécrétion de FSH (Wrobel, 1990).

Les cellules réparties dans les espaces interstitiels (cellules de Leydig, fibroblastes, macrophages, lymphocytes...) synthétisent 95% de la testostérone présente dans le sang et de 20 à 50% des autres androgènes tels que la dihydrotestostérone, déhydroépiandrostérone et l'androstènedione (Wrobel, 1990). (Figure 2).



**Figure 2 :** Schémas de l'organisation des tubes séminifères de mammifère. (Le Moigne et Foucrier, 2009).

### **I.1.2. Section tubulaire**

Est formée par les voies de stockage et de transport du sperme jusqu'au sinus uro-génital. Elle constitue les voies spermatiques. (Figure 3).

#### **I.1.2.1. L'épididyme**

Est un conduit qui recouvre chaque testicule, il est formé de trois parties : la tête, le corps et la queue qui sont le siège de transport et de maturation des spz. (Garreau *et al.*, 2015).

#### **I.1.2.2. Le conduit différent**

Est long de 12 à 15cm, et relativement épais (Barone, 1978), Il se poursuit par le canal déférent qui traverse un renflement fusiforme « ampoule différentielle », positionné au-dessus de la vessie (Garreau *et al.*, 2015).

#### **I.1.2.3. La glande vésiculaire**

Située dorsalement à la vésicule séminale et à la portion antérieure de l'urètre. Elle possède 2 canaux excréteurs qui s'ouvrent latéralement au colliculus. (Barone, 1978).

### **I.1.3. La section uro-génitale**

Est formée par l'urètre de 12 à 13cm, dont 8 à 9 seulement pour la partie spongieuse. (Barone, 2001). Celui-ci est annexé de la prostate qui est remplacée par un complexe de plusieurs glandes: "une glande vésiculaire"(prostate crâniale), une prostate caudale (prostate proprement dite), et une paire de glandes para-prostatiques (Barone, 1978).

Ces dernières recouvrent les ampoules différentielles et, parfois, la vésicule séminale. (Garreau *et al.*, 2015). Postérieurement à la prostate, se situent les glandes de Cowper s'ouvrant par 2 paires de canaux dans l'urètre caverneux (Boussit, 1989). Le pénis du lapin est dépourvu de gland. Il est enfermé dans le fourreau. Il mesure de 3 à 5cm. En arrière, sont situées 2 glandes préputiales, sécrétant une substance très odorante, responsable du déclenchement de l'ovulation chez la femelle (Garreau *et al.*, 2015).

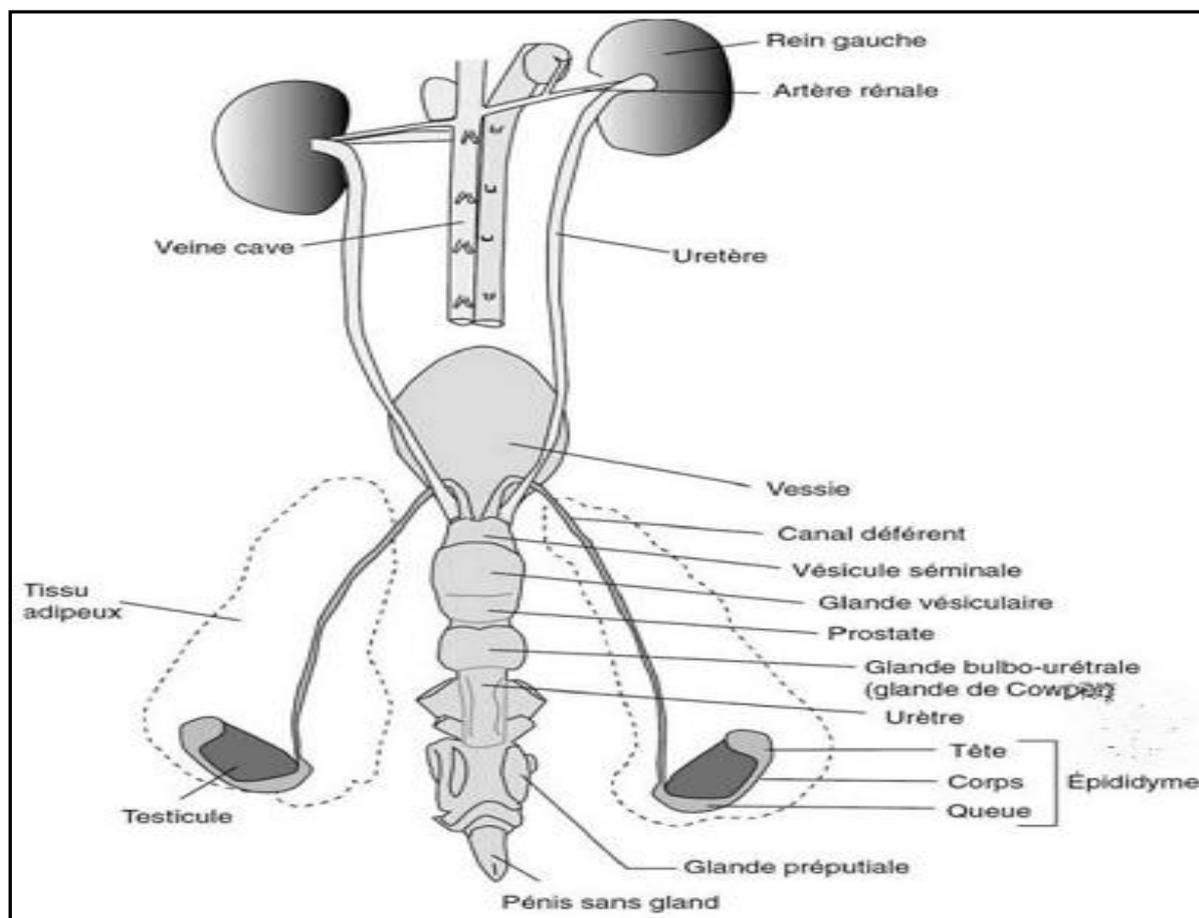


Figure 3 : L'appareil reproducteur du lapin mâle. (Garreau *et al.*, 2015 ; Di-Lorio., 2014).

## I.2. La physiologie de l'activité sexuelle

### I.2.1. Le développement des gonades et la puberté

Lebas *et al.* (1996) rapportent que la différenciation des gonades commence le 16<sup>ème</sup> jour qui suit la fécondation. Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de 5 semaines. Les glandes annexes ont une croissance de même type mais plus tardive. L'âge de la puberté varie selon la taille du lapin, les petites races deviennent sexuellement matures plus tôt (4 à 5 mois) que les moyennes (4 à 8 mois) et que les grosses (5 à 8 mois) (Kolb, 1975).

### I.2.2. La maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de sperme n'augmente plus, est atteinte à 32 semaines pour la race Néo-Zélandaise en climat tempéré. Toutefois, dans les mêmes conditions, un jeune mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines (Lebas *et al.*, 1996). C'est une période de bouleversements causés par l'apparition d'hormones sexuelles dans le sang (Tremblay, 2009).

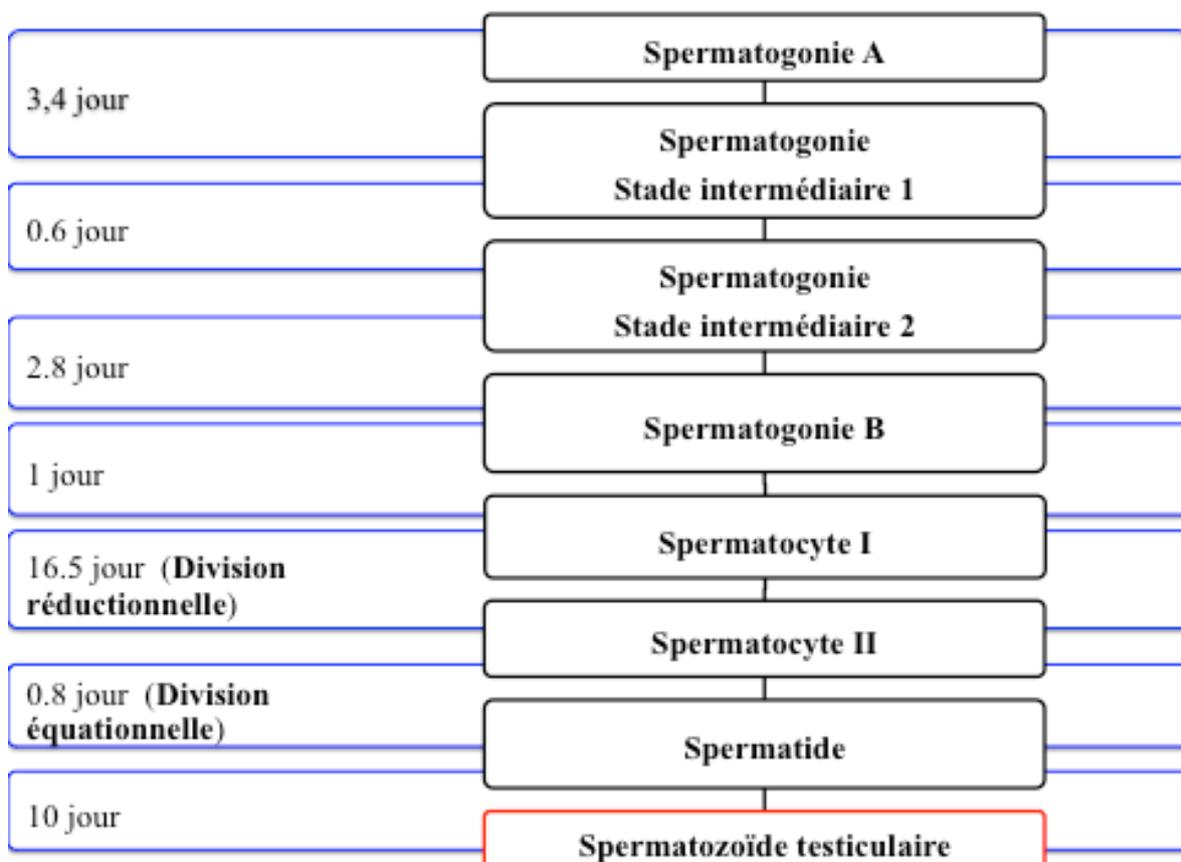
### I.2.3. Spermatogenèse et production de spermatozoïde

Le testicule assure deux grandes fonctions, la production de spz, et la production d'androgènes, responsables de l'apparition des caractères sexuels secondaires, du comportement sexuel et de la spermatogénèse (Gayard, 2007).

La spermatogénèse commence entre 40 et 50 jours et elle dure 51,8 jours, avec un cycle de l'épithélium séminal de 10,5 jours (Gayard, 2007). Les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours. Les premiers spz sont présents dans l'éjaculat vers 110 jours (Lebas *et al.*, 1996).

#### I.2.3.1. Le cycle spermatogénétique

Représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires permettant à partir d'une spermatogonie d'élaborer un spz non mature. Il se déroule dans le testicule, plus particulièrement au niveau des tubes séminifère. (Boussit, 1989).



**Figure 4 :** Le cycle spermato-génétique chez le lapin. (Boussit 1989).

Un cycle spermato génétique (Figure 4) présente deux phases, l'évolution cytologique jusqu'aux spermatides et la spermatogénèse qui est une différenciation du spermatide en spermatozoïde aidée par la cellule de Sertoli. (Fortun-Lamothe *et al.*, 2015).

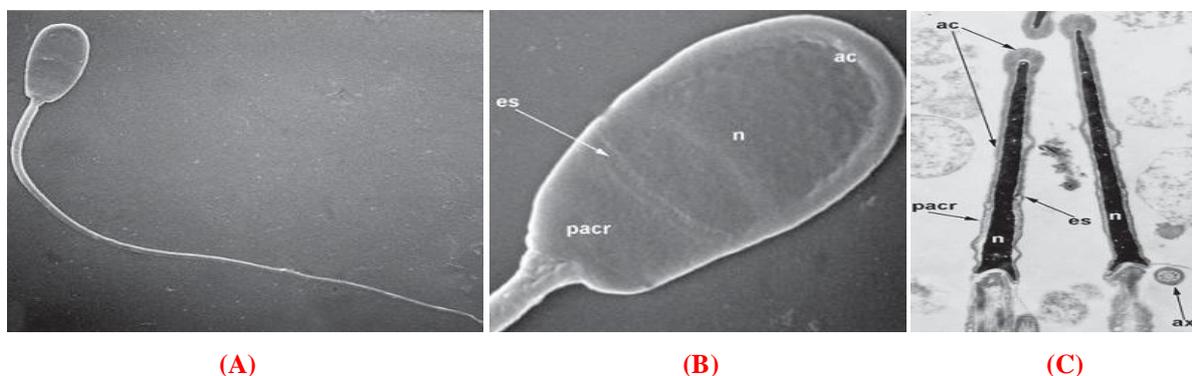
### 1.2.3.2. La maturation épидидymaire

A leur sortie du testicule, les spz ne sont pas fécondants, ils le deviennent après leur passage dans l'épididyme (Gayard, 2007) qui les transporte par des contractions induites par la testostérone. Le transit de la tête vers la queue dure de 8 à 10 jours. (Boussit, 1989).

Les spz sont ensuite stockés dans la queue de l'épididyme ou ils sont absorbés par les tissus ou évacués par voie urinaire. L'épididyme intervient également pour absorber les fluides excrétés, les produits de dégradation du métabolisme des spz et les cellules mortes des différents tissus constituant l'appareil génital du mâle en amont. (Boussit, 1989).

### 1.2.3.3. Le spermatozoïde

Il est de 50-60µm de longueur. Il est constitué de la tête (7x4x0,5µm) contient le noyau et l'acrosome ; la pièce intermédiaire (8,8µm) et le flagelle (45-55µm) responsable du mouvement. (Fortun-Lamothe *et al.*, 2015) (Figure 05). L'acrosome est délimité par une membrane tri-laminaire, et le reste de la façade de la tête est couvert par une structure supplémentaire de nature protéique sulfuro-fibreuse pour conférer une grande résistance. (Di-Lorio, 2014).

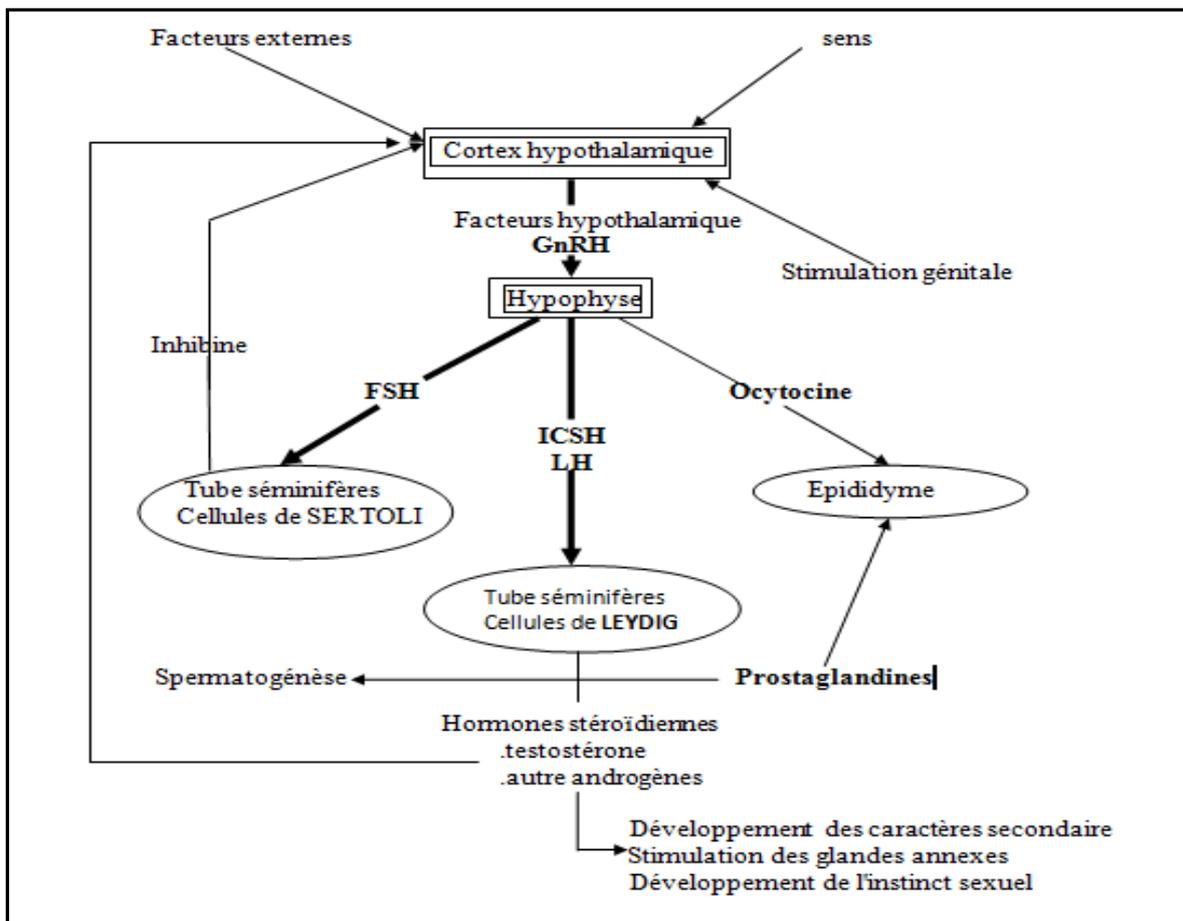


**Figure 5** : Le spermatozoïde du lapin : (A), SEM vue globale (x 2600) ; (B), SEM la tête (x 10000) ; (C) TEM section longitudinale (x 10.600). (Boiti *et al.*, 2005).

### 1.2.4. Régulation hormonale

La production des spz est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique ; le GnRH stimule la sécrétion de la FSH et la LH hypophysaire de façon pulsatile. (Bresse, 1968).

La LH stimule la production de la testostérone par les cellules Leydig. Tandis que la FSH stimule les cellules de Sertoli qui transforme la testostérone en œstradiol, et secrète de l'inhibine. Ces derniers avec la testostérone exercent un feedback négative sur l'axe hypothalamo-hypophysaires. (Boussit, 1989). (Figure 6).



**Figure 6:** Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle. (Boussit, 1989).

L'éjaculation se produit sous contrôle d'une hormone voisine de l'ocytocine. Cette hormone hypophysaire est libérée par stimulation de la sphère génitale, ce qui explique que l'on puisse récolter des mâles par simple masturbation. (Boussit, 1989).

La testostérone qui représente au moins 50% de tous les androgènes produits, avant et après la puberté. (Martinet, 1978), est sécrétée de manière épisodique au cours de la journée (toutes les 4 à 5h). Martinet. (1978) observe en effet 5 ou 6 pics/24h dans le sang périphérique. Le taux circulant augmente significativement après l'accouplement.(Boussit, 1989).

### I.2.5. Etablissement de la spermatogénèse

La spermatogénèse se fait en différentes phases au cours de l'âge de l'animal:

#### I.2.5.1. La phase infantile

Martinet. (1978) définit cette phase comme la période allant de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle est caractérisée par une croissance lente des testicules et des vésicules séminales, ainsi que par des niveaux de FSH et de testostérone faibles.

### **I.2.5.2. La phase pré pubertaire**

Débute vers l'âge de 40 jours et marque l'accélération de la croissance testiculaire et de l'élévation des androgènes et des gonadostimulines, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. Les premières cellules de Leydig matures apparaissent à 40 jours, leur nombre augmente très rapidement et entre 70 et 80 jours le tissu interstitiel acquiert l'aspect adulte. (Berger *et al.*, 1982 ; Boussit, 1989). La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours d'âge (Lebas, 2009).

Les premiers spz apparaissent vers l'âge de 110 jours et ils présentent de nombreuses malformations. La motilité est rapidement acquise mais la production totale est encore bien inférieure à celle d'un adulte. (Skinner, 1967).

### **I.2.5.3. La puberté**

C'est le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire des spz aptes à féconder un ovule, est atteint vers 4 à 5 mois Boussit. (1989). Cependant, Macari et Machado. (1978) signalent que la puberté est atteinte lorsque le lapin devient capable de se reproduire par l'apparition des premiers spz dans l'éjaculat vers l'âge de 110 jours (Lebas, 2009). Sabbagh. (1983) rapporte que la puberté est le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte. Ce stade est atteint à partir de l'âge de 24 semaines chez le lapin Néo-Zélandais blanc et coïncide alors en termes de reproduction à la maturité sexuelle. (Macari et Machado, 1978).

### **I.2.5.4. La maturité sexuelle**

Amman et Lambiase. (1967) définissent la maturité sexuelle comme le moment où la production journalière de sperme n'augmente plus. La mise à la reproduction des mâles doit donc faire l'objet d'une attention particulière de la part de l'éleveur sous peine de voir apparaître des problèmes de fertilité. De façon pratique, les mâles ne devraient pas être utilisés en général avant 5 à 6 mois. (Boussit, 1989 ; Quiles et Hevia, 2000).

## **I.2.6. La fertilité du mâle**

### **I.2.6.1. La production de spermatozoïdes par le testicule**

La production journalière de spz ou NSP (nombre de spz produits) est liée aux potentialités physiques de production. Ainsi le NSP varie en fonction de la race (surtout selon le format) et est fortement corrélé au poids testiculaire : de 25 à 60 millions de spz produits par gramme de testicules suivant la race, pour une production journalière de 100 à 250 millions de spz par

animal adulte. Les spz produits sont stockés dans l'épididyme et constituent ainsi des réserves importantes (4 à 6 fois la valeur de NSP). (Boussit, 1989).

### I.2.6.2. Le comportement sexuel

Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours, mais ne sont féconds que vers 135 à 140 jours. Les mâles présentent une libido constante dès la puberté. Ils suivent les femelles, les reniflent, les lèchent et peuvent émettre un jet d'urine sur leur partenaire. Pour les plus expérimentés, quelques secondes suffisent pour la saillie. (Boussit, 1989).

Le réflexe d'éjaculation consiste en 2 phases : une première phase de production de la fraction spermatique, une 2<sup>ème</sup> de production de la fraction muco-gélatineuse. L'éjaculation, dernière étape du comportement sexuel, permet le mélange des spz au plasma séminal. Ce réflexe est sous contrôle hormonal, ce qui entraîne une certaine préparation « psychologique » du mâle avant la saillie si l'on veut que l'éjaculat soit de la meilleure qualité possible. (Boussit, 1989).

### I.2.6.3. La production de sperme

Le plasma séminal, sécrété par les vésicules séminales, la prostate et les glandes de Cowper sert de milieu nutritif pour les spz. (Bresse, 1968). Sa composition chimique est donnée dans le tableau 1. Le mélange aux spz a lieu pendant l'éjaculation. (Boussit, 1989).

**Tableau 1** : Composition du plasma séminal chez le lapin. (Boussit, 1989).

Concentration intracellulaire des spermatozoïdes	Concentration dans le plasma séminal
Fructose (40-400mg/100ml)	Na (140-160 mg/100g)
Glycérylphosphorylcholine (280mg/100ml)	K (70-85 mg/100g)
Glucose (Traces parfois)	Ca (5-7 mg/100g)
Inositol (30mg/100ml)	Mg (22-31 mg/100g)
Sorbitol (80mg/100ml)	
Acide citrique (110-550mg/100ml)	
Acides gras libres (0,001meq/100ml)	
Acides gras volatils (0,134meq/100ml)	
Protéines totales (6g/100ml)	
Catalase (27,5mg/ml)	

## *Chapitre II*

# *L'insémination artificielle chez le lapin*

En règle générale, l'IA a pour objectif de remplacer l'introduction naturelle de la semence du mâle dans les voies génitales de la femelle par une introduction contrôlée par l'éleveur, au moment où les ovules sont libérés par les ovaires dans les voies génitales de la femelle. (Lebas, 2001). Cette technique consiste à déposer le sperme au moyen d'un instrument, au moment le plus opportun et à l'endroit le plus approprié du tractus génital femelle (Koutinhoun, 2010). Elle est réalisée soit avec de la semence fraîche, prélevée et traitée dans l'élevage, soit avec de la semence réfrigérée fournie par une structure productrice de semence. (Bencheikh, 1995).

L'IA a permis la mise en place d'un nouveau système de production : "la conduite en bande" et une meilleure organisation des élevages. (Theau-clement, 2005).

## **II.1. Les étapes de l'insémination artificielle**

### **II.1.1. Récolte de sperme**

#### **II.1.1.1. Matériel de collecte**

Le vagin artificiel utilisé chez le lapin est un dérivé des modèles utilisés dans d'autres espèces. C'est un réceptacle qui fournit à l'organe copulateur des stimuli thermiques et mécaniques et de l'élasticité nécessaire pour l'éjaculation (Alvarino, 1993). Plusieurs modèles (commercial ou artisanal) ont été créés avec de l'aluminium, le plastique ou même le verre (Castellini, 1996).

La température du liquide contenu dans le vagin, pour simuler le vagin naturel, doit avoisiner 42°C au moment de la collecte (Boussit, 1989 ; Morrell, 1995 ; Boiti *et al.*, 2005). Afin de maintenir cette température, 10-15g de glycérol ou de glycérine peuvent être ajoutés. Aussi, de l'eau préchauffée (50-58°C) peut également être injectée régulièrement (Arecibia et Rosario, 2009). L'augmentation de la température de l'eau dans le vagin artificiel au-delà de 50°C entraîne une contamination de l'éjaculat avec l'urine, En revanche, si la température est inférieure à 40°C le lapin refuse d'éjaculer et la quantité du gel des granules séminales augmente, ce qui entrave la manipulation de l'éjaculat et modifie sa qualité. (Morrell, 1995 ; Areciba et Rosario, 2009).

#### **II.1.1.2. La préparation du mâle à la collecte**

Le mâle étant le premier concerné par la réussite de la collecte, il a été constaté qu'il pouvait répondre plus ou moins bien à la sollicitation selon l'opérateur. Un opérateur calme, attentif et patient augmentera ses chances de réussite. (Boussit, 1989).

La femelle utilisée comme boute-en-train constitue un des stimuli de l'éjaculation. Il est plus prudent d'affecter une ou deux femelles à la cellule des mâles et de les présenter en position de l'ordose. (Boussit, 1989).

Pendant la collecte du sperme, Le comportement du mâle est strictement identique à celui observé lors de la saillie naturelle. L'opérateur peut néanmoins orienter le vagin artificiel afin de faciliter l'intromission du pénis. (Boussit, 1989 ; Arencibia et Rosario, 2009). La durée de la collecte peut aller de quelques secondes à plusieurs minutes. L'attente d'une récolte n'a jamais dépassé 10 minutes (Theau-clement et al., 2011). Certains auteurs laissent penser que la pratique d'une fausse monte améliore la réponse à l'éjaculation, la qualité de l'éjaculat et la quantité de spermatozoïdes récoltés. (Macmillan et Hafs, 1967).

Garcia-Tomas et al. (2005), ont débuté l'entraînement des mâles au vagin artificiel à l'âge de 5 mois. À l'âge de 6 mois, ils entrent en phase de production. Pendant 7 semaines, 2 éjaculats par mâle et par semaine ont été prélevés, avec un intervalle de 30 minutes entre les prélèvements. Brun et al. (2013) ont pratiqué la même procédure de prélèvement d'une fois par semaine à raison de 2 éjaculats à 15 minutes d'intervalle.

## II. 2. Méthodes classiques d'évaluation du sperme

L'ardeur sexuelle est mesurée par le temps écoulé entre l'introduction de la femelle dans la cage du mâle et l'éjaculation. L'examen du sperme doit être effectué le plus tôt possible après la récolte, à une température voisine de la température corporelle (Boussit, 1989).

### II.2.1. Les mesures macroscopiques

#### a) L'aspect de l'éjaculat

Le sperme a une coloration blanchâtre. Son opacité dépend surtout de la concentration spermatique. Les éjaculats de faible concentration sont claires, d'aspects aqueux voire légèrement jaunâtres, ils contiennent parfois un gel muco-gélatineux sécrété par les glandes annexes, plus ou moins consistant et transparent. La présence ou l'absence de gel peut être notée pour caractériser l'éjaculat et le mâle. (Boussit, 1989).

#### b) La couleur

La couleur idéale optimale de la semence est blanc nacré. Mais, elle peut être modifiée par la présence d'éléments anormaux (Alvarino, 1993). La couleur jaune peut être liée à la présence d'urine pouvant détériorer la qualité de la semence. La coloration grisâtre est liée à la précipitation au fond du tube, de cristaux et de cellules d'exfoliation, morte, provenant des

tissus génitaux. La coloration rougeâtre voire rosée peut être due à la présence de sang. Le mâle ayant un sperme avec ces couleurs peut présenter un problème pathologique dont l'effet peut diminuer la qualité de la semence produite et doit être, à cet effet, éloigné. Cependant, Les éjaculats retenus sont ceux présentant un aspect crémeux (Boussit, 1989).

### c) Le volume

Le volume de l'éjaculat est très variable selon les individus, l'âge, le type génétique et les conditions d'élevage. Ainsi, il a été montré que le volume moyen de l'éjaculat augmentait jusqu'à 8 mois puis se stabilisait. Des néo-zélandais blancs de un an et de 3,9kg ont fourni un volume moyen d'éjaculat de 0,41ml alors que, dans les mêmes conditions, des Dutch Belted de 2,4kg ont produit seulement 0,34ml (Amann, 1966). Le volume varie également avec la saison, certaines références faisant état d'un maximum de mars à juin. (Boussit, 1989). La fréquence d'utilisation du mâle a un effet sur le volume de l'éjaculat. Plus la fréquence est élevée, plus le volume diminue, jusqu'à déplétion (Desjardins et al., 1968). Bien qu'un éjaculat de volume normal soit un indice favorable, le volume total collecté n'est qu'un facteur secondaire d'appréciation. (Boussit, 1989).

### d) Le pH

La mesure du pH, dès la récolte, est un bon estimateur de la qualité de la semence certains auteurs trouvent un pH nettement alcalin et le situe autour de 8. En revanche d'autres données indiquent un pH très légèrement acide, de l'ordre de 6,8 - 6,9 (Alvarino, 1993 ; Lebas, 2009 ; Quiles et Heevia, 2000). Cependant, un sperme de qualité a un pH qui oscille entre 7,1 et 7,3 (extrêmes 6,4 à 7,5). Certains auteurs italiens utilisent cette variable pour caractériser la semence de lapin. Ils éliminent tous les éjaculats dont le pH est supérieur à 7,3. (Boussit, 1989).

Le sperme a tendance à s'acidifier par transformation des réserves de glucose en acide lactique lors de la glycolyse, principale source d'énergie des spz. L'abaissement du pH en cours de conservation peut constituer un test supplémentaire d'appréciation de la vitalité métabolique du spz. Cependant, ce test n'a qu'une valeur limitée car l'augmentation de l'acidité finit par inhiber le métabolisme et la mobilité. (Boussit, 1989).

## II.2.2. Les mesures microscopiques

### a) La motilité des spermatozoïdes

Elle se traduit par des mouvements plus ou moins importants des spz. Elle est indispensable pour que les spz remontent le tractus génital femelle. Elle peut être mesurée, sous microscope, soit en semence pure, soit en semence diluée. (Nelson, 1985).

L'analyse d'images assistée par ordinateur est un bon outil d'analyse de la motilité de la semence de lapins (Theau-Clément *et al.*, 1996a ; Lattaioli et Castellini, 1998).

La motilité d'ensemble peut être appréciée à l'aide d'une grille comme celle de Petitjean.(1965). Des notes de 8 et 9 (Annexe 1) sont un bon indice de la vitalité des spz mais également d'une concentration élevée, indispensable pour observer des vagues. (Boussit, 1989).

Pour caractériser la motilité individuelle des spz qui peut être appréciée à l'aide de l'échelle d'Andrrieu. (1974), deux variables peuvent être utilisées, le pourcentage de spz mobiles et le type du déplacement. (Boussit, 1989).

Un sperme de bonne qualité doit posséder au moins 60 à 70% de spz mobiles avec un degré de motilité individuelle de 3 ou 4 (Annexe 2). Ceci correspond à des spz fléchants, présentant une trajectoire quasi rectiligne et capables de traverser le champ en 2 à 3 secondes. (Boussit, 1989).

### b) Les spermatozoïdes anormaux

Plusieurs auteurs (Arroita *et al.*, 2000 ;Mocé *et al.*, 2000 ;Nizza *et al.*, 2003 ; Roca *et al.*, 2005) affirment que la semence ne doit pas contenir plus 10 à 15% de spz anormaux, mais d'autres auteurs suggèrent que 20 à 30% d'anomalies totales sont acceptable (Amorim et Santos, 2009). Les anomalies structurelles des spz (Annexe 3) peuvent atteindre isolément ou simultanément les diverses parties du spz: La tête, l'acrosome, la pièce intermédiaire et la queue. Une persistance de la gouttelette cytoplasmique, signe de spz éjaculés immatures est parfois observée. (Derivaux, 1971). Ces anomalies peuvent être dues à l'âge, les carences en vitamine A, les fortes chaleurs, le repos sexuel prolongé, les affections microbiennes et l'entretien défectueux.

En principe, toute anomalie structurelle peut être considérée comme pathologique. Il est cependant difficile de distinguer les anomalies primaires dues à une spermatogenèse déficiente, des anomalies secondaires consécutives aux manipulations subies par le sperme

depuis la récolte jusqu'à son examen. Les spz sans queue constituent une des premières manifestations de la dégénérescence séminifère chez beaucoup d'espèces (Derivaux, 1971).

### c) La concentration

La concentration moyenne de l'éjaculat du lapin est de l'ordre de 300 millions de spz/ml avec des extrêmes de plus de 750 millions/ml. (Boussit, 1989). La mesure de la concentration peut s'effectuer par numération directe après une dilution du sperme dans une solution susceptible de disperser et de tuer les spz (solution de chlorure de sodium à 3 % ou solution de formaldéhyde à 1%) en utilisant un hématimètre (cellule de Thoma, Burker ou Neubauer). (Boiti *et al.*, 2005; Hanzen, 2009). La technique de néphélométrie simple et rapide pour certaines espèces, n'est pas très fiable pour la semence de lapin. (Boussit, 1989 ;Theau-Clément *et al.*, 1996b). En conséquence, la technique longtemps utilisée en laboratoire médical pour la numération sanguine (comptages sur hématimètre) est la technique de référence. (Boussit, 1989).

Theau-Clementet Falieres.(2005), ont Mesuré la concentration de la semence de lapins selon 2 méthodes : l'hématimètre (méthode de référence) et le NucleoCounter® (méthode testée). Ils ont conclu que la corrélation élevée entre 2 mesures de concentration intra-système et entre systèmes démontre que le NucleoCounter est un outil d'évaluation de la concentration de semence de lapins aussi répétable et juste que la méthode de référence, quelle que soit la concentration des échantillons. De plus, simple et rapide (35 secondes), cette méthode devrait permettre une meilleure maîtrise quantitative de la dose d'insémination.

### d) la viabilité

C'est l'un des critères indispensables dans l'évaluation spermatique surtout pour la détermination des doses adéquates pour l'IA. Il existe plusieurs techniques de coloration pour l'évaluation de la viabilité : la coloration à l'éosine-nigrosine, la coloration à l'iodure de propidium ou au trypan bleu. Les spz dont la membrane est endommagée laissent pénétrer le colorant et apparaissent donc roses (éosine) sur fond bleu (nigrosine) alors que les spz vivants ont une membrane intacte et apparaissent incolores. Une semence de bonne qualité présente une viabilité de 60 à 80% (Boiti *et al.*, 2005 ; Arencibia *et Rosario*,2009).

## II.3. Limites des techniques classiques d'examen du sperme

L'examen de routine de la semence est par nature un examen subjectif entraînant une variabilité intra et inter-laboratoires mais également une variabilité intra et inter-opérateurs.(Cabannes, 2008).

Les variations observées lors de l'examen morphologique des spz sont dues au manque de standardisation des méthodes d'examen et de formation. Mais également choix de la classification des anomalies morphologiques des spz (Davis et al., 1995), cité par Cabannes.(2008).

Une autre limite de l'examen de la semence par les méthodes classiques est la durée de l'analyse. De plus et compte tenu du faible nombre de cellules analysées, la population de spz analysée n'est pas forcément représentative de celle présente dans l'éjaculat.(Cabannes, 2008).

Ainsi, La relation entre la fertilité évaluée *in vitro* et celle *in vivo* n'est toujours pas clairement établie. Afin de déterminer la relation entre un paramètre séminologique mesuré *in vitro* et la fertilité *in vivo*, il faut disposer non seulement de tests de laboratoires spécifiques du paramètre à évaluer, mais également des données sur la fertilité (Amann, 1989), ce qui n'est pas facile. Parallèlement à cette analyse de la relation entre les paramètres séminologiques et la fertilité, de nouvelles techniques sont développées pour évaluer la fertilité *in vitro* (Cabannes, 2008).

#### **II.4.Les nouvelles méthodes d'évaluation de la semence**

Compte tenu des limites de l'examen de routine du sperme, de nouvelles méthodes d'analyse du sperme, plus répétables et plus exact font l'objet d'études.

##### **II.4.1. Mesure de la concentration**

###### **II.4.1.1.La spectrophotométrie**

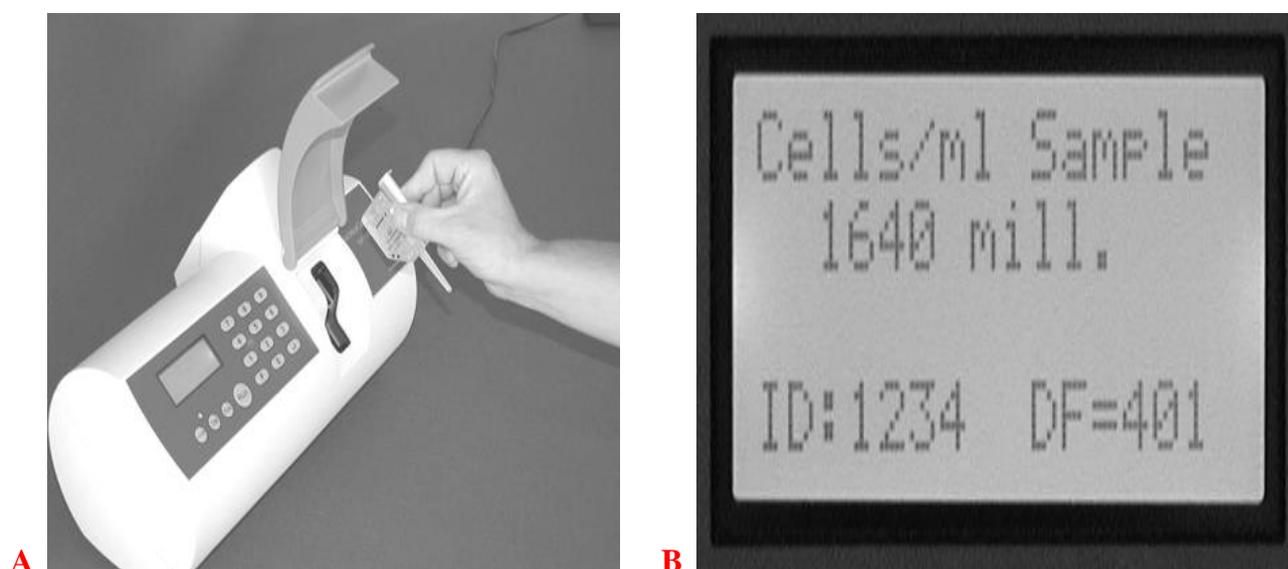
Cette technique est la plus simple et la plus rapide chez d'autres espèces, mais pas très fiable pour la semence du lapin qui renferme des particules séminales très réfringentes qui faussent les mesures de densité optique (Boussit, 1989). Toutefois, une méthode spectrophotométrique adaptée à la semence du lapin a été récemment validée par (Castellini et al., 2007).

###### **II.4.1.2.Le NucleoCounter**

Le principe du NucleoCounter SP-100 est basé sur la fluorescence de l'iodure de propidium fixé sur l'ADN des noyaux des spz de mammifères. Une première étape consiste à lyser les spz en suspension dans la semence, pour libérer les noyaux. Puis l'iodure de propidium est ajouté à la semence lysée, la lumière verte émise par une diode LED se transforme alors en lumière fluorescente rouge quand l'iodure de propidium se fixe spécifiquement sur les

noyaux. Une caméra CCD détecte les signaux excités des noyaux. L'appareil étant équipé d'un système d'analyse d'image, les signaux détectés sont analysés. Par ailleurs, un logiciel permet de visualiser sur l'écran d'un ordinateur, les noyaux fluorescents sur fond noir. Le volume d'analyse étant connu ainsi que le facteur de dilution, la concentration s'affiche directement sur l'écran du NucleoCounter SP-100 (millions de spz /ml). (Theau-Clement et Falières, 2005).

Le système NucleoCounter SP-100 comprend outre l'instrument de mesure, le réactif S100 (distribués par ChemoMetecGydevang 43, 3450 Allerød, Danemark) permettant de lyser les cellules et des cassettes SP1 (figure 7). (Theau-Clement et Falières, 2005).

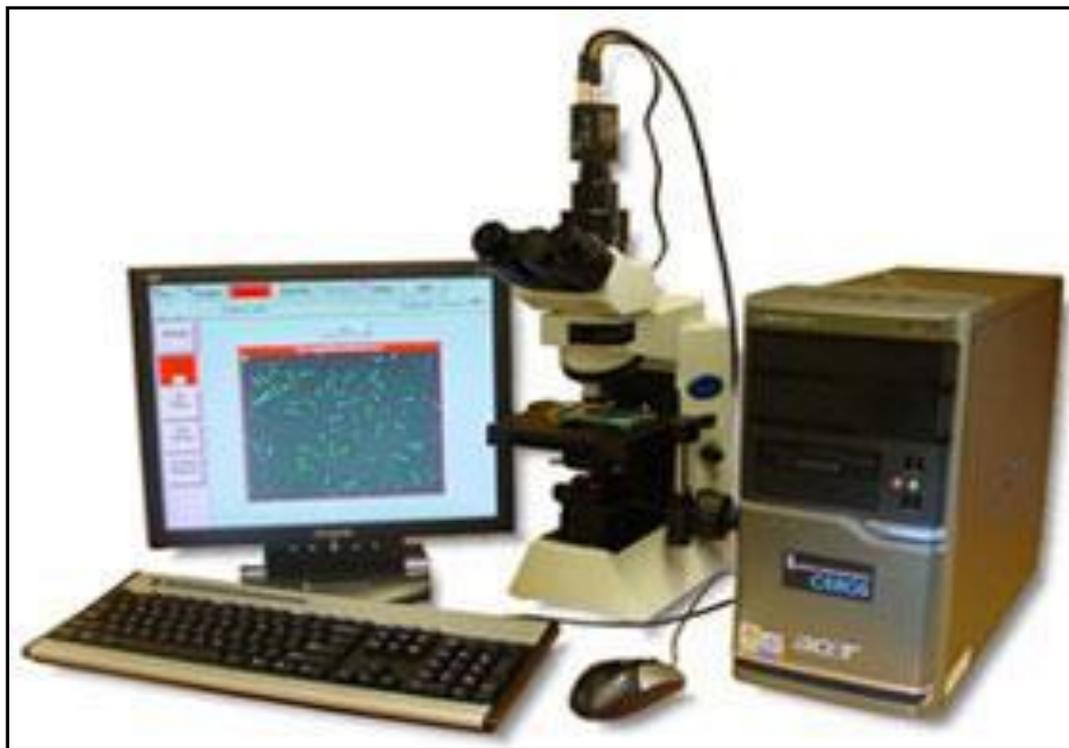


**Figure 7:** **A:** La cassette est introduite dans le NucleoCounter, l'analyse est lancée.  
**B:** La concentration s'affiche sur l'écran 35 sec après. ID= identification,  
DF= facteur de dilution. (Theau-Clement et Falières, 2005).

## II.4.2. Evaluation de la motilité des spermatozoïdes

### II.4.2.1. Analyse du sperme assistée par ordinateur (Computer Assisted Sperm Analysis (CASA))

Ces systèmes sont constitués d'un microscope à contraste de phase équipé par une plaque chauffante, et connecté à une caméra vidéo à haute résolution et un ordinateur (Figure 8).



**Figure 8 :** Système CASA de type Hamilton Thorne Sperm Analyzer.  
[http://www.yourpurespermsource.com/products/ht\\_sperm\\_analyzer.html](http://www.yourpurespermsource.com/products/ht_sperm_analyzer.html)

Plusieurs paramètres cinétique sont évalués par le système CASA, avec toutefois une organisation spécifique définie pour la semence de lapin (Boiti *et al.*, 2005). Ainsi, une forte concentration de cellule par ml et la présence des particules de différentes tailles comme dans la semence de lapin peuvent influencer l'estimation de CASA (Theau-Clément *et al.*, 1996a, 1996b).

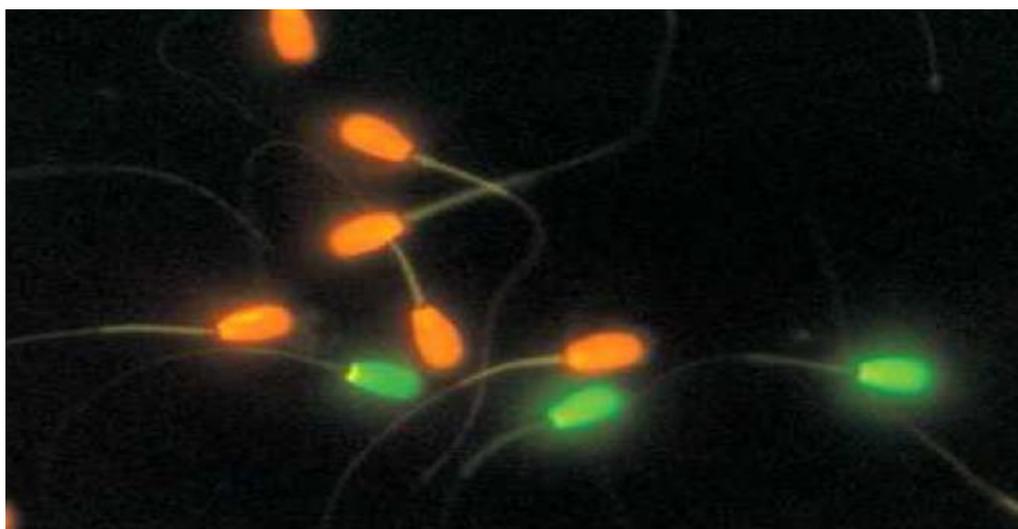
### II.4.3. Evaluation de l'intégrité de la membrane plasmatique

#### II.4.3.1. Test hypo-osmotique

Ce test permet d'évaluer l'intégrité de la membrane des cellules et présente l'avantage d'être simple, fiable et répétable (Briffaut, 2007). Les cellules, présentant une membrane plasmique intacte, permettent un transport sélectif des molécules. Lorsque la cellule est exposée à des conditions hypo-osmotiques, l'eau pénètre dans le milieu intracellulaire jusqu'à ce que l'équilibre osmotique soit atteint de part et d'autre de la membrane. Le gonflement de la cellule est particulièrement visible au niveau de la queue des spz, sous un microscope à contraste de phase (Amorim et Santos, 2009). Les spz dont la membrane est intègre se déforment et se reconnaissent à leur flagelle qui se recourbe ou s'enroule, et selon la forme prise, ils sont classés en sept catégories (Boiti *et al.*, 2005 ; Briffaut, 2007 ; Amorim et Santos, 2009).

### II.4.3.2. La fluorescence

De nombreux fluorochromes peuvent être utilisés pour évaluer l'intégrité membranaire: tel que l'association SYBR-14 et PI (Briffaut, 2007). L'examen en microscopie à fluorescence révèle que les spz vivants sont colorés en vert par le SYBR-14 qui s'intègre à l'ADN. Cette molécule est capable de pénétrer à travers la membrane plasmique de cellules intactes. Les spz morts ayant perdu leur intégrité membranaire sont colorés en rouge par le PI (Garner et Johnson, 1995) (Figure 9).



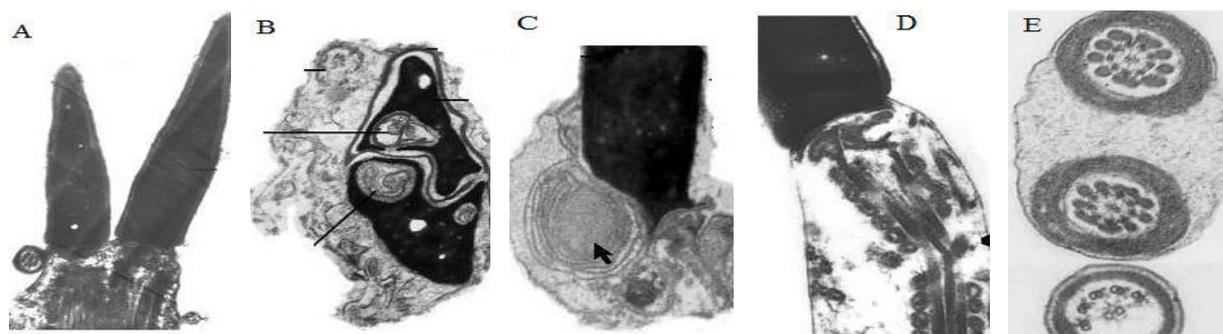
**Figure 9:** Spz morts et vivants colorés avec le mélange SYBR et PI (Garner et Johnson, 1995 cité par Cabannes, 2008).

En comparaison à la coloration à l'éosine-nigrosine, SYBR-14/PI est une méthode beaucoup plus sensible, elle permet de mettre en évidence des dommages membranaires subtils. (Cabannes, 2008).

## II.4.4. Evaluation morphologique et ultra-structurale

### II.4.4.1. Les techniques de microscopie électronique

Les techniques de microscopie électronique (Figure 10) sont utilisées pour observer toutes les anomalies morphologiques telles que les dommages membranaires, les lésions de l'acrosome, et en plus l'ultra-structure du spz (Kuzminsky et al., 1996; Boiti et al., 2005).



**Figure 10:** Différentes anomalies observés sous microscopie électronique (modifié de [Pesch et Bergmann, 2006](#)).

(A) : double têtes ; (B) : double têtes entourés par une inclusion membranaire (la tête supérieure comporte une invagination acrosomique ; l'inférieure conçoit une inclusion membranaire). ; (C) : une gouttelette cytoplasmique sphérique (flèche) ; (D) : cassure des microtubules avec perte de mitochondrie dans la pièce intermédiaire ; (E) : anomalies de flagelle (en haut : flagelle double ; en bas : défaillance de structure de microtubules (présence seulement de 5 paires périphériques). (A), (D), (E) spermatozoïde équin ; (B), (C) spermatozoïde humain.

#### II.4.4.2. Analyse automatisée de la morphométrie du spermatozoïde (ASMA)

Ces méthodes ont été développées pour diminuer les variations observées lors de l'évaluation morphométrique des spz par les techniques classiques en plus de la possibilité d'évaluation de plusieurs paramètres dans une seule analyse. La morphométrie des spz d'un échantillon de semence est déterminée par l'utilisation d'un microscope de phase à 400x, sur lequel une caméra vidéo à haute résolution était montée, elle-même est connectée à un logiciel appelé sperm-Class Analyzer (SCA) pour détecter la tête des spz et mesurer donc automatiquement les paramètres morphométrique de la tête (longueur, largeur, superficie, périmètre) de 100 spz pour chaque échantillon ([Lavara et al., 2008](#) ; [Safaa et al., 2008](#)).

#### II.4.5. Capacitation

La capacitation peut être évaluée par analyse assistée par ordinateur du mouvement du spz, une hyperactivité signifie que la capacitation a eu lieu ([Boiti et al., 2005](#)). La chlortétracycline (CTC), un antibiotique fluorescent permet d'évaluer le statut de la capacitation du spz ainsi que la réaction acrosomiale .en traversant la membrane plasmique, la chlortétracycline se lie aux ions  $Ca^{2+}$  libres, le complexe  $Ca^{2+}$  /CTC ainsi formé est fluorescent. Plus la fluorescence est intense, plus la membrane est désorganisée ([Cabannes, 2008](#)).

#### II.4.6. Réaction acrosomique

Pour évaluer la qualité du sperme le test le plus pertinent consiste à déclencher la réaction acrosomique et à estimer la proportion de spz vivants qui sont capables d'effectuer ce processus. Le statut acrosomial peut être évalué à l'aide de colorations fluorescentes ou non fluorescentes ([Boiti et al., 2005](#) ; [Cabannes, 2008](#)). D'autres techniques comme

l'immunofluorescence indirecte au moyen d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux ainsi que la coloration à la chlortétracycline (antibiotique aux propriétés fluorescentes) peuvent également être utilisées pour évaluer le statut acrosomial (Boiti *et al.*, 2005).

#### II.4.7. L'évaluation de la fertilité in vivo et in vitro

L'examen de fertilité in vivo nécessite de nombreuses femelles fertiles, et son coût reste élevé. Pour cela des techniques ont été développées in vitro comme les tests d'interaction spermatozoïde-ovocyte qui étudient l'attachement des spz à la zone pellucide et la pénétration de l'ovocyte par le spz d'un côté et la fécondation in vitro d'un autre côté. Ces méthodes donnent des informations sur la fertilité du mâle mais ils sont également utiles pour vérifier l'efficacité des méthodes de congélation (Castellini *et al.*, 2006).

#### II.5. Dilution

La dilution permet, en plus de l'augmentation du volume et du nombre de doses, le maintien de la survie des spz. Ce milieu ne doit pas créer de choc osmotique pour les spz. Il doit fournir des substrats nutritifs permettant de maintenir le métabolisme et la longévité des spz. Il doit en outre être exempt de germe ou de toxines. Ceci justifie l'utilisation d'antibiotiques compatibles avec le métabolisme des cellules mais limitant le développement de germes dans la semence. Pour définir le taux de dilution, il faut prendre en compte deux facteurs : le nombre minimum de spz nécessaires pour féconder une femelle et la concentration de l'éjaculat. (Boussit, 1989).

Les taux de dilution les plus courants sont de 2 à 10 fois que ce soit en sperme frais (Kuttner *et al.*, 1975 ; Paufler, 1979) ou en sperme congelé (Andrieu et Courot, 1976 ; Laiblin et Rohloff, 1974). Ainsi, l'éjaculat a été dilué 5 fois avec un dilueur composé du Tris [hydroxyméthyl] aminométhane (0,25 M, Sigma), acide citrique (88 mM, Sigma) et glucose. (47 mM, Sigma). (Viudes De Castro *et al.*, 1999). Il est possible de réduire le nombre de spz jusqu'à 8 millions par dose dans 2 dilueurs commerciaux sans affecter la fertilité (66%) ni la prolificité (10,2) des lapines. Cependant, une insémination avec une dose faible de 6 millions de spz entraîne pour certaines lignées de mâle une diminution des caractéristiques de la semence et une diminution de la prolificité des femelles multipares. (Joly et Theau-Clément, 2000).

La dilution doit être faite dans les 30 minutes suivant le prélèvement d'un éjaculat afin de préserver au maximum les qualités de la semence. Le dilueur doit être ajouté avec précaution à l'éjaculat et ne doit pas entrer directement en contact avec la semence mais couler lentement

voire goutte à goutte sur la paroi inclinée. L'homogénéisation du tout s'effectue en retournant 4 à 5 fois de façon lente afin d'éviter l'oxygénation du sperme. (Boussit, 1989).

## **II.6. L'insémination artificielle chez le lapin**

### **II.6.1. Intérêt de l'insémination artificielle chez le lapin**

#### **II.6.1.1. Intérêt économique**

Le recours à l'IA permet de diminuer le nombre de lapin mâle nécessaire à la conduite de la reproduction dans un élevage (Lopez *et al.*, 1998). Cette diminution permet de réaliser des économies en matière d'achat, de coût de logement et de coût alimentaire (Le Roux, 2002).

L'IA de la lapine permet d'obtenir un nombre de lapereaux important. Par exemple, dans de bonnes conditions d'élevage, une bonne lapine peut donner environ 40 lapereaux par an, soit 50 à 60 kg de viande par an à commercialiser (Djagoet Kpodekon, 2007). Cette technique permet également d'inséminer plusieurs femelles à partir d'un même éjaculat (Ingrid, 2008).

#### **II.6.1.2. Intérêt génétique**

Une semence de mâles de haute qualité génétique permet d'améliorer le résultat, sans avoir pour risque l'introduction de maladies (Thewis, 2002). En outre, elle permet la Sélection des reproducteurs et la diffusion plus rapide du progrès génétique. (Christian Meyer, 2009).

#### **II.6.1.3. Intérêt sanitaire**

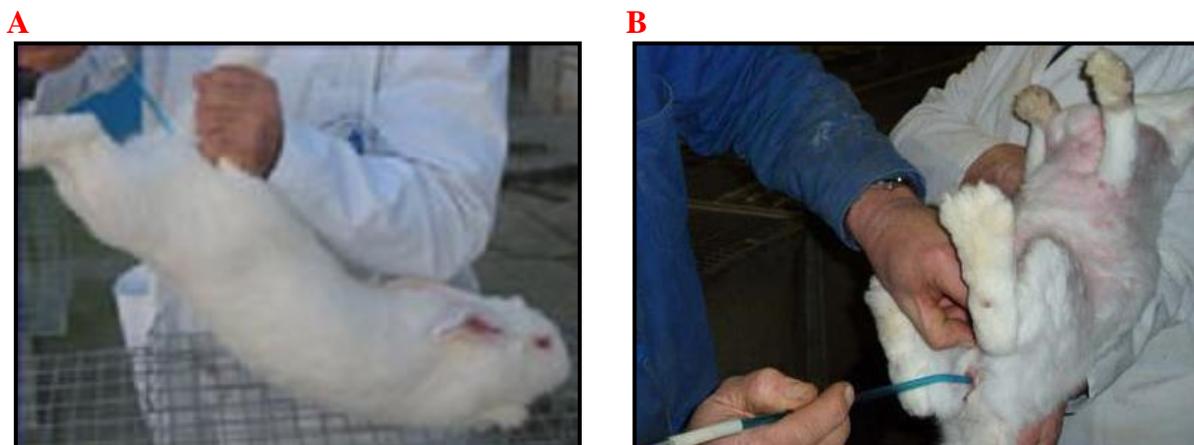
Les avantages sanitaires du prélèvement de semence à la ferme sont liés à la diminution du nombre de lapins dans les élevages, ce qui réduit d'autant le risque d'introduction des maladies vénériennes (Haskouri, 2001). De plus la suppression des contacts rapprochés entre les lapins et les lapines, la possibilité de contrôles de la semence, l'utilisation de matériel à usage unique, le nettoyage désinfectons des vulves des lapines avant l'IA et l'addition d'antibiotiques permettent de limiter la diffusion des pathologies (Le Roux, 2002).

### **II.6.2. Technique de l'insémination artificielle**

L'IA de la lapine est réalisée verticalement par un seul opérateur ou horizontalement par 2 opérateurs (Figure 11). En parallèle, le GnRH ou son analogue est injecté par voie intramusculaire pour provoquer l'ovulation (Fromantet Tanguy, 2001).

La Dose jusqu'ici conseillée est de 0,2 ml (Meunier *et al.*, 1982 ; Brun *et al.*, 2013). L'injection de GnRH provoque quasi systématiquement la ponte ovulaire et donc l'apparition

des corps jaunes. Lorsque la fécondation n'a pas lieu ou qu'elle n'aboutit pas à la formation d'un embryon, les corps jaunes persistent malgré tout, entraînant l'état de pseudogestation. (Boussit, 1989).



**Figure 11 : A :** Le déroulement de l'IA de la lapine par un seul opérateur.  
**B :** Le déroulement de l'IA de la lapine par 2 opérateurs (Davaoust, 2010).

Des "biostimulations" (Manipulation des animaux, Séparation ponctuelle de la mère et sa portée, Programmes alimentaires, Programmes lumineux, Proximité des mâles) peuvent être proposées. (Theau-Clément, 2005).

Les inséminations sont réalisées, au plus tard 6h après les collectes. Seuls les éjaculats non contaminés d'urine, de volume supérieur à 0,4ml et de motilité supérieure à 5 sont dilués 20 fois dans du Galap (IMV Technologies France) et conservés pour les IA. La semence de chaque mâle est conditionnée en paillettes de 0,5ml et stockée à température ambiante. La réceptivité des lapines est testée avant le chantier des insémination (présentation à un mâle) afin d'attribuer à chaque mâle des lapines de différents états physiologiques (allaitante ou non allaitante, réceptive ou non réceptive). (Theau-clement et al., 2011).

#### II.6.2.1. La mise en place de la semence

La semence peut être contrôlée avant d'être mise en place et conditionnée en paillettes de 0,5 ml ou dans des flacons de 20 à 100 doses de 0,5 ml (Lebas, 1996). Elle est injectée dans le vagin des femelles avec une seringue hypodermique ou avec un tube dans lequel l'opérateur souffle.

Classiquement, pour déclencher l'ovulation, une injection de 20-50 UI de HCG ou de 20 à 25 UI eCG (ancien nom PMSG, extraite de sérum de jument gravide) en intraveineuse est faite à la marge de l'oreille au moment de la mise en place ou une injection IM de GnRH (FAO, 1998) : 20 µg de gonadoréline ou 0,8 µg de buséréline (Lebas, 1996) ou encore 10 à 20

mg de LH (Montaillé, 1992). Vaissaire.(1977) préconise l'injection de 20 UI de HCG en intraveineuse 8h avant la mise en place.

Un opérateur tient la lapine, l'autre place une canule coudée au niveau de la vulve, l'introduit dans le vagin en la dirigeant vers le haut pour éviter de pénétrer dans la vessie puis pivote pour atteindre le fond du vagin à l'entrée des 2 cols utérins. Le sperme y est déposé (Vaissaire, 1977). L'eCG peut être injecté 48h avant l'insémination, ce qui augmente la fertilité sauf chez les nullipares (Theau-Clément, 2008). Il est possible de réduire la dose de eCG de 25 UI à 8 UI en l'injectant 48h avant l'insémination en rythme de reproduction intensif avec insémination 4 jours après la mise bas (Theau-Clément et al., 2008).

Il est possible, pour faire une seule manipulation, d'inclure le GnRH dans la dose de semence et de l'inséminer dans le vagin en même temps. Les résultats obtenus par (Quintela et al., 2004) ont été comparables à l'injection IM. Par contre, dans 3 fermes commerciales, avec 10µg d'acétate de buséréline et 12 millions de spz/ml, (Mocé et al., 2009) ont obtenu un taux de mise bas un peu plus faible (83,4% au lieu de 85,8%) avec des tailles de portée comparables (9,6 au lieu de 10,4). L'injection de prostaglandines, qui lisent les corps jaunes, 2 à 3 jours avant l'insémination permet de synchroniser les œstrus et d'améliorer les performances probablement en empêchant les pseudo-gestations (Theau-Clément, 2008).

## *Chapitre III*

# *Facteurs de réussite de l'insémination artificielle chez le lapin*

Le développement de l'IA s'est accompagné d'une meilleure connaissance des facteurs de succès de l'insémination liés à la femelle et au mâle. En effet, les deux sexes contribuent à la fertilité, que ce soit en IA ou en saillie naturelle (Brun *et al.*, 2013).

### **III.1. Facteurs liés au mâle**

La variabilité importante des caractéristiques de l'éjaculat entre et intra mâles est soulignée par plusieurs auteurs (Battaglini *et al.*, 1992 ; Roca *et al.*, 1993 ; Theau-Clément, 1994 ; Bencheikh, 1995 ; Castellini, 2008). Cette importante variabilité entraîne une diminution de la répétabilité et de l'héritabilité des caractéristiques de la semence et rend l'amélioration génétique de ces dernières difficile à réaliser (Castellini, 1996 ; Castellini, 2008).

Nous distinguerons successivement les facteurs liés à l'animal proprement dit puis, ceux liés à la semence.

#### **III.1.1. Facteurs liés à l'animal**

Le comportement des mâles à la saillie peut être perturbé d'une part au niveau physique par des problèmes physio-pathologiques ou environnementaux, au niveau « mental » d'autre part (Boussit, 1989).

##### **III.1.1.1. Le logement des mâles**

L'utilisation des cages d'engraissement en remontant les fonds des cages, ce qui permet de récolter les mâles au niveau des coudes de l'opérateur dans un premier temps. Dans un deuxième temps, l'assemblé des cages de manière à avoir une ouverture frontale. Il faut veiller à éviter les maux de pattes qui entraînent des refus de saillie en utilisant des systèmes amovibles qui peuvent être nettoyés fréquemment. (Boussit, 1989).

##### **III.1.1.2. Les conditions d'élevage**

Les facteurs d'élevage ne permettent pas toujours d'expliquer le comportement des mâles. Il semblerait que d'autres éléments puissent jouer sur l'ardeur sexuelle et la sensibilité du lapin : influence de la lune, électromagnétisme...autant de facteurs difficilement mesurables mais dont il faudrait peut être tenir compte pour expliquer les résultats. (Boussit, 1989).

##### **III.1.1.3. Le facteur génétique**

La qualité et la quantité de la semence produite par les mâles, varie en fonction de leur origine génétique (Alvarino, 2000 ; Theau-Clément *et al.*, 2003 ; Lebas, 2009). (Tableau 2). Ainsi, une variabilité élevée de la qualité et de la quantité de la semence entre les lapins de

quatre races étudiées (Néo-Zélandais Blanc, Californien, Fauve de bourgogne et Carmagnola gris) est révélée par [Crimella et al. \(1992\)](#).

En revanche des performances identiques caractérisent la qualité du sperme des lapins de la souche INRA 1601 et 2066, à l'exception du volume et du taux des spz motiles ([Brun et al., 2002a](#)). De plus, en comparant la semence de 3 races élevées au Mexique (Californienne, Néozélandaise et Chinchilla), [Salcedo-Baca et al. \(2004\)](#) montrent des différences de qualité concernant seulement le volume et la motilité.

**Tableau 2:** caractéristiques de la semence du lapin.

Génotype/population	Caractéristiques				
	pH	V (ml)	MM	MI	Con (x 10 <sup>6</sup> )
Newzealand <a href="#">Crimella et al. (1992)</a>	7,52	0,66	1,84	-	-
Californien <a href="#">Crimella et al. (1992)</a>	7,37	0,65	1,87	-	-
Burgandy <a href="#">Crimella et al. (1992)</a>	7,45	0,78	1,73	-	-
Carmagnola <a href="#">Crimella et al. (1992)</a>	7,33	0,67	1,52	-	-
NZ (f) <a href="#">Virag et al. (1992)</a>	-	1,12	-	47,63%	3,26 (1-5)
NZ (g) <a href="#">Virag et al. (1992)</a>	-	0,89	-	50,89%	2,32(1-5)
NZ (h) <a href="#">Virag et al. (1992)</a>	-	0,88	-	56,71%	2,78(1-5)
Californien (k) <a href="#">Virag et al. (1992)</a>	-	1,29	-	52,85%	2,97(1-5)
NZ INRA-A1077 <a href="#">Bencheikh, (1993)</a>	6,9	0,71	7,37(1-9)	3,88(1-4)	574
CAL INRA A1066 A2066 <a href="#">Bencheikh, (1993)</a>	7,04	0,59	6,68(1-9)	3,64(1-4)	394
Black & Tan <a href="#">Al.varino, (2000)</a>	-	0,68	-	54%	97,6
NZ white <a href="#">Al.varino, (2000)</a>	-	0,97	-	66%	309,6
NZ red <a href="#">Al.varino, (2000)</a>	-	0,83	-	49%	221,7
German pied giant <a href="#">Al.varino, (2000)</a>	-	1,51	-	71%	502,5
NZ Ligné V Lignée V <a href="#">Vicente et al. (2000)</a>	-	0,9	-	81%	338
NZ Ligné A Lignée A <a href="#">Vicente et al. (2000)</a>	-	0,9	-	82%	257
NZ Ligné H Lignée H <a href="#">Vicente et al. (2000)</a>	-	0,9	-	80%	381
NZ Ligné R Lignée R <a href="#">Vicente et al. (2000)</a>	-	0,6	-	73%	230
1601(A) <a href="#">Brun et al. (2002)</a>	7,23	0,68	32,5%	72,1%	441
2066 (B) <a href="#">Brun et al. (2002)</a>	7,38	0,67	23,9%	66,6%	412
(AB) <a href="#">Brun et al. (2002)</a>	7,25	0,61	25,9%	69,5%	524
(BA) <a href="#">Brun et al. (2002)</a>	7,19	0,71	51,5%	75%	554
Lignée C <a href="#">García-Thomás et al. (2006b)</a>	7,8	-	3,2(1-5)	3,2(0-5)	-
CR <a href="#">García-Thomás et al. (2006b)</a>	7,8	-	3,2(1-5)	3,2(0-5)	-
RC <a href="#">García-Thomás et al. (2006b)</a>	7,8	-	3,3(1-5)	3,1(0-5)	-
Lignée R <a href="#">García-Thomás et al. (2006b)</a>	7,4	-	2,9(1-5)	3,3(0-5)	-
Ligné L <a href="#">Brun et al. (2006)</a>	6,94	0,6	6,78	76,3%	634
Lignée H <a href="#">Brun et al. (2006)</a>	6,93	0,46	6,46	75,8%	738
Rex <a href="#">Hassanien et al. (2011)</a>	-	0,54	-	51,91%	415,1
New zealand <a href="#">Hassanien et al. (2011)</a>	-	0,57	-	54,55%	416,7
Californien <a href="#">Hassanien et al. (2011)</a>	-	0,62	-	59,89%	454,1
Baladi Egypte red <a href="#">Hassanien et al. (2011)</a>	-	0,56	-	55,41%	423,3
Pop Local DZ <a href="#">Boulbina, (2011)</a>	-	0,86	7,68 (1-9)	-	734,9
Pop Locale DZ <a href="#">Nabi, (2013)</a>	-	0,68	5,1 (59%)	-	428,9
Pop Locale DZ <a href="#">Nabi, (2017)</a>	-	0,42	6,7 (78%)	2,95	468,9

[Bencheick.\(1993\)](#) a bien démontré que les mâles de la lignée 2066 ayant pour origine la race Californienne, ont une production de semence de moins bonne qualité n'apparente que ceux de la lignée 1077 ayant pour origine la race Néo-Zélandais Blanc, pourtant élevés dans

des conditions identiques. Par contre, l'utilisation de la semence de ces 2 lignées en IA après dilution au 1/10 a donné des résultats tout à fait similaires.

Si intra-souche, les caractéristiques de la semence sont généralement bien corrélées avec les résultats de la reproduction obtenue par saillie naturelle, et surtout en IA, il ne faut jamais "condamner" une souche pour "défaut qualitatif de la semence" sans avoir effectué au préalable un test de reproduction. (Lebas, 2002).

Selon Brun *et al.* (2006), la sélection pour un poids corporel et une vitesse de croissance élevés diminue le nombre de spz utiles par éjaculat (-26%).

L'effet hétérosis améliore significativement la concentration en spz du sperme (37% de la moyenne parentale), la motilité massale (6,8%) et le pourcentage de spz mobiles (4,1%) (Brun *et al.*, 2002a). Cependant, Garcia-Tomas *et al.* (2006b) indiquent que l'utilisation des mâles croisés ne fournit pas un avantage majeur par rapport à l'utilisation des mâles purs.

#### III.1.1.4. L'âge

L'âge minimum à la première récolte, en vue de la fécondation est de 5 mois pour une race commune. Cependant en IA, il est vivement recommandé d'entraîner l'animal au vagin artificiel, au moins un mois avant l'utilisation de la semence. (Boussit, 1989).

Le sperme des mâles adultes par rapport à celui des jeunes (37-43 semaines) présente un volume, une concentration et un nombre de spz totaux et motiles plus élevés (Alvarino, 1993 ; Theau-Clément *et al.*, 2009).

Selon García *et al.* (2004), les mâles peuvent être considérés comme immatures jusqu'à l'âge de 9 mois, car la production et la qualité de la semence sont faibles. La période entre 10 et 18 mois représente le meilleur moment d'utilisation des mâles pour l'IA et au-delà (19 - 25 mois), une nette diminution de la concentration et du volume avec une augmentation du taux des anomalies spermatiques sont observées.

Certains auteurs ont montré que la structure de la chromatine des spz de lapins âgés entre 5 et 28 mois est significativement changée. Les plus faibles pourcentages de spz avec une chromatine endommagée (de 1,7 à 2,4%) ont été trouvés entre 6 et 16 mois d'âge et les plus élevés ont été trouvée dans les éjaculats prises des mâles de moins de 5 mois et plus de 20 mois d'âge (Gogol *et al.*, 2002).

### **III.1.1.5. L'état de santé**

L'inflammation de l'appareil reproducteur mâle affecte les différentes fonctions testiculaires et les caractéristiques séminales en altérant la biosynthèse des eicosanoïdes pro-inflammatoires et des cytokines. La concentration élevée des leucocytes induite par une infection au cours de la spermatogénèse réduit fortement l'intégrité de l'acrosome en augmentant la production des radicaux libres (Castellini, 2008).

Selon Boussit. (1989), les facteurs pouvant affectés les facultés de reproduction chez le mâle, sont les suivants:

#### **a). La stérilité du mâle**

Elle peut être congénitale à l'origine d'une déficience totale et bien souvent définitive ou acquise, Cette stérilité, qui n'est pas d'ordre génétique apparaît à un moment donné de la vie de l'animal, pouvant être momentanée ou définitive. Il s'agit principalement d'infections empêchant l'accouplement par lésion de l'appareil copulateur ou provoquant la stérilité proprement dite.

#### **b). Les maux de patte**

C'est une affection très fréquemment rencontrée en élevage sur grillage. Elle empêche toute saillie et elle est à l'origine de l'élimination d'un nombre élevé de reproducteurs. Il est à retenir que de manière générale, toute maladie même si elle n'est pas génitale atteint le métabolisme des animaux et détériore la réussite de la reproduction.

### **III.1.2. Facteurs liés à la semence**

#### **III.1.2.1. Les chocs de la semence**

##### **III.1.2.1.1. Les chocs mécaniques**

La manipulation du sperme doit lui assurer un maximum de protection contre différents types de stress, notamment au cours du transport des éjaculats vers le laboratoire et de la manipulation lors des observations. L'addition du dilueur à la semence devra être la moins brutale possible (Boussit, 1989). L'homogénéisation s'effectue lentement en retournant le tube bouché quatre ou cinq fois. Si le diluât fait de la mousse, la manipulation est trop brutale. (Boussit, 1989). Durant toutes ces opérations, le sperme doit être maintenu dans portoirs opaque afin d'éviter le risque potentiel lié aux rayons ultra-violets. (Boussit, 1989).

### III.1.2.1.2. Les chocs thermiques

Un choc thermique peut perturber de façon irréversible le métabolisme, entraînant la mort du spz. Les spz sont produits par les testicules avoisinant 36°C. Au moment de la récolte, la semence entre en contact avec le latex porté à 42°C. Il est donc nécessaire d'éviter les chocs thermiques entre la collecte et le traitement de la semence au laboratoire, ainsi que lors de la dilution, de la mise en paillettes et de l'insémination. (Boussit, 1989).

La semence est déposée dans les voies génitales à 36°C permettent la réactivation du métabolisme. Il peut être intéressant d'utiliser une enceinte isolante voire calorifugée et thermostatée pour le transport et la manutention des paillettes. (Boussit, 1989).

### III.1.2.1.3. Les chocs chimiques

Sur le plan chimique, la nature du dilueur est primordiale pour fournir aux spz un milieu adéquat à leur survie. Les minéraux qui le composent et leur taux d'incorporation doivent être soigneusement étudiés. (Boussit, 1989).

Divers moyens de stérilisation sont envisageables de façon peu onéreuse. Le principe est basé dans la plupart des cas sur l'utilisation de pastilles dégageant du chlore très toxique pour les spz. Il est également possible de stériliser le matériel en le trempant dans un d'alcool à 90°C. (Boussit, 1989).

### III.1.2.2. La qualité de la semence

Alvarino. (1993) ; Arencibia et Rosario. (2009) indiquent que la concentration, la motilité et la viabilité spermatique diminuent à partir d'un pH de 7,2 et que toute variation de celui-ci par rapport à l'optimum cause une mauvaise qualité de la semence. Selon les mêmes auteurs, la mesure du pH doit être immédiate car le sperme s'acidifie rapidement suite à la formation d'acide lactique, résultant de l'utilisation des sucres par les spz.

Theauet Roustan. (1980) ont mis en évidence l'effet significatif de la motilité du sperme sur le taux de gestation.

### III.1.2.3. Taux de dilution

Theau et Roustan. (1982) ne mettent pas en évidence d'effet significatif du taux de dilution (quatre niveaux testés 10, 25, 50 et 100) sur le taux de gestation. Ils insistent par contre sur la diminution de la taille de portée avec l'augmentation de la dilution.

#### III.1.2.4. Dilution et conservation du sperme à basse température

La conservation de la semence à moyen et long terme présente des intérêts indubitables. Deux techniques répondent en partie ou en totalité à ses objectifs : la réfrigération et la congélation. La première permet une conservation de quelques heures à quelques jours, la seconde rend possible la dissociation totale de chantiers de collecte et d'insémination. (Boussit, 1989).

L'intérêt de conserver la semence de lapin pendant une période de 24-72h a fait l'objet de plusieurs essais durant ces dernières années, ainsi la possibilité de conserver la semence pendant cette période améliorerait l'organisation des centres de diffusion de semence de lapin. Une diminution de la température permet d'augmenter la durée de conservation tout en préservant la capacité fécondante du sperme. (Viudes De Castro et al., 1999).

De nombreux auteurs ont étudié l'effet de la conservation sur la motilité. Ils ont observé qu'une température de conservation comprise entre 15 et 19°C est la plus favorable à la survie des spz. De bons résultats de fertilité et de prolificité ont aussi été obtenus avec du sperme conservé pendant 24-72h avec des doses d'insémination comprenant un nombre important de spz (entre 26 et 48 x 10<sup>6</sup>). (Viudes De Castro et al., 1999).

##### III.1.2.4.1. La réfrigération

La conservation de la semence à température proche de 0°C (on retient fréquemment +5°C) ne permet pas d'arrêter le métabolisme des spz. Celui-ci est néanmoins diminué (Mann, 1964 ; O'shea et Wales, 1966). Il est donc indispensable de fournir un milieu nutritif d'où l'emploi d'un dilueur adapté.

La réfrigération ne doit pas être trop rapide pour éviter les chocs thermiques. Elle doit se dérouler en quelques heures. (Boussit, 1989).

Bamba et Cran. (1988) ont clairement mis en évidence l'effet du réchauffement rapide de la semence diluée de 5°C à 37°C. Ils n'observaient pas de variations significatives de la motilité. Par contre, ils notaient des changements morphologiques importants de l'acrosome, ce qui pouvait expliquer les baisses de fertilité enregistrées. Hahn et Remmers. (1974) proposent pour la conservation à 5°C la combinaison suivante : solution Tris + 25% de jaune d'œuf + 12,5% de DMSO (diméthylsulfoxyde). Avec des éjaculats de 0,5 ml minimum, contenant au moins 100 à 120 millions de spz/ml, la dilution de la semence avec cette solution et la conservation à 5°C n'auraient pas d'effet sur le taux de fertilité, jusqu'à deux jours après la récolte, selon les auteurs. Le terme de 48h est d'ailleurs confirmé par Koefoed-Johnsenet

Fulka. (1966) ainsi que par Facchin. (1988) qui utilise un dilueur composé de Tris-buffer additionné de 15% de jaune d'œuf et d'antibiotiques.

D'autres produits ont été proposés pour conserver la semence à une température proche de 0°C : adjonction d'EDTA (l'éthylène diaminotétra-acétate jouerait un rôle de stabilisateur du volume cellulaire (Bredderman et Foote, 1971), par ses propriétés chélatrices, il préviendrait la peroxydation des phospholipides membranaires (Shannon et Curson, 1972 ; Bronskaya et al., 1972).

#### III.1.2.4.2. La congélation

Une longue conservation implique que l'on « mette en sommeil » le métabolisme des spz. La technique utilisée doit permettre leur reviviscence après réchauffement. On constate cependant que certains problèmes apparaissent lors du refroidissement avec la formation de glace et lors du réchauffement. (Boussit, 1989).

Le glycérol permet aux spz de surmonter la phase critique liée à une solution saline trop concentrée en réduisant le choc osmotique. Cependant, les spz de lapin sont extrêmement sensibles au glycérol (Juscenko, 1960) d'où le recours à des taux faibles de celui-ci.

D'autres cryoprotecteurs sont utilisables seuls ou combinés tels que l'éthylène-glycol, le DMSO et/ou le propanediol. De multiples combinaisons ont pu être testées et de nombreux résultats semblent conforter le choix d'un mélange Tris-DMSO avec une faible quantité pour ce dernier. Deux méthodes peuvent être citées ici : celle de Stranzinger et al. (1971) et la méthode INRA mise au point par Andrieu et Courot. (1976).

- Prédilution à 35°C d'éjaculats mélangés, avec le milieu de Stranzinger et al. (1971) modifié (5 ml DMSO au lieu de 15 ml).
- Réfrigération à 5°C en quelques heures.
- Dilution finale dans le milieu de Nagase et Graham. (1964) modifié (1,3% de glycérol).
- Congélation dans des vapeurs d'azote liquide (-196°C) en 3 minutes.

Pour décongeler, Costantini. (1988) propose d'immerger les paillettes dans de l'eau à 35-37°C, pendant 15 à 20 secondes.

La cryoconservation de la semence est un outil efficace et sûr pour conserver les ressources génétiques animales et pour diffuser le progrès génétique ; cependant, cette technique n'est pas encore maîtrisée chez le lapin. (Salveti et al., 2005).

Salvetti *et al.* (2005) ont testés plusieurs milieux de congélation qui sont : Andrieu et Courot (1976) [eau, jaune d'oeuf (20%), DMSO (2,5%), glycérol (0,65%), lactose, D-Glucose, tampon Tris], Chen et Foote (1989) [eau, jaune d'oeuf (20%), acétamide (5%), lactose, glucose, raffinose], Mocé *et al.* (2003) [eau, DMSO (12,43%), saccharose, DGlucose, tampon Tris]. Tous les milieux ont été réalisés à partir de produits chimiques de Fisher Scientific SAS et de jaune d'oeufs BIO « Matines ». Les pH ont été ajustés à 6,8.

La congélation de la semence présente de nombreux intérêts dont la possibilité de conserver à très long terme les potentialités des spz en vue d'une utilisation ultérieure. Ainsi, la dissociation spatio-temporelle entre la collecte et l'utilisation de la semence, son fractionnement et sa dilution entraînerait une meilleure valorisation du travail de sélection et une diffusion plus efficace du progrès génétique par la voie mâle (Theau-Clément, 2001). Cité par Salvetti *et al.* (2005).

La mise en place de semence congelée chez le lapin a parfois donné des résultats prometteurs proches de ceux obtenus en fertilité et prolificité après insémination de semence fraîche (Andrieu et Courot, 1976 ; Chen et Foote, 1989 ; Mocé *et al.*, 2003). Cependant, ces résultats sont difficilement reproductibles avec une grande variabilité de réponse à la congélation entre les différentes populations, entre individus d'une même population et entre éjaculats d'un même individu (Salvetti, 2004).

## III.2. Facteurs extrinsèques

### III.2.1. La saison

De nombreux travaux ont décrit les variations saisonnières de l'activité sexuelle du lapin mâle dans la nature. Ainsi, l'activité de reproduction est importante pendant les jours croissants (de février à juillet généralement) et devient quasi nulle en automne. (Lebas, 2009).

La spermatogénèse du lapin montre une variation saisonnière liée à la photopériode et à la température externe. L'activité est maximale au printemps (de mars à juin) et minimale au début d'automne, et varie selon le climat de la région (Alvarino, 1993 ; Joly et Theau-Clément, 2000).

La stérilité temporaire des lapins mâles peut être due à la température ambiante élevée. La diminution de la capacité reproductive des lapins mâles, pendant la période estivale, est liée à Celle de l'ardeur sexuelle (Marai *et al.*, 2002a ; Nizza *et al.*, 2003 ; Safaa *et al.*, 2008). Par ailleurs, l'ardeur sexuelle des mâles est meilleure au printemps comparée à la période d'hiver (Rodriguez De-Lara *et al.*, 2008).

Plusieurs données rapportent que le volume de la semence récolté par éjaculat est plus important durant les saisons de printemps, d'hiver et d'automne, et le plus faible est enregistré en été (Théau-Clément *et al.*, 1991 ; Marai *et al.*, 2002a ; Safaa *et al.*, 2008 ; Théau-Clément *et al.*, 2009). Battaglini *et al.* (1992) signalent, lors d'une étude menée de juin à décembre, que le volume d'éjaculat collecté en juin (0,99 ml) est plus élevé que celui prélevé en novembre (0,64 ml). Roca *et al.* (2005) rapportent, par ailleurs, que le volume du sperme sans gel est significativement plus élevé en été comparativement à celui récolté durant les autres saisons. De même, Nizza *et al.* (2003) remarquent que le volume de sperme collecté est plus élevé en été qu'en hiver. La motilité des spz est faible en été, elle augmente progressivement et atteint un pic au printemps (Marai *et al.*, 2002a ; Roca *et al.*, 2005 ; Rodriguez De-Lara *et al.*, 2008 ; Safaa *et al.*, 2008 ; Théau-Clément *et al.*, 2009).

Les plus faibles concentrations en spz sont enregistrées en automne et en été (Virag *et al.*, 1992 ; Théau-Clément *et al.*, 2009). Des études menées dans les conditions d'élevage égyptiennes montrent que la concentration en spz du sperme du lapin de type Baladi Noir était plus élevée en hiver qu'en été (Safaa *et al.*, 2008). Les différentes études portant sur l'effet de la saison sur le pH du sperme révèlent une grande variabilité des données. Certains auteurs ne rapportent aucun effet de la saison sur ce paramètre (Battaglini *et al.*, 1992 ; Nizza *et al.*, 2003 ; Théau-Clément *et al.*, 2009). En revanche, Alvarino (1993) indique que l'augmentation du pH du sperme du lapin élevé en été (> 27°C) est à l'origine de la stérilité temporaire rencontrée durant cette période. Les anomalies spermatiques et le pourcentage de spz morts par éjaculat augmentent en été (Safaa *et al.*, 2008). Par ailleurs, le nombre total de spz vivants normaux et motiles par éjaculat est plus important au printemps par rapport à l'hiver (Rodriguez De-Lara *et al.*, 2008). Cependant, Nizza *et al.* (2003) et Virag *et al.* (1992) n'ont pas trouvé d'effet saison ni sur le pourcentage des anomalies ni sur le pourcentage des cellules vivantes. De même Roca *et al.* (2005) n'ont pas trouvé d'effet saison sur le taux d'intégrité membranaire des spz et de l'acrosome ni sur le taux d'anomalies.

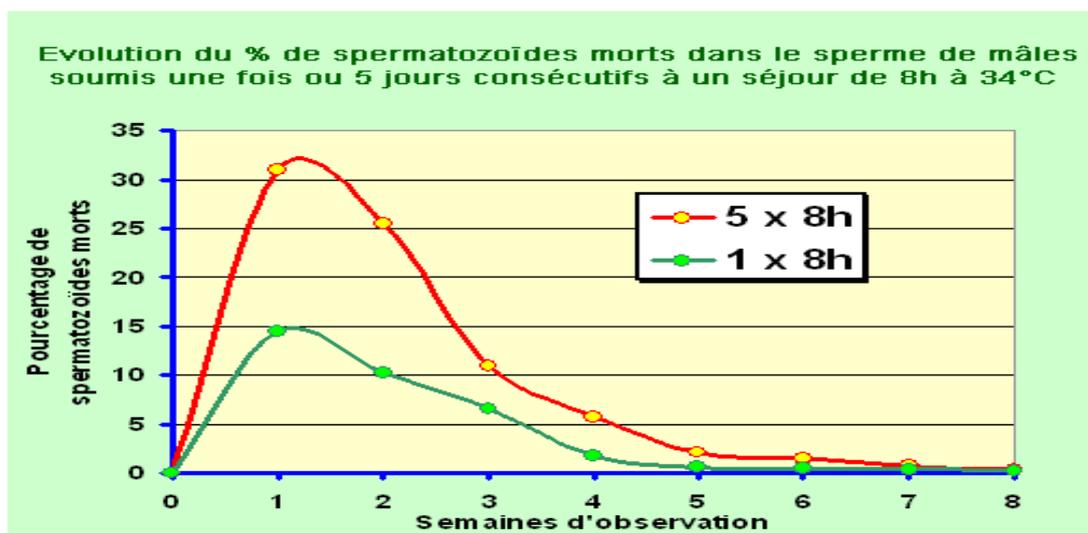
Selon Théau-Clément (1991) le volume, la motilité (d'ensemble ou individuelle) et le pourcentage de spz vivants sont significativement plus élevés en mars qu'en novembre. Il en résulte que les éjaculats récoltés en mars contiennent 2,5 fois plus de spz vivants que ceux récoltés en novembre ( $P < 0,01$ ). Par contre, ni l'ardeur sexuelle des mâles ni la concentration des éjaculats ne varient significativement selon la période de récolte. Il existe une interaction significative mâle x période pour toutes les variables étudiées sauf l'ardeur sexuelle.

Selon [Boulbina. \(2011\)](#), les lapins nés en hiver (entrée précoce et rapide en puberté) présentent une meilleure libido avec un volume d'éjaculat important mais caractérisé par un plus faible nombre de spz vivants par éjaculat et de plus nombreuses anomalies.

### III.2.2. La température

Les testicules peuvent remonter en position abdominale et redescendre. Cette particularité anatomique du lapin intervient dans la thermorégulation de la spermatogénèse, dans certaines limites bien entendu. [Boussit, \(1989\)](#). Les fortes chaleurs abaissent la libido des animaux. [Lebas et al., \(1980\)](#). [Yan et al. \(1985\)](#) constatent que la motilité et la concentration du sperme diminuent significativement lorsque la température passe de 28 à 30°C.

L'influence de températures élevées sur la spermatogénèse est confirmée par [Bagliaca et al., \(1987\)](#) qui montrent que l'effet dépressif de fortes températures (30°C) pendant une semaine, perdure bien après le rétablissement de conditions normales. Cela peut être dû à un dérèglement du métabolisme basal de la spermatogénèse suite à l'élévation de la température corporelle ([Chapel, 1971](#)). Au-dessus d'une température ambiante de 30°C, l'activité sexuelle du lapin est réduite suivie d'une chute de la spermiogénèse et de la qualité de la semence ([Finzi, 1990](#) ; [Lebas, 2009](#)). Ainsi, un stress thermique de 8h à 34°C appliqué 1 ou 5 jours consécutifs à des lapins, entraîne un accroissement très net du taux de spz morts et des cellules pyriformes probablement lié à l'accroissement de la température rectale ou surtout scrotale ([Kasa et Thwaites, 1992](#)). (Figure 12).



**Figure 12:** Influence d'un séjour de 8h à 34°C, pratiqué 1 j ou 5 j consécutifs sur le pourcentage de spz morts déterminé au cours des 8 semaines suivantes, d'après [Kasa et Thwaites.\(1992\)](#).

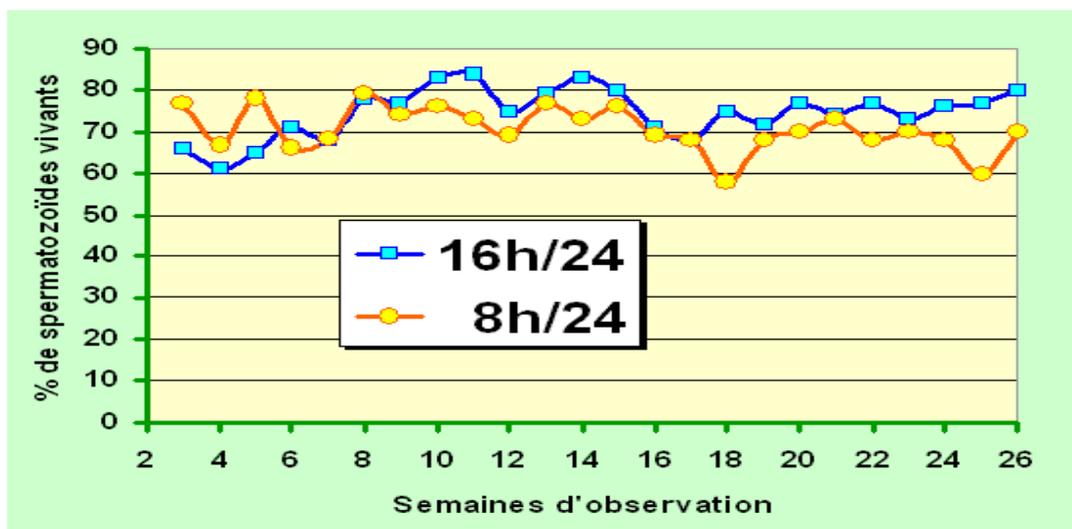
Par contre, l'effet de températures élevées appliquées pendant de plus longues périodes semble plus controversé. Certains auteurs mentionnent une baisse du volume des éjaculats et de la concentration spermatique chez les lapins laissés 5 semaines à 33°C (Oloufa et al., 1951 cités par Lebas, 2009), Alors que d'autres signalent que des lapins maintenus pendant 2 mois à raison de 21h/jour à 30°C ont une production spermatique (volume des éjaculats et concentration en spz) nettement plus élevée pendant la période à haute température, que durant la période à 20°C (Finzi et al., 1994). Les températures ambiantes élevées influent négativement sur le taux d'anomalies des spz du sperme récolté sur les lapins soumis au stress thermique (Finzi et al., 1995).

Les températures faibles (inférieures à 10°C, voire 0°C) ne semblent pas perturber les lapins dans leurs activités sexuelles (Lebas, 2009). Le comportement sexuel des mâles placés entre 8 et 12°C n'est pas modifié. Ces températures ne semblent pas affecter non plus les caractéristiques de semence. (Boussit, 1989). Alors que (Joly et Theau-clément, 2000) observent Pour des températures comprises entre 13°C et 26°C, peu de variations sur les caractéristiques de la semence. (Joly et Theau-clément, 2000).

### III.2.3. La lumière et la photopériode

Cooksey et Lasley. (1963) ont montré que la concentration en spz était minimum pour des photopériodes claires supérieures à 14h et maximum pour des photopériodes claires inférieures à 12h, à température constante. Une durée d'éclairement supérieure serait néfaste à la production spermatique et à l'ardeur sexuelle (Adams et Sinch, 1981). Theau-Clément et al. (1994) ont montré que par rapport à un éclairage de 16h/24h, un éclairage réduit à 8h/24h conduit à une production de semence plus faible en quantité et en qualité (Figure 13) ainsi qu'à une réduction de la libido des mâles.

Si un éclairage pendant 16h par jour est favorable à la qualité de la semence produite, une insolation directe, même limitée à quelques heures par jour, est défavorable. Ainsi, un travail conduit en Egypte en 1987 a permis de montrer qu'une insolation directe de 3h pendant 8 semaines consécutives au cours de la croissance (début de l'insolation à 5, 12 ou 20 semaines d'âge) altère significativement la taille des testicules et la fertilité des mâles contrôlés à l'âge de 30 ou 33 semaines.(Theau-Clément et al., 1994).



**Figure 13:** Pourcentage de spz vivants dans les éjaculats de lapins soumis à un éclairage de 8h ou de 16h de lumière par jour (Theau-Clément *et al.*, 1994).

D'autre part, l'exposition des mâles durant 6 mois à l'obscurité ( $\leq 5$  lx) améliore le volume et le taux de spz viables comparativement aux mâles exposés à la lumière naturelle. En revanche, l'exposition à l'obscurité retarde l'entrée en puberté des lapins, diminue le nombre d'éjaculats avec urine et augmente celui des éjaculats présentant des gels (Roca *et al.*, 1995b).

La concentration en spz est minimale chez des lapins exposés à des photopériodes supérieures à 14h d'éclairage comparativement aux lapins soumis à des photopériodes inférieures à 12h (Cooksey et Lasley, 1963 cités par Boussit, 1989). Par ailleurs, Walter *et al.* (1968) montrent que l'exposition à un éclairage constant de 8h/24 permet d'accroître le poids des testicules et les réserves spermatiques dans l'épididyme par rapport à des durées d'éclairage plus longues de 12h ou 16h sur 24.

#### III.2.4. L'altitude

L'exposition des lapins à des altitudes supérieures à 4500 mètres affecte non seulement la taille des testicules mais aussi celle des canaux déférents et de l'épididyme, par conséquent, la qualité de la semence se détériore suite à la diminution de la concentration en spz, à l'augmentation des formes anormales et à l'altération de l'activité métabolique des spz (Alvarino, 1993).

#### III.2.5. L'alimentation

L'alimentation des mâles est un facteur influençant les caractéristiques de la semence et la libido, particulièrement lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant (Joly et Theau-Clément, 2000).

Peu d'études ont porté sur l'effet de l'alimentation sur la fertilité du mâle. La spermatogénèse dépend du métabolisme de l'animal. Donc que tout effet contraire risque de pénaliser la reproduction. (Florin, 1988).

En effet, le mâle adulte est un animal à l'entretien, dont les besoins sont couverts par un aliment correspondant à peu près à 13% de matière protéique brutes, 16-17% de cellulose brute. En élevage rationnel, on utilise souvent un aliment riche et performant qui ne dépend pas à ces critères. Il faudrait donc rationner dans ce cas ou utiliser un aliment du type fermier (Florin, 1988).

Fengyaun *et al.* (1987) ont montré que le tourteau de coton contenant du gossypol pouvait entraîner la dégénérescence des épithéliums séminifères. Des carences en vitamine A peuvent provoquer des lésions de l'appareil génital et bloquer la spermatogénèse au niveau germinal (Chevrel et Cormier, 1948). Ces mêmes auteurs ont également montré que l'absence de vitamine E dans la ration entraînait l'atrophie des testicules et la formation d'œdème interstitiel.

Chury *et al.* (1970) ont mis en évidence un effet négatif de la distribution de luzerne (variété souche ville) à des mâles. Cet effet se manifestait par une dégénérescence des œufs fécondés. Ils n'observaient pas de modification apparente des tissus testiculaires ou de la cytologie du sperme.

Mais ces deux dernières hypothèses n'apparaissent que dans des cas extrêmes. Par contre, Rodrogoz-Chapeton et Pozzi. (1964) mettent en évidence l'effet inhibiteur de graisses rances sur la spermatogénèse, effet annulé par la présence de vitamine C dans la ration.

Le rationnement des lapins mâles à 75-80% de l'ad libitum réduit significativement le poids vif, la libido, le volume des éjaculats mais pas la concentration spermatique par millilitre et la qualité de la semence (Luzi *et al.*, 1996).

Les différentes études relatives à l'effet de la teneur protéique de l'aliment sur les caractéristiques de la semence recommandent un taux optimal de 14,5% (Luzi *et al.*, 1996 ; Nizza *et al.*, 2000a). Par ailleurs, les taux de lysine et de méthionine dans l'alimentation des lapins mâles influencent peu la libido et la qualité de la semence (Nizza *et al.*, 2000b).

Dans les spz des mammifères, les acides gras polyinsaturés n-3 et n-6 constituent la partie la plus importante des lipides. Ces acides gras polyinsaturés sont associés à la fluidité membranaire. Les animaux ne sont pas capables de synthétiser les acides gras polyinsaturés essentiels (C18 : 2n-6 ou C18 : 3n-3) ou les acides gras de longue chaîne ( $C \geq 20$ ) (Castellini,

2008). L'accroissement de la teneur en acide alpha-linolénique (5% graines de lin extrudées) et en vitamine E (+200 mg/kg) de l'alimentation des lapins mâles s'accompagne d'une amélioration de la qualité de la semence (Castellini *et al.*, 2004), particulièrement chez les lapins adultes (Castellini *et al.*, 2003).

La supplémentation en vitamines liposolubles de type A, D3, E d'un aliment standard couvrant les besoins des mâles ne permet pas d'améliorer la quantité et la qualité de la semence produite (nombre de spz, volume, concentration, anomalies morphologiques), ni le comportement sexuel du jeune mâle (Lavara *et al.*, 2000 ;Mocé *et al.*, 2000b). Par contre, l'association des vitamines C et E améliore le statut oxydatif des mâles et les caractéristiques de la semence (Castellini *et al.*, 1999 ; Lebas, 2009).

L'ajout de l'alpha tocophérol (200 mg/kg) dans l'aliment et d'acide ascorbique (1 g/l de boisson) augmente significativement la cinétique des spz sans aucun effet sur le taux de fertilité (Castellini *et al.*, 1999). En plus, cette supplémentation permet une meilleure résistance aux stress osmotique et oxydatif et par conséquent, une meilleure aptitude à la congélation de la semence (Castellini *et al.*, 2000). Une supplémentation en zinc est susceptible d'améliorer la spermatogenèse (El-Masry *et al.*, 1994). D'après Mocé *et al.*(2000b), le zinc est un oligo-élément qui influence directement la synthèse des hormones gonadotropes de l'axe hypothalamo-hypophysaire et stéroïdiennes. L'utilisation de fortes concentrations en sodium dans un régime alimentaire n'a pas d'influence sur les performances de reproduction des mâles, ni sur les caractéristiques biochimiques de leur semence (Rizzi *et al.*, 2004).

### III.2.6. Le rythme d'utilisation

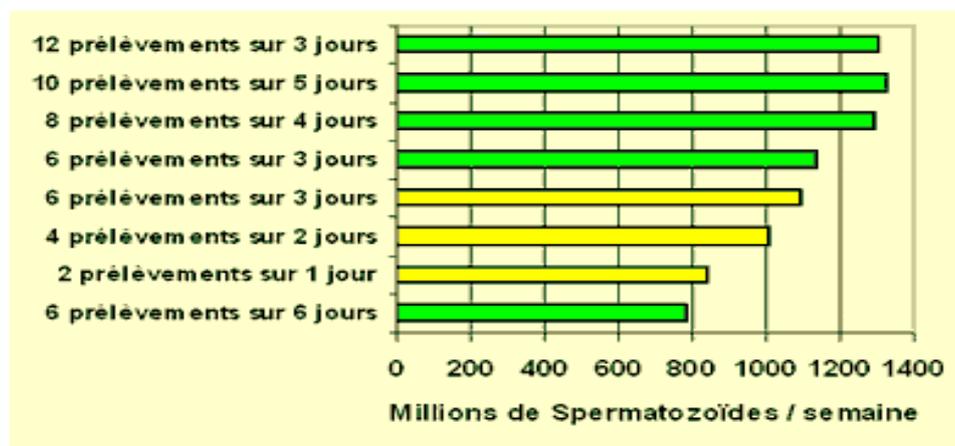
Quel que soit le rythme de récolte, le contenu de la tête et du corps de l'épididyme reste constant. Par contre, le contenu de la queue varie en fonction de la fréquence des éjaculats et le stock peut pratiquement s'épuiser (Amann *et Lambiasee*, 1969).

Amann. (1969) a testé trois rythme d'utilisation : un éjaculat toutes les 12h, un toutes les 24h et deux éjaculats tous les 2 jours (à 15 minutes d'intervalle). Il a montré que le volume et la concentration étaient inférieurs pour le 1<sup>ier</sup> rythme par rapport aux 2 autres. Par contre, il a montré que la production journalière mesurée par le nombre total de spz produits en 24h restait identique.

Lorsqu'ils ont appliqué un rythme très intensif, Oshio *et al.* (1987) ont montré qu'il faut 3 semaines pour retrouver les caractéristiques initiales de la semence.

Dans une expérience testant 2 lot de mâles soumis pendant 43 semaines à 2 rythmes de prélèvement soit hebdomadaire, soit quotidien, il a été montré que dans le 2<sup>ème</sup> cas la concentration du sperme diminuait jusqu'à 50%, le volume 49%, et la motilité des spz 9%. On pourrait donc pratiquer un rythme de collecte de 2 éjaculats successifs (à 15 minutes d'intervalle) tous les 2 jours, sans dégrader les caractéristiques (Kirton *et al.*, 1966).

Le nombre de prélèvements par jour peut varier de 1 à 4 (Bodnar *et al.*, 1996 ; Bunaciu *et al.*, 1996 ; Lopez *et al.*, 1996 ; Mocé *et al.*, 2000a). A partir du 3<sup>ème</sup> prélèvement, le volume, la concentration et le nombre des doses pour l'insémination diminuent (Lopez *et al.*, 1996). Le nombre de jours de collecte par semaine peut varier d'un jour de prélèvement (Bencheikh, 1995 ; Bunaciu *et al.*, 1996 ; Arroita *et al.*, 2000 ; Mocé *et al.*, 2000a) à des prélèvements journaliers (Bodnar *et al.*, 1996). Dans ce cas, le volume et la concentration spermatique sont altérés lorsque le rythme de collecte augmente (Bencheikh, 1995 ; Bodnar *et al.*, 1996 ; Bunaciu *et al.*, 1996 ; Arroita *et al.*, 2000) tandis que le nombre de spz prélevés par semaine est plus élevé dans les rythmes les plus intensifs (Bencheikh, 1995 ; Nizza *et al.*, 2003). (Figure 14).



**Figure 14:** Production hebdomadaire de spz en fonction du rythme de prélèvement (d'après Bunaciu *et al.*, 1996 ; barres vertes et Bencheikh, 1993 ; barres jaunes) (cités par Lebas, 2009).

Un rythme de prélèvement extensif améliore la motilité et le pourcentage de spz vivants (Bencheikh, 1995 ; Bodnar *et al.*, 1996).

En revanche, certaines études ne soulignent aucun effet du rythme de collecte sur la motilité, le pourcentage de spz vivants, le pourcentage d'anomalies de l'acrosome et le pourcentage d'anomalies spermatiques (Arroita *et al.*, 2000 ; Nizza *et al.*, 2001 ; Nizza *et al.*, 2003).

### III.2.7. L'ordre de collecte

Certains auteurs ne révèlent pas de différence de volume du sperme collecté lors de 2 prélèvements successifs (Nizza *et al.*, 2000a ; Mocé *et al.*, 2000a). En revanche, d'autres données indiquent que le volume de l'éjaculat collecté lors du 1<sup>ier</sup> prélèvement est significativement plus élevé que celui recueilli lors du 2<sup>ème</sup> prélèvement (Theau-Clément *et al.*, 1991 ; Bencheikh, 1995 ; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008). Par ailleurs, l'effet inverse est observé concernant la concentration en spz (Holtz et Foote, 1978 ; Panella et Castellini, 1990 ; Theau-Clément *et al.*, 1991 ; Bencheikh, 1995 ; Alvarino, 2000) (Tableau 3), la mobilité des spz (Abdel-Ghaffar *et al.*, 1994 ; Bencheikh, 1995 ; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008) et le nombre en spz vivants (Bencheikh, 1995 ; Abdel-Ghaffar *et al.*, 1994).

Le taux de spz normaux et l'intégrité de l'acrosome ne sont pas influencés par l'ordre de collecte (Mocé *et al.*, 2000a ; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008).

Selon Theau-Clément *et al.* (1991), l'ardeur sexuelle ne varie pas en fonction de l'ordre de l'éjaculat, par contre Rodríguez-De Lara *et al.* (2008) signalent que le temps de réaction est plus court pour le 1<sup>ier</sup> éjaculat (-1,1 seconde). De point de vue biochimique, le 2<sup>ème</sup> éjaculat présente une teneur en fructose plus faible que celui du 1<sup>ier</sup>, suggérant une utilisation plus importante de cet élément en relation avec l'élévation significative du nombre de spz mobiles et vivants (Abdel-Ghaffar *et al.*, 1994). Par ailleurs, le pH n'est pas différent entre les 2 éjaculats (Bencheikh, 1995).

**Tableau 3 :** Résume les principales caractéristiques de la semence des lapins pour le 1<sup>ier</sup> et le 2<sup>ème</sup> éjaculat, avec indication des amplitudes observées, d'après Alvarino. (2000).

Paramètres	1 <sup>ier</sup> éjaculat	2 <sup>ème</sup> éjaculat
- Volume en ml (sans le gel)	0,1 - 1,1	0,2 - 0,5
- Volume du "gel"	0,32 - 0,50	0,10 - 0,18
- Pourcentage des éjaculats avec "gel"	54	15
- Spermatozoïdes par ml (millions)	280 - 1050	420 - 800
- % de spz mobile	58 - 90	57 - 87
- Taux de motilité des spz (note de 0 à 5)	2,3 - 3,3	2,0 - 4,8
- Agglutination du sperme (note de 0 à 5)	1,2 - 2,0	0,8 - 1,6
- pH de la semence	7,7 - 8,4	7,7 - 8,4

### III.2.8. L'effet du préleveur

Theau-Clément *et al.* (2009) signalent que la motilité massale, le pourcentage de cellules motiles et la concentration en spz sont plus élevés dans les semences collectées par un préleveur comparativement à un autre.

La technique de collecte ne doit pas stresser l'animal. Aussi, il faut veiller à ne pas le bousculer, prendre certaines habitudes dès le départ et les conserver par la suite (Boussit, 1989).

### III.2.9. La stimulation des mâles

#### a). Les traitements hormonaux

Le volume du sperme récolté et les caractéristiques qualitatives de ce dernier sont améliorés après des traitements avec le GnRH (El-Gaafary, 1994) ou avec l'HCG (Yamani *et al.*, 1994) ou encore avec les prostaglandines (El-Gaafary *et al.*, 1991 cités par Alvarino, 2000). Ces hormones sont également administrées pour stimuler la sécrétion des stéroïdes et la spermatogénèse chez les jeunes mâles.

Ainsi, El-Gaafary *et al.* (1994) montrent que l'injection d'HCG, une fois par semaine, chez des jeunes mâles âgés entre 1,5 et 4 mois, augmente le poids corporel, le gain de poids, le poids des testicules, la production spermatique ainsi que la concentration plasmatique en testostérone. Par ailleurs, l'injection de 0,5 ml de la testostérone, 2 fois par semaine, à des lapins mâles âgés de 4 mois, améliore la qualité spermatique et augmente la fertilité pendant la saison d'été (Tawfeek *et al.*, 1994).

Biwejnjs-Klosowska *et Klosowski.*(1972) ont mis en évidence l'effet dépressif d'injections d'histamine sur les pourcentages de spz vivants et anormaux, alors que la concentration n'était pas touchée.

#### b). Les méthodes de biostimulation

Les biostimulations sont des méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones (Joly *et Theau-Clément*, 2000 ; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008).

Le déplacement et le regroupement du mâle en petits lots, pendant une courte durée, améliore le comportement sexuel et stimule probablement l'activité des glandes sexuelles en augmentant le volume des éjaculats. L'amélioration de la mobilité des spz est probablement liée à une modification de la composition du liquide séminal (Lopez *et al.*, 1996).

**Tableau 4:** Caractéristiques de la semence de mâles de deux lignées et Résultats des AI pratiquées avec ces semences, d'après [Bencheick.\(1993\)](#).

Paramètres	Lignées		Signification statistique
	1077	2066	
- Volume d'un éjaculat (ml)	0,71	0,59	P<0,01
- Motilité d'ensemble (note 0 - 9)	7,37	6,68	P<0,01
- Nb spz vivants / éjaculat	378 millions	329 millions	P<0,01
- Taux de spz vivants	83,4%	72,9%	P<0,01
- Nombre d'inséminations	288	242	-
- Taux de mise bas	51,8%	48,1%	NS
- Nés totaux par mise bas	7,71	7,92	NS

***PARTIE***  
***EXPERIMENTALE***

# *Chapitre IV*

## *Matériels & Méthodes*

## IV.1. Objectifs

Plusieurs travaux et activités de l'équipe de recherche CNEPRU ont été initiés au niveau du laboratoire de recherche « bio ressource naturelles » de l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef.

Cette thèse s'insère dans la thématique de recherche « Biotechnologies de la reproduction et perspectives d'application dans la filière cunicole visant comme objectif principal, l'étude des facteurs de réussite de l'insémination artificielle chez le lapin mâle.

## IV.2. Matériels

### IV.2.1. Matériels biologiques

25 lapins adultes dont 5 mâles et 20 femelles de la souche hybride synthétique ITELV 2006 ramenés de l'Institut technique d'élevage de Baba Ali d'Alger, se sont reproduits depuis leur mise en place le 7 février 2017, après une année d'élevage et de suivi de production, les lapins mâles âgés de 7,5 à 8 mois avec un poids moyen de 3,70kg, ont été utilisés pour les essais.

Les manipulations sont effectués en respectant le bien être de l'animal, excluant tout état de stress et de nervosité susceptible d'interférer avec les résultats.

Au cours des essais, des femelles adultes sont utilisées comme femelles boute-en-train pour stimuler les mâles au moment de la collecte spermatique.

### IV.2.2. Conditions d'élevage

L'élevage des animaux a été réalisé dans l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Hassiba Ben Bouali Chlef. (Figure 15) durant la période allant du janvier 2017 au juin 2019, dans un bâtiment construit en dur, dispose de 4 fenêtres assurant l'aération et l'éclairage naturel, et 2 extracteurs pour la ventilation. Un système de refroidissement est installé.



**Figure 15** : Intérieur du bâtiment d'élevage.

Les lapins mâles sont logés dans des batteries à engraissement en 2 étages, Chaque cage, conçue en grillage métallique, mesure 75 cm de longueur, sur 46 cm de largeur et 28 cm de l'hauteur. Toutes les cages sont munies chacune d'une mangeoire et d'un abreuvoir automatiques sous forme de tétines.

Les animaux étaient nourris d'un aliment commercial standard de type granulé, donné aux groupes témoins et expérimentaux à partir de 9h du matin. Il est composé de Mais, Tourteaux de soja, Issues de meunerie, Calcium, Phosphates, Acides aminés, Oligo-éléments, Polyvitamines, Antioxydant, Acides foliques, Huile de soja, Luzerne. L'eau est fournie *ad libitum*.

Faute de disponibilité de moyens et d'appareils pour la détermination de la composition chimique du granulé, les analyses sont réalisées au laboratoire central Baba Ali, institut technique des élevages, selon la technique d'analyse conventionnelle. (Tableau 5).

**Tableau 5:** Analyse de l'aliment standard (%).

Analyse	Résultat de l'échantillon	Norme de la méthode
Matière sèche %	91,42	NA 1291-1994
Matière minérales %	7,51	NA 650- 1994
Protéines brutes %	<b>14,5</b>	NA 652-1992
Cellulose brute%	<b>9,49</b>	NA 6138-1991
Matière grasse %	<b>3,38</b>	NA 654-1992
Calcium %	<b>0,89</b>	NA 653- 1992
Phosphore %	0,60	NA 657-1992

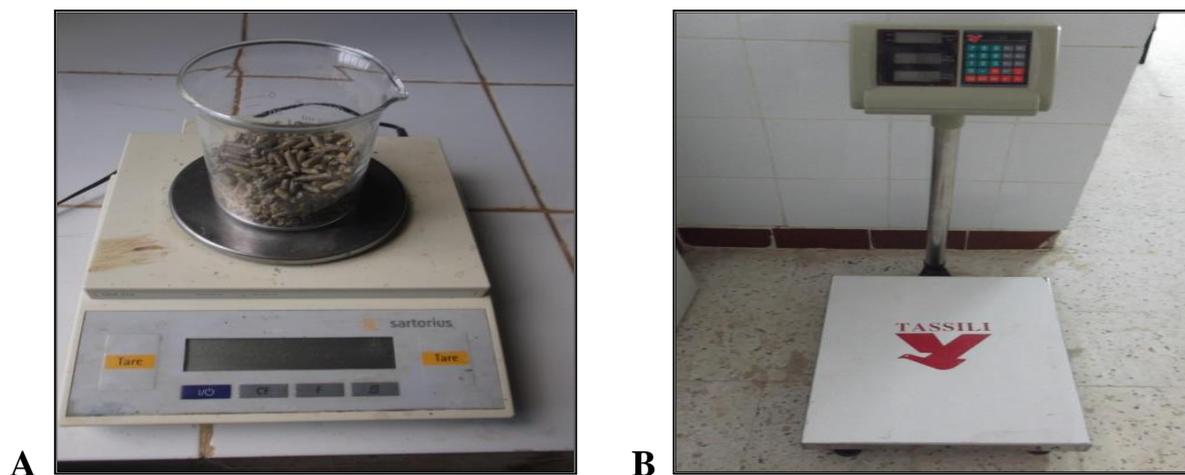
### IV.3. Méthodologie

Les différentes étapes expérimentales sont décrites dans le schéma de la figure 17.

Selon le type d'expérimentation, Des pesées journalières de la consommation alimentaire ont été effectuées. Les quantités ingérées sont mesurées à l'aide d'une balance électronique très sensible "Sartorius<sup>R</sup>" avant chaque distribution. Ainsi que les refus pour chaque animal. Le poids corporel des lapins utilisés a été mesuré à l'aide d'une balance électronique par pesées individuelles des lapins d'une manière hebdomadaire, pendant la matinée (9 heure généralement), avant la distribution des aliments (Figure 16). La collecte de la semence est effectuée avec deux éjaculats successifs séparés par 10 à 20 minutes et cela, entre 9 heures et 11heures du matin. La moyenne des deux éjaculats est considérée dans la présentation et l'interprétation des résultats. La récolte de 2 éjaculats consécutifs par jour de prélèvement et

le choix des fréquences de collecte ont d'abord été motivés par les connaissances bibliographiques. La collecte du sperme est effectuée à l'aide d'un vagin artificiel et en présence d'une femelle réceptive boute-en-train.

La libido des lapins a été déterminée à l'aide d'un chronomètre, d'après [Castellini et al. \(2006\)](#). et en comptant le temps écoulé en secondes entre l'introduction de la femelle et le premier chevauchement (T1), et celui entre l'introduction de la femelle et l'éjaculation (T2)



**Figure 16:** Matériel de pesée de l'aliment (A ) et de l'animal (B)

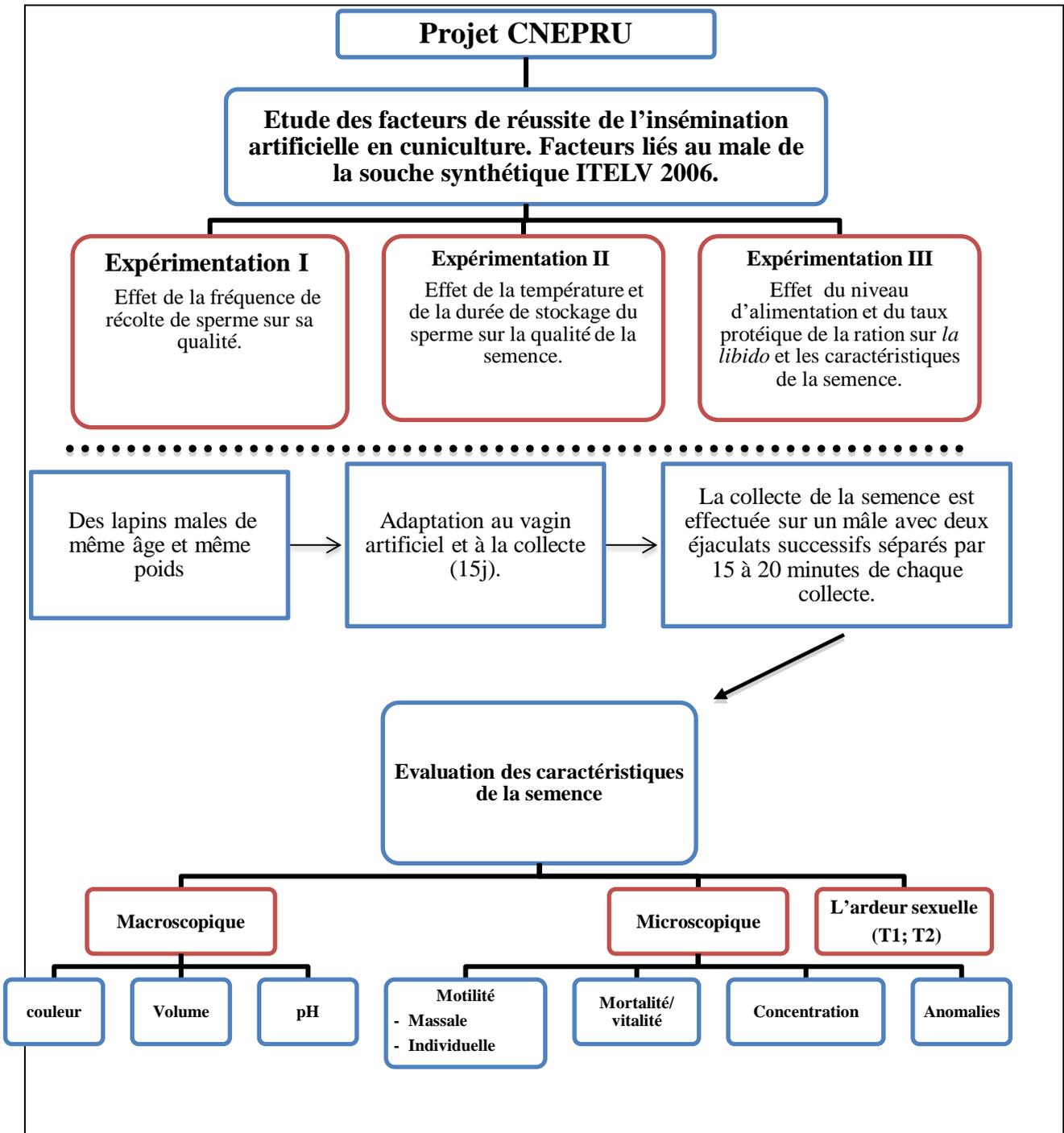


Figure 17: Le protocole expérimental.

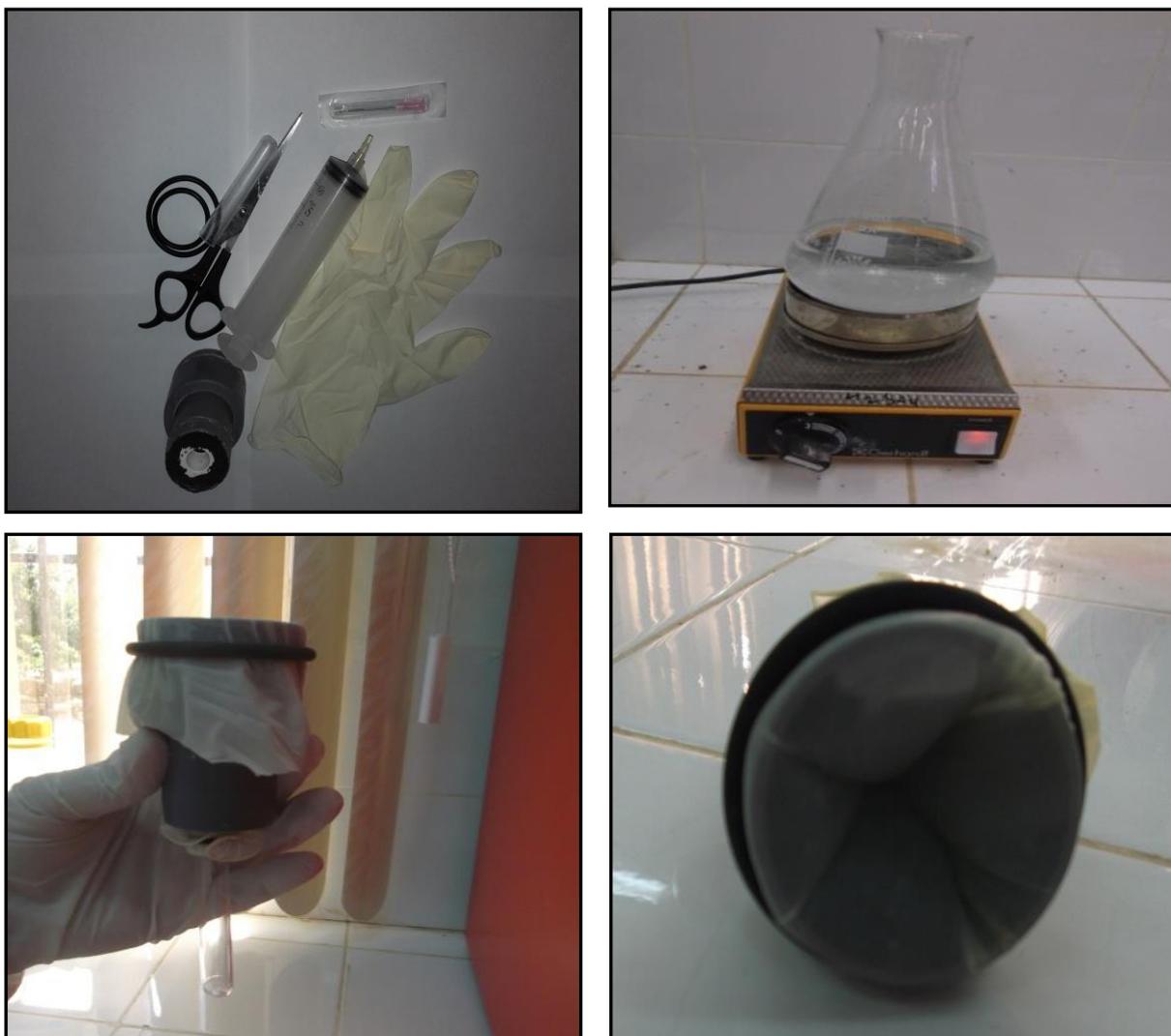
### IV.3.1. Récolte de la semence

#### IV.3.1.1. Préparation du matériel de collecte

Les mâles sont entraînés au prélèvement du sperme au moyen du vagin artificiel dès l'âge de 5 mois. Le refus de prélèvement est enregistré si le mâle n'a pu être récolté dans un délai de dix minutes de contact avec une première lapine ainsi qu'avec une seconde.

Le sperme est collecté à l'aide d'un vagin artificiel que nous avons confectionné en utilisant un tuyau en PVC, une gaine en latex, deux élastiques et un tube de collecte gradué. La gaine en latex est introduite à l'intérieur du tuyau, les bords inférieur et supérieur de la gaine sont fixés à l'aide des élastiques.

Afin de reconstituer les conditions naturelles de température et de pression du vagin chez la lapine, de l'eau chaude est introduite à travers un site d'injection placé sur le tuyau (Figure 18). Enfin, le tube de collecte est introduit à travers la gaine.



**Figure 18:** Préparation du vagin artificiel.

### **IV.3.1.2. Préparation des mâles et récolte spermatique**

La récolte a toujours lieu au même endroit, de manière à ce que le mâle y soit familiarisé en évitant tout stress susceptible d'influencer son ardeur sexuelle.

La stimulation est assurée par une femelle boute-en-train pour réaliser une bonne récolte.

Une fois le vagin artificiel est prêt à être utilisé, la lapine est introduite dans la cage du mâle. Quand ce dernier tend à la chevaucher, la femelle est immobilisée par le préleveur. La main libre tenant le vagin artificiel passe sous l'abdomen entre les deux membres postérieurs de la femelle, et oriente le vagin artificiel afin de faciliter l'intromission du pénis. Après l'éjaculation, le mâle tombe sur le côté et pousse, parfois, un cri caractéristique. L'ardeur sexuelle ou libido, mesurée à l'aide d'un chronomètre, est le temps écoulé entre l'introduction de la femelle dans la cage du mâle et l'éjaculation.

Un mâle qui refuse d'être collecté après 10 minutes de contact avec une première lapine ainsi qu'avec une seconde, est considéré comme un mâle qui répond négativement à cette sollicitation. Afin d'éviter l'effet du préleveur, les prélèvements sont effectués par le même opérateur.

### **IV.3.1.3. Méthodes d'analyse spermatique**

Une fois le sperme récolté, le tube de collecte identifié est maintenu dans le creux de la main jusqu'à son dépôt dans un portoir isolant, afin de le protéger de la lumière et des chocs thermiques. Les prélèvements sont placés dans un bain marie à 37°C, dans un délai ne dépassant pas les 15 minutes, pour procéder à l'évaluation.

L'évaluation macroscopique et microscopique est effectuée, par le même opérateur, sur les deux éjaculats successifs récoltés sur un même animal pendant toute la durée de l'expérimentation. (Figure 19).



Figure 19 : Matériel d'analyse de semence.

L'examen du sperme est effectué juste après la récolte. Une platine chauffante est utilisée pour maintenir la température au voisinage de la température corporelle lors des manipulations du sperme.

Le volume total de l'éjaculat recueilli est mesuré par lecture directe sur le tube gradué servant à la collecte. Si le sperme recueilli contient du gel, ce dernier est retiré à l'aide d'une pipette de Pasteur pour déterminer le volume sans gel (Figure 20).



Figure 20: Élimination du gel de la semence.

Le pH de la l'éjaculat est déterminé par un pH-mètre de type pH Spear (OAKTON ®)

La couleur du sperme est déterminée par observation de la semence dans le tube de collecte transparent, Une note de 0 à 3 est attribuée à l'échantillon selon la grille citée par [Roca et al. \(1993\)](#), (Tableau 6).

**Tableau 6:** Grille déterminant la couleur du sperme ([Roca et al., 1993](#)).

Note	Couleur
<b>0</b>	Sperme contaminé avec de l'urine (jaunâtre) ou le sang (rosâtre ou rougeâtre).
<b>1</b>	Sperme blanc aqueux
<b>2</b>	Sperme blanc laiteux
<b>3</b>	Sperme blanc nacré ou blanc ivoire.

L'évaluation de la motilité massale des spz est effectuée à partir de sperme pur, dans les dix minutes qui suivent la récolte et sous microscope optique au grossissement x10. Une microgoutte de sperme est déposée sur une lame et le mouvement global des spz est apprécié en fonction de l'intensité des vagues observables. Une note de 0 (pas de spz) à 9 (aspects de tourbillons) est attribuée à l'échantillon selon la grille de [Petitjean \(1965\)](#).

La motilité individuelle du spz est appréciée après dilution de la semence. Une goutte de sperme diluée dans 1cc de sérum physiologique tiède est placée entre lame et lamelle et observée au microscope optique avec un grossissement x 40. Après l'examen de 5 champs d'une même préparation, le type des mouvements des spz est noté en utilisant l'échelle d'[Andrieu \(1974\)](#) et allant de 0 à 4. La motilité individuelle correspond à la proportion de spz qui traverse le champ du microscope avec un mouvement rectiligne. Les spz bougeant sur place, tournant en petits cercles ou se déplaçant en arrière du fait d'une queue repliée ne sont pas considérés comme mobiles.

Le pourcentage de spz morts est déterminé par la préparation d'un frottis en utilisant la coloration vitale éosine-nigrosine. Une goutte de sperme diluée dans le sérum physiologique mélangée avec une goutte de colorant, à base d'éosine-nigrosine. le mélange est homogénéisé et laissé au repos pendant quelques secondes. Ce mélange est ensuite étalé délicatement sur une lame à l'aide d'une lamelle et séché à l'air libre. Sous un microscope optique au grossissement x 40, cent spz, à partir desquels est estimée la viabilité, sont comptés au hasard. Les spz colorés correspondent aux spz morts dont la membrane endommagée est perméable à

la coloration rose. Alors que les spz vivants avec leurs membranes fonctionnelles ne laissent pas diffuser le colorant et restent par conséquent incolores.

La même lame ayant servi au dénombrement des spz vivants est utilisée pour déceler les anomalies sur cent spz comptés au hasard.

La concentration (C) en spz (en millions/ml) est déterminée en utilisant un hématimètre de type cellule de Thoma. Cette mesure consiste à déterminer le nombre de spz par millilitre de semence pure à partir d'une goutte de sperme diluée avec une solution de formaldéhyde à 0,9%. Ces mesures nous ont permis de calculer, pour chaque éjaculat, le nombre de spz totaux (= concentration x volume) et vivants (= concentration x volume x pourcentage de spz vivants/100).

#### **IV.4. Conduite expérimentale**

Durant cette étude, nous avons effectué trois essais expérimentaux selon le calendrier suivant :

- L'effet de la fréquence des prélèvements sur la qualité de la semence du lapin de la souche synthétique : de mars à juillet 2018.
- La variation des caractéristiques qualitatives de la semence de lapin de ce génotype amélioré, en fonction de la température et de la durée de stockage, cet essai a été réalisé en parallèle avec le premier dans une période d'un mois (mars 2018).
- L'impact de l'alimentation, en particulier, une supplémentation protéique sur la libido et sur les caractéristiques de la semence : d'août à septembre 2018.

##### **IV.4.1. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITEL V 2006**

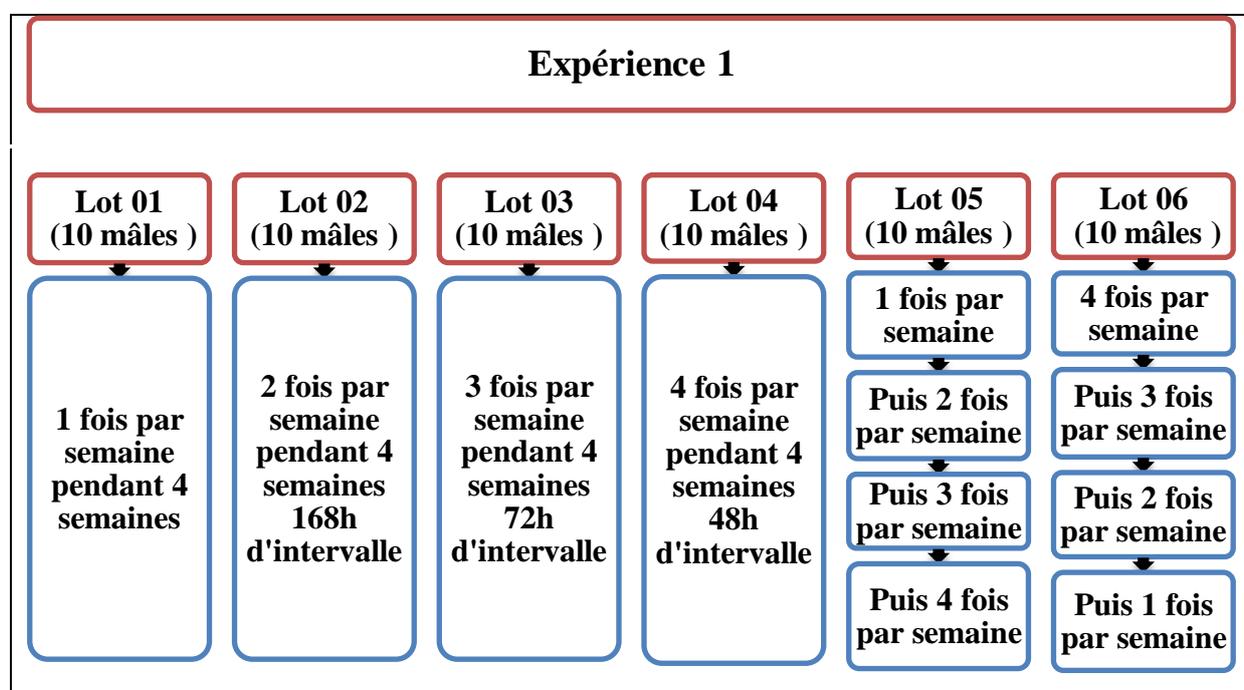
Le poids moyen des 60 lapins mâles (10 par modalité expérimentale), utilisés pour l'essai, était de  $3,70 \pm 0,13$  kg (figure 21). La fréquence de récolte pour chaque modalité est :

- Deux éjaculats successifs un seul jour par semaine (jeudi) : Pour le premier lot.
- Deux prélèvements successifs deux fois par semaine à trois à quatre jours d'intervalle (vendredi et mardi): Le deuxième lot. (Ces deux lots (1 et 2) ont été prélevés 4 semaines de suite dans le même mois pendant 30 jours (mars)).
- Deux éjaculats consécutifs trois fois par semaine, les dimanche, mardi et vendredi, de 48 à 72 h d'intervalle pendant un mois (avril) : Le troisième lot.

- Deux éjaculats consécutifs quatre fois par semaine les dimanche, mardi, mercredi et vendredi, soit de 24 à 48 h d'intervalle, pendant un mois (mai) : Le quatrième lot.
- Une fréquence ascendante durant un mois (juin) débutée par deux éjaculats successifs une fois pour la première semaine (dimanche) puis deux prélèvements successifs deux fois durant la deuxième semaine (dimanche et mercredi), ensuite 2 éjaculats consécutifs 3 fois pour la troisième semaine (dimanche, mardi et vendredi), et enfin 2 éjaculats consécutifs 4 fois pour la dernière semaine (dimanche, mardi, jeudi et samedi) : Le cinquième lot.
- Une fréquence descendante (pendant le mois juillet) en inversant le rythme du cinquième lot : Le sixième lot.

Durant l'expérimentation, toutes les mesures ont été faites au cours des 4 semaines directement après la récolte. Quand la majorité des prélèvements d'un mâle étaient contaminés, nous avons procédé à l'élimination de l'ensemble des données de ce mâle.

Nous avons exclu de l'analyse 2 mâles du lot 4 et un mâle du lot 3 suite à leur infection par une pododermatite. Les éjaculats contaminés et les absences de récolte ont été considérés comme des données manquantes. Les analyses ont porté finalement sur des effectifs de 9 et 8 mâles respectivement dans les lots 3 et 4, et 10 mâles dans les autres lots.



**Figure 21:** Protocole expérimental. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006

#### **IV.4.2. Effet de la température et de la durée de stockage du sperme sur la qualité de la semence du lapin de la souche ITELV 2006**

10 lapins mâles adultes de la souche ITELV 2006 âgés de 7,5 à 8 mois et ayant, au début de l'essai, un poids moyen de  $3,70 \pm 0,13$  kg ont été utilisées.

La collecte du sperme a été réalisée dans une période d'un mois (mars 2018) avec deux éjaculats successifs un seul jour par semaine. Un intervalle de 10 minutes séparait les deux prélèvements successifs.

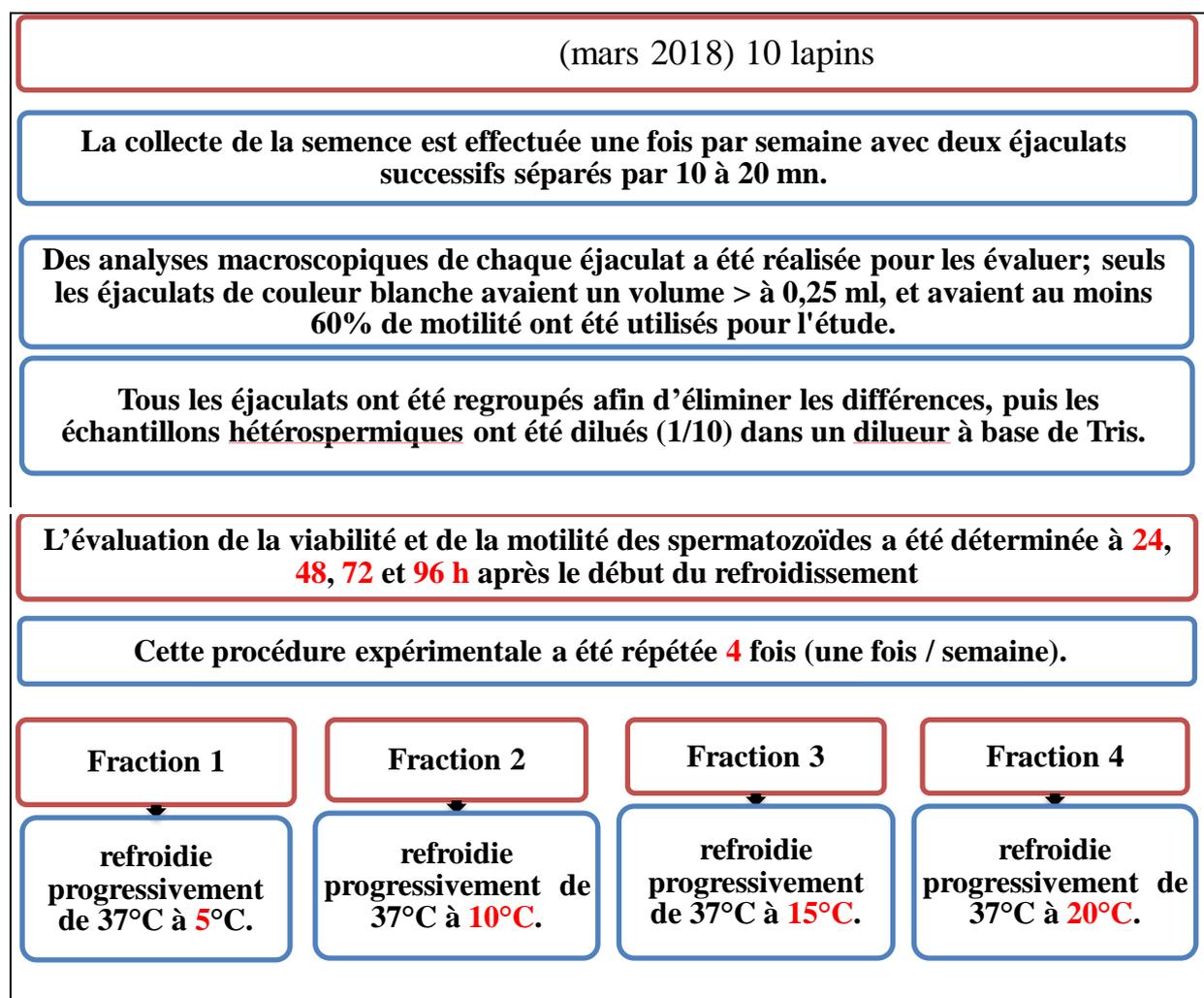
Le stockage a été effectué sur des échantillons préalablement analysés et mélangés (en hétérospermie). Ceux ayant une bonne motilité ont été choisis pour être stockés. En effet, Seuls les éjaculats qui présentent une  $Mm \geq 6/9$ ,  $Mi \geq 3/6$  (un pourcentage de motilité  $\geq 60\%$ ) sont admis à l'étape de conservation.

Avant la conservation, une dilution de 1/10 avec le dilueur à base de « Tris » a été faite, en fonction de la concentration en spz des échantillons choisis. Une nouvelle préparation du dilueur est faite la veille de chaque utilisation.

Ce dernier est composé de Tris (hydroxy-méthyl-aminométhane) (3,025g), d'acide citrique (1,7g), glucose (1,25g), Penicilline G (0,1g), di-hydrostreptomycine (0,1g), et Eau distillé pour compléter à 100ml (QS 100ml).

La dilution est effectuée, selon [Boussit \(1989\)](#), le plus rapidement possible après l'analyse, elle est achevée en générale dans un délai de 30 minutes après le choix des éjaculats. Le dilueur est préchauffé dans un bain marie et ajouté au mélange d'hétérosperme avec précaution. Les directives de la technique de dilution sont respectées. En effet, le dilueur est pris par une seringue, et ajouté en goutte à goutte sur la paroi du tube stérile.

Les échantillons de sperme dilués ont été divisés en quatre fractions égales. Chaque fraction a été refroidie progressivement de  $37^{\circ}\text{C}$  à 5, 10, 15 et  $20^{\circ}\text{C}$  durant 120 minutes puis conservé jusqu'à 96 h.



**Figure 22 :** Le protocole expérimental. Effet de la température et de la température de stockage du sperme sur la qualité de la semence du lapin de la souche ITELV 2006.

L'évaluation de la viabilité et de la motilité des spz a été déterminée à 24, 48, 72 et 96 h après le début du refroidissement. Cette procédure expérimentale a été répétée quatre fois (une fois par semaine). (Figure 22).

Dans l'expérience, toutes les mesures ont été faites au cours des 4 semaines directement après la récolte (0 h), à 24, à 48, à 72h et à 96h du début de la conservation.

#### IV.4.3. Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur *la libido* et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006

27 mâles utilisés dans l'étude ont été répartis en 3 lots homogènes (n=9), en fonction du régime alimentaire.

Le lot témoin (A), recevait, à volonté, un aliment standard commercial granulé avec un niveau protéique de 14,5% (Tableau 5).

Le lot (B) recevait 120 g/lapin/j du même aliment standard.

Le lot (C) recevait une ration de 120g de l'aliment standard supplémentée par l'ajout quotidien de 6,6 g de peptone de viande (Figure 23) , de manière à obtenir un aliment à 19,7% de protéines brutes. Pour le lot C, l'aliment granulé a été humidifié pour permettre une solubilisation de la peptone de viande qui est saupoudrée et mêlée à l'aliment afin d'obtenir un mélange homogène prêt à être distribué aux animaux.

Le choix de la peptone de viande comme source pour augmenter la teneur en protéines de l'aliment standard est justifié par l'absence, au niveau des unités de fabrication locales d'un aliment pour lapin de formule alimentaire contenant le taux protéique nécessaire pour l'expérimentation, les autres farines d'origine animale étant absentes dans l'alimentation en Algérie, depuis la crise de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). La peptone utilisée était une "*Peptone from meat, peptic digest for microbiology*" de marque Sigma-Aldrich (lot N° BCBM5829V). Selon le fournisseur, cette peptone contenait 93,8% de protéines brutes (N x 6.25) et 6% de cendres (Tableau 7).

Les quantités d'aliment consommées et refusées ont été pesées quotidiennement. L'évolution du poids individuel a été suivie par pesée hebdomadaire des animaux la matinée, avant la distribution des aliments. La libido des lapins a été mesurée à l'aide d'un chronomètre.

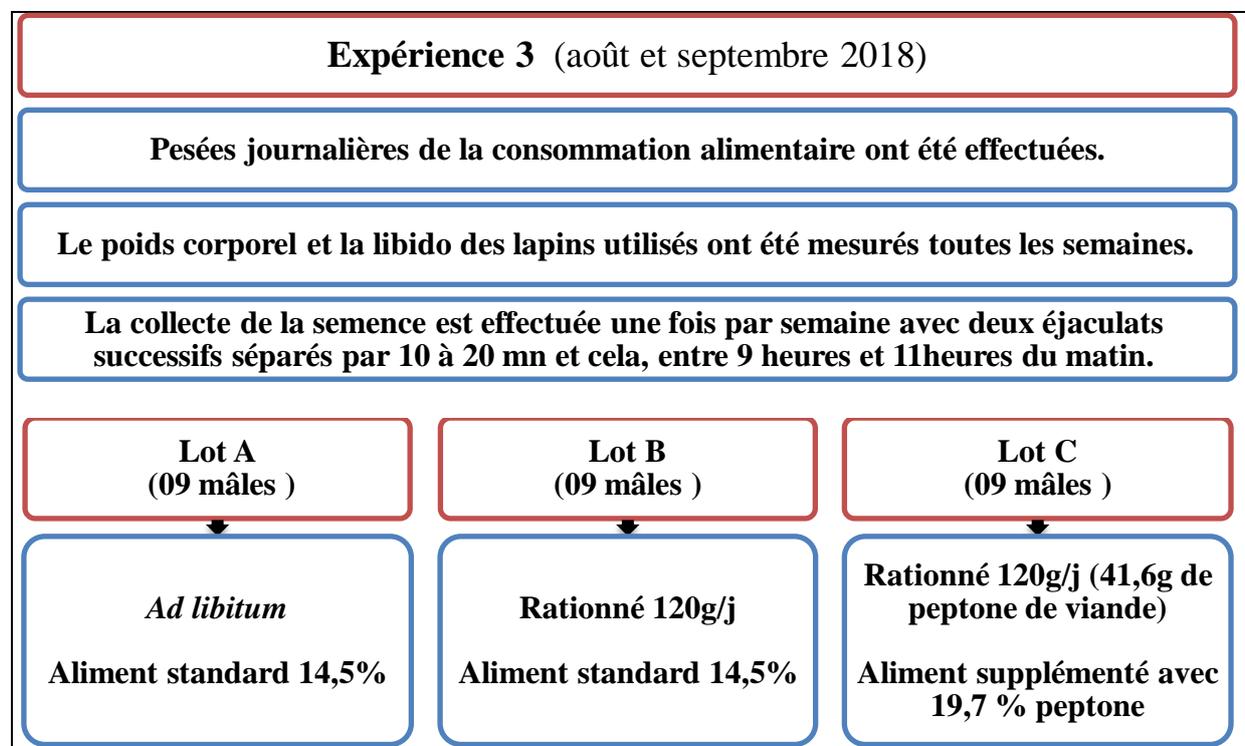


**Figure 23** : La peptone de viande utilisée pour la supplémentation.

**Tableau 7 :** Certificat d'analyse de Peptone de viande.

Test	Spécification	Résultat
Apparence (couleur).	Faint jaune et faigue beige et marron faint.	Faint beige.
Apparence (forme)	Poudre	Poudre
Perte au séchage.	≤ 6%	4%
Résidus sur l'allumage.	≤ 12%	6%
Teneur en azote.	≥ 10%	15,0%
Amino-N	≥ 4%	4,1%
Solubilité (couleur).	Jaune et brun clair.	Jaune clair.
Solubilité (turbidité).	Clair (visuel).	Clair.
pH	6,5 - 7,5 (2% dans l'eau, à 25°C)	7,2
Solubilité (méthode).	-	2% dans l'eau.

Sur une période de 2 mois (août et septembre), les lapins des 3 lots étaient prélevés une fois par semaine (tous les dimanches pour le lot A, les lundis pour le lot B et les mardis pour le lot C), à l'aide d'un vagin artificiel et en présence de la femelle boute-en-train avec deux éjaculats successifs séparés de 10 minutes. (Figure 24).



**Figure 24:** Protocole expérimental. Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur *la libido* et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006

#### IV.5. Analyse statistique

Pour l'expérimentation 1, l'analyse statistique des données obtenues a été faite par un logiciel XLstat 2016 pour les calculs concernant d'abord les statistiques de position et de dispersion. Les caractéristiques de l'éjaculat ont ensuite été étudiées au moyen d'un modèle d'analyse de variance à effets fixes incluant les effets du rythme de récolte, de l'ordre de l'éjaculat, de la période de temps, et leurs interactions. On a utilisé le *test de Student* pour la comparaison de 2 moyennes observées à partir de 2 échantillons indépendants. Nous avons calculé ensuite les corrélations entre les caractéristiques du sperme, intra-modalité expérimentale, au travers des corrélations résiduelles résultant d'un modèle d'analyse de variance incluant comme effet fixé l'ordre de l'éjaculat.

L'étude statistique des données obtenues dans la deuxième et la troisième expérimentation a été faite par le même logiciel XLstat 2016 pour les calculs concernant d'abord les analyses descriptives. Les caractéristiques de l'éjaculat ont été étudiées au moyen d'un modèle d'analyse de variance à effets fixes incluant les effets du régime alimentaire, les effets de température, de la durée de conservation et leurs interactions.

# *Chapitre V*

## *Résultats & Discussion*

**Tableau 8 : Réponses aux sollicitations, taux des éjaculats utiles et présentant un gel****V.1. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006****V.1.1. Evaluation de la production spermatique chez les lapins****V.1.1.1. Taux de récolte utile des lapins**

Le terme de taux de récoltes utile désigne le rapport entre d'une part le nombre des éjaculats non contaminés par l'urine ou le sang, avec un volume supérieur à 0,1 ml et contenant des spz vivants, et d'autre part le nombre total de sollicitations, donc de récoltes potentielles. (Bencheikh 1995).

En général nous avons obtenu un taux global de récoltes utile élevé : 89,3%, révélant une bonne réponse à la récolte artificielle du sperme pour cette souche synthétique. Nos résultats corroborent ceux obtenus par Brun *et al.*(2006) et Nizza *et al.*(2001 et 2003) qui ont trouvé des taux de réponses positives avoisinant respectivement 88,5% chez des lignées L et H sélectionnées sur une croissance rapide et 85,1% chez des souches commerciales Hyla. Par ailleurs, Garcia-Tomas *et al.*(2006a) ont marqué un taux de 93,9% chez des lignées dénommées C et R sélectionnées sur la croissance. Le taux de sollicitation rapporté par Bencheikh.(1995) chez des lapins de souche Hyplus soumis au même deuxième rythme de collecte a été de 99,6%.

Les taux de récolte utiles ont été significativement plus élevés avec les rythmes extensif, intermédiaire et intensif : 100%, 99,4%, 100% respectivement contre 60,5% 97,0%, 94,0%, pour les rythmes très intensif, ascendant et descendant. Deux situations principales ont été à l'origine de l'absence de récolte utile : le refus de prélèvement ou le volume réduit de l'éjaculat (<0,1 ml). Bencheikh.(1995) désigne un taux de récoltes utiles significativement élevé avec le rythme extensif de collecte : 78% contre 70% pour le rythme intensif dans l'expérience I, 80% contre 69% pour le rythme intermédiaire dans l'expérience II (P<0,01).

La fréquence des refus de prélèvement a été nulle pour les trois premiers rythmes ; une seule récolte a été perdue à cause de faute de manipulation dans le lot 2 (rythme intermédiaire). La proportion de refus de prélèvement a été plus élevée pour le rythme très intensif : 101 sur 256 sollicitations contre 12 et 6 respectivement pour les rythmes descendant et ascendant. Ces résultats ne tiennent pas compte des refus quasi systématiques de prélèvement de trois mâles (lots 3 et 4) (Tableau 8)

	Lot 1 (10)		Lot 2 (10)		Lot3 (9)		Lot4 (8)		Lot5 (10)		Lot6 (10)		T (57)
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	
N sollicitations	40	40	80	80	114	114	128	128	100	100	100	100	1124
N éjaculats collectés	40	40	80	80	114	114	125	120	100	100	100	100	1113
% Réponse aux sollicitations	100	100	100	100	100	100	97,6	93,7	100	100	100	100	99
N éjaculats éliminés	0	0	0	01	0	0	34	67	0	06	04	08	120
Causes d'élimination													
V réduit	0	0	0	0	0	0	31	59	0	06	04	08	108
Refus de sollicitation	0	0	0	0	0	0	03	08	0	0	0	0	11
Autres	0	0	0	01	0	0	0	0	0	0	0	0	01
N. éjaculats utiles	40	40	80	79	114	114	94	61	100	94	96	92	991
% éjaculats utiles	100	100	100	98,7	100	100	73,4	47,6	100	94	96	92	89,3
N. avec gel	16	03	37	07	46	08	86	13	43	7	41	8	315
% avec gel	40	7,5	46,2	8,86	40,3	7,01	91,5	21,3	43	7,44	42,7	8,69	31,7

*N : nombre ; V : valeur ; % : pourcentage ; T : total ; C : collecte*

Des auteurs ont déjà relevé la fréquence faible des refus de prélèvement chez le lapin (Grégoire et al., 1958 ; Amann et Lambiase, 1967) et, à l'inverse, la fréquence plus importante des éjaculats contaminés par l'urine, en particulier chez certains individus (Adams, 1972), mais ils n'ont pas fait de relation avec le rythme de récolte du sperme.

Le pourcentage de présence d'urine s'est montré nul. En revanche Bencheikh.(1993) a trouvé un taux d'urine de 13,4% et 6,5% respectivement pour les souches A2066 et A1077. Brun et al (2006) ont trouvé un taux de 4,7 et 13,9% respectivement pour les lignées L et H.

Boulbina.(2011) a vu un pourcentage de 4,8% chez la population locale algérienne.

Nos résultats révèlent une proportion de 9,6% d'éjaculats de faible volume (<0,1 ml). 8% pour le quatrième lot (fréquence de 4 fois par semaine). En définitive, les mâles de la souche synthétique semblent s'être adaptés à la récolte du sperme à l'aide d'un vagin artificiel conçu par nos soins, et qui pourrait être utilisé dans le cadre de l'insémination artificielle.

Les éjaculations donnant lieu à des spermés avec du gel ont représenté 28,0% des cas. Ce taux est proche de celui rapporté chez la race Néo-Zélandaise Blanche (27% ; Roca et al.,

1993), et les lignées sélectionnées sur la croissance C et R (22,8% ; Garcia-Tomas *et al.*, 2006a). La présence du gel constitue une manipulation supplémentaire lors de l'analyse du sperme ou de la semence avant une insémination artificielle, mais dans les conditions naturelles lors d'une saillie naturelle ce gel constitue un bouchon au niveau du vagin de la lapine pour éviter le reflux du sperme après l'accouplement (Alvarino, 1993).

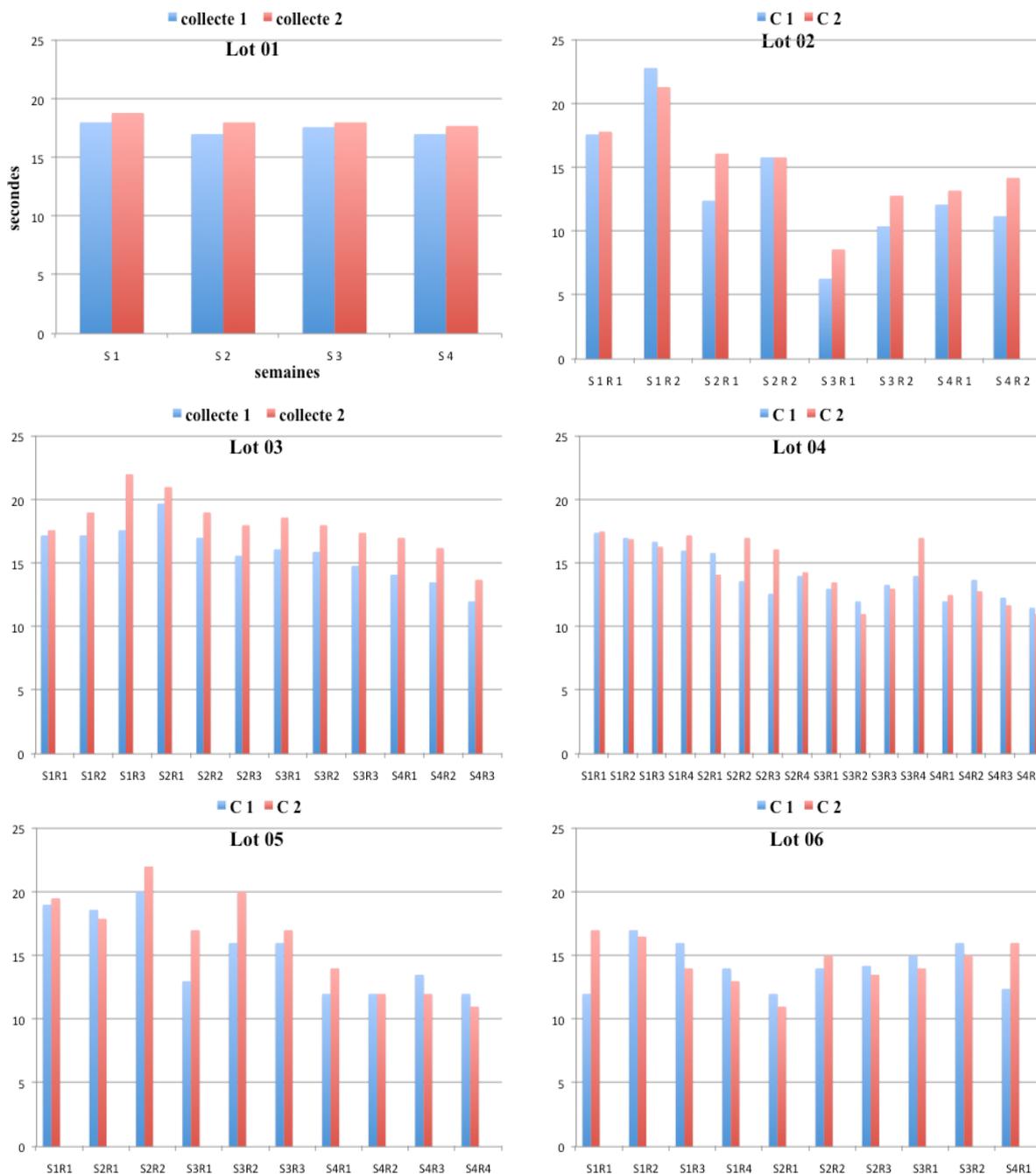
Bencheikh. (1993) note que quel que soit le rythme de collecte, les valeurs de refus sont restées faibles, et il indique que la réponse des mâles à la collecte peut constituer une caractéristique de la souche. Le refus des mâles de souches INRA A2066 et INRA 1077 était respectivement de 1,7% et 8,2%.

### **V.1.2. Evolution hebdomadaire de l'ardeur sexuelle et des caractéristiques du sperme en fonction du rythme de collecte**

#### **V.1.2.1. Ardeur sexuelle ou libido**

Le temps séparant la présentation de la femelle boute-en-train du chevauchement (T1) a été en moyenne de 10,4 secondes. Il semblerait en moyenne que le T1 se révèle plus allongé que celui obtenu par Bencheikh. (1993) pour les souches A 2066 et A 1077 (4 et 5,5 secondes).

Les moyennes de temps séparant la présentation de la femelle de l'éjaculation (T2) de ces deux souches étaient respectivement de 14 et 18 secondes. Les lapins mâles de notre souche synthétique (ITELV 2006) étudiés entre la 30<sup>ème</sup> et la 36<sup>ème</sup> semaine d'âge, ont montré une ardeur sexuelle moyenne avec 14,9 secondes, meilleure que celles des lapins de lignées L et H (sélectionnées sur le poids corporel) et estimées respectivement à 28,3 et 27,5 secondes (Brun *et al.*, 2006) ; de celles de trois phénotypes de la race égyptienne Baladi (Red : 21 secondes, White : 18 secondes, Black : 22 secondes) indiquées par Khalil.(2002b). Par ailleurs, Nizza *et al.*(2003) ont souligné que chez des mâles adultes de génotype Hyla (plus de 12 mois d'âge) la libido était de 23,2 secondes. Les libidos pour les six lots de notre étude ont été respectivement: 17,8 : 17,8, 12,5, 12,5, 17,0, 14,1, 16,9 et 14,9 secondes pour les lots 1, 2, 3, 4, 5 et 6 (Figures 25 et 26). Par ailleurs, Safaa *et al.* (2008) ont rapporté une libido de 14,5 secondes chez des lapins de race Black Baladi et 21,9 secondes chez des lapins de race Néo-Zélandaise blanche âgés entre 24 et 36 semaines. Dans notre étude, le temps de réaction enregistré entre la 30<sup>ème</sup> semaine et la fin de l'expérimentation est inférieur de près de 25% à celui de la race égyptienne Black Baladi (7,7 secondes).



**Figure 25 :** Comparaison de l’ardeur sexuelle entre les deux collectes successives pour les six lots

D’une manière générale, nous pouvons dire que les mâles de la souche synthétique sont caractérisés par un temps de réaction plus court par rapport aux différents types de lapins étudiés dans la littérature, entrant ainsi dans l’intervalle de variation (entre 5 et 300 secondes) énoncé par [Alvarino.\(1993\)](#). Ce résultat pourrait être dû à une caractéristique de la souche ou bien à la méthodologie de collecte que nous avons adoptée. En effet, en plus du même préleveur, plusieurs lapines boute-en-train ont été utilisées au cours de toute l’expérimentation.

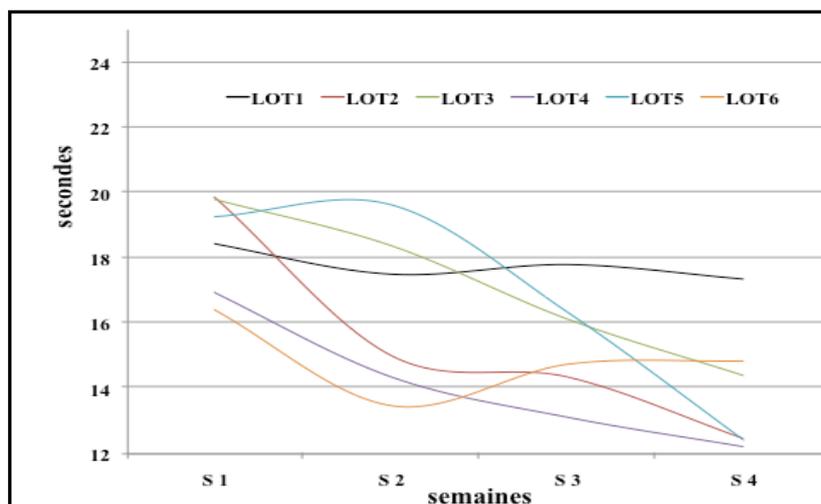


Figure 26 : Effet du rythme de collecte sur l'ardeur sexuelle

### V.1.3. Les caractéristiques de l'éjaculat

#### V.1.3.1. Distribution des variables

Les distributions du volume, de la concentration, des motilités individuelles et massales par lot ont montré des coefficients d'asymétrie et d'aplatissement inférieurs à zéro presque dans tous les lots. Par rapport à une distribution normale, un déséquilibre à gauche a été enregistré dans la plupart des distributions. Pour les pourcentages des anomalies et des vitalités on a enregistré le contraire avec une asymétrie à droite et d'autre part une trop grande proportion de données était égale ou proche de la moyenne. De ce fait, les résultats obtenus avec les méthodes statistiques basées sur l'hypothèse de normalité (analyse de variance) doivent être interprétés avec prudence.

#### V.1.3.2. Comparaison des 2 éjaculats successifs

L'effet de l'ordre de l'éjaculat a été significatif ( $p < 0,01$ ), quelle que soit la caractéristique considérée pour le rythme, mis à part le pH. Le volume a été plus faible au second prélèvement (0,36 vs 0,57 ml) (Figures 27 et 28), mais toutes les autres caractéristiques de l'éjaculat ont été améliorées à la 2<sup>ème</sup> récolte : la motilité d'ensemble (5,3 vs 5,12), la motilité individuelle (3,47 vs 3,27), le pourcentage de spz vivants (74,4 vs 73,0%) et la concentration (524 vs 480 millions par ml) (Figures 29, 30, 31, 32 et 33).

Une analyse analogue des autres rythmes confirme ces résultats. Les mâles répondent mieux à la première sollicitation qu'à la deuxième. D'un autre côté, nos résultats ont montré une prédominance significative pour le premier éjaculat avec gel comparé au second (respectivement en moyenne 27,1% vs 4,64% soit un écart de 70,8%), telle que signalée par [Holtz et Foote.\(1978\)](#) et [Garcia-Tomas et al.\(2006a\)](#) avec un écart de 72%.

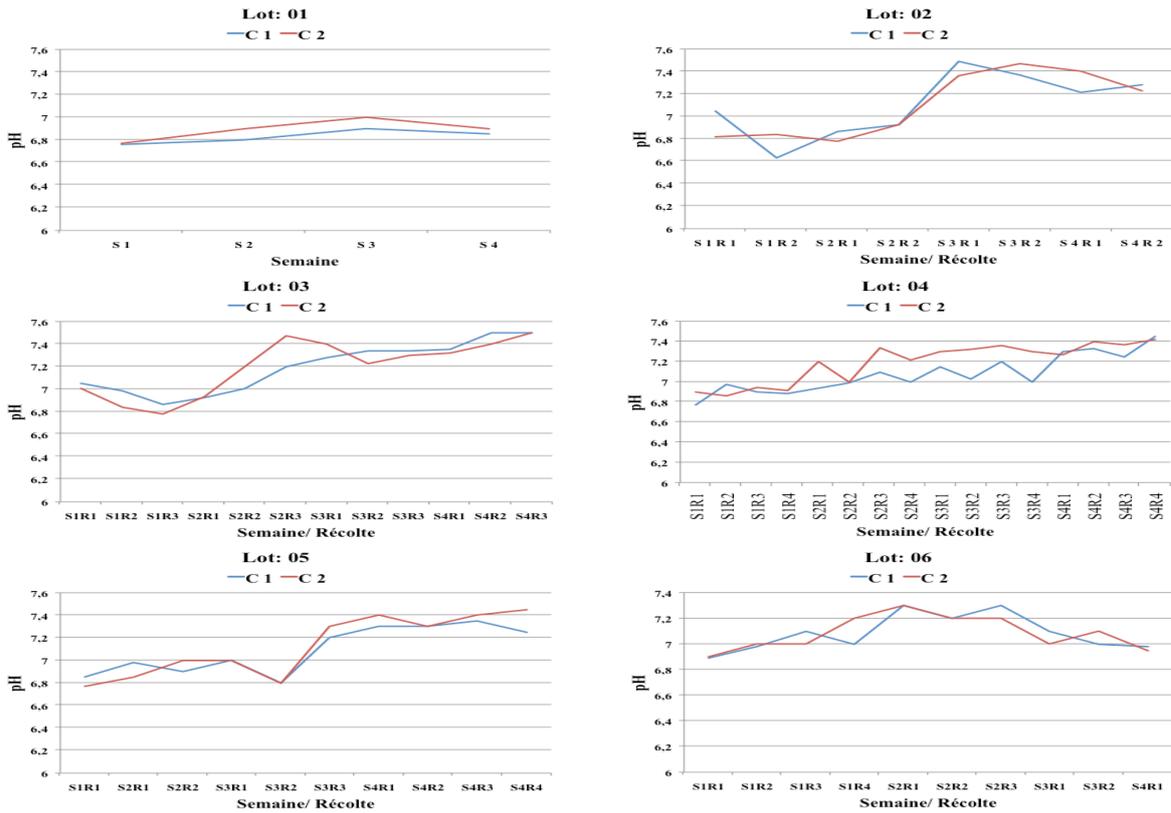


Figure 27: Comparaison du pH des éjaculats entre les deux collectes successives pour les six lots

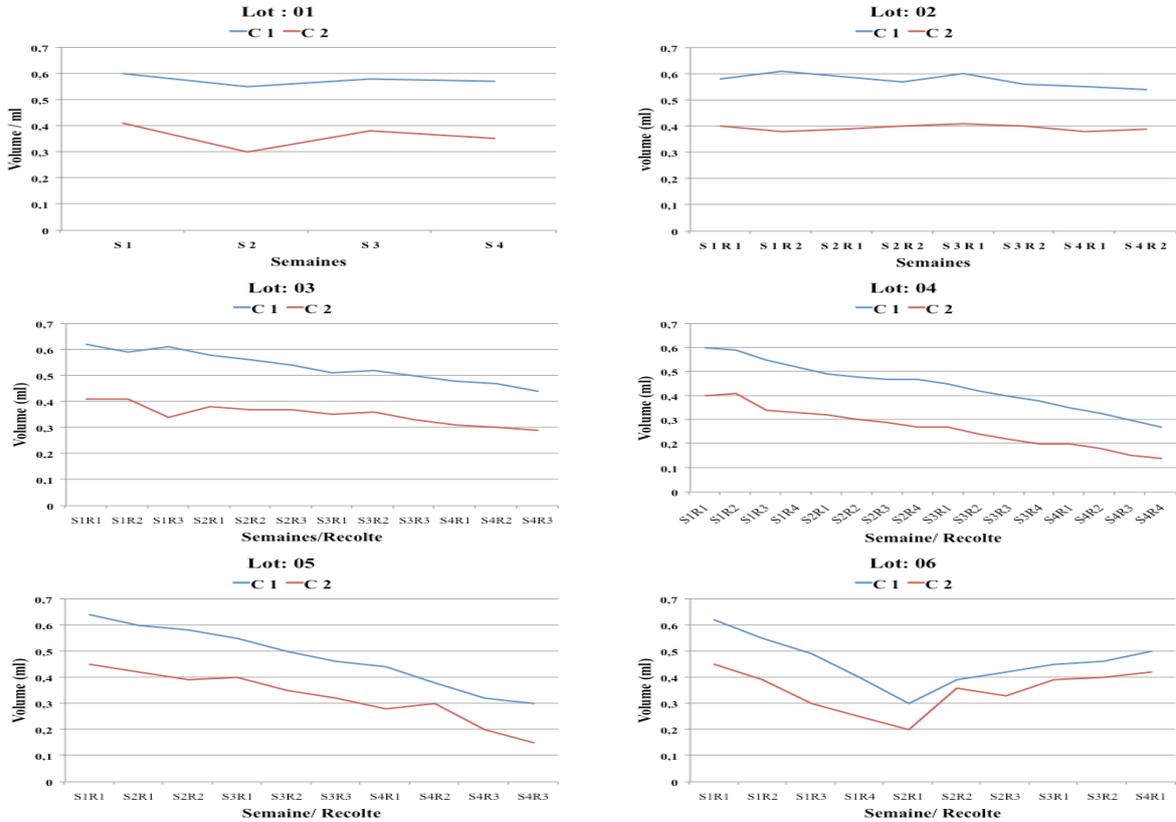


Figure 28: Comparaison du volume des éjaculats entre les deux collectes successives pour les six lots

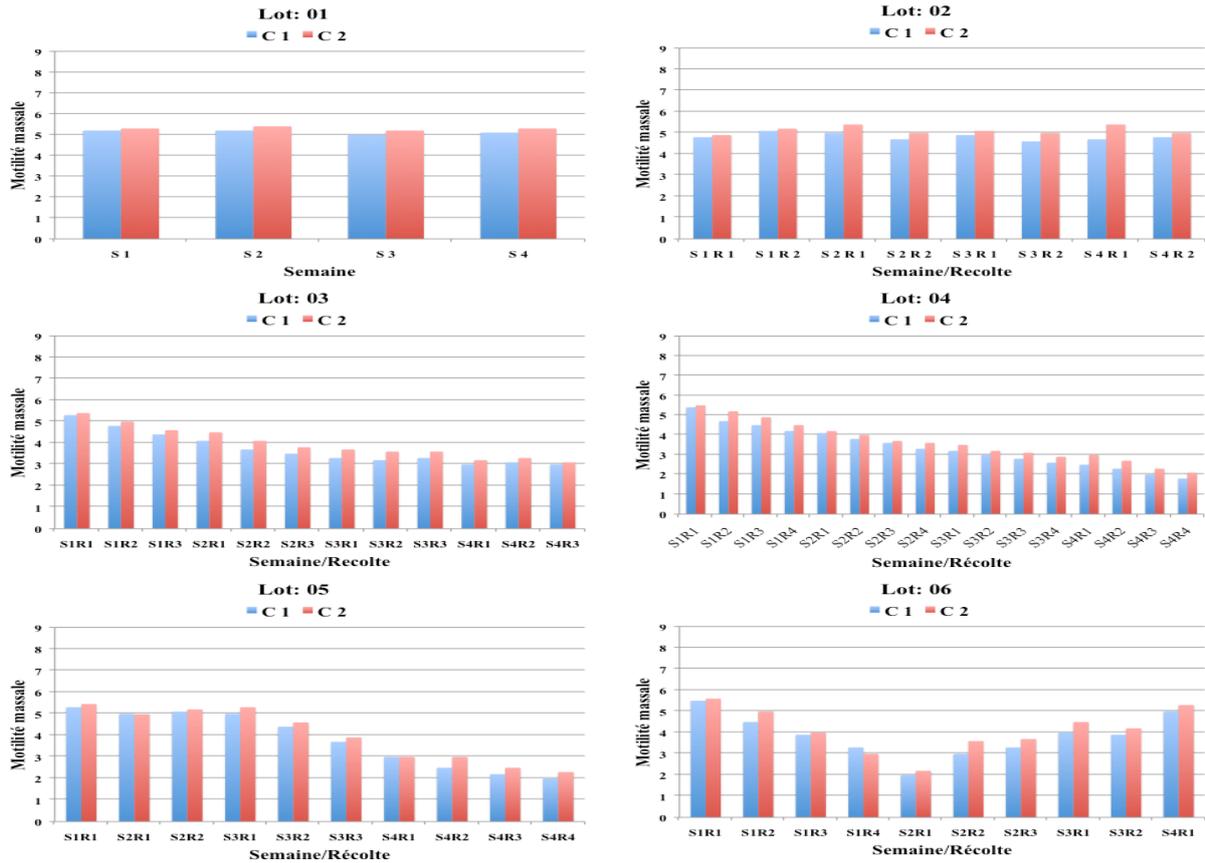


Figure 29: Comparaison de la motilité massale des éjaculats entre les deux collectes successives

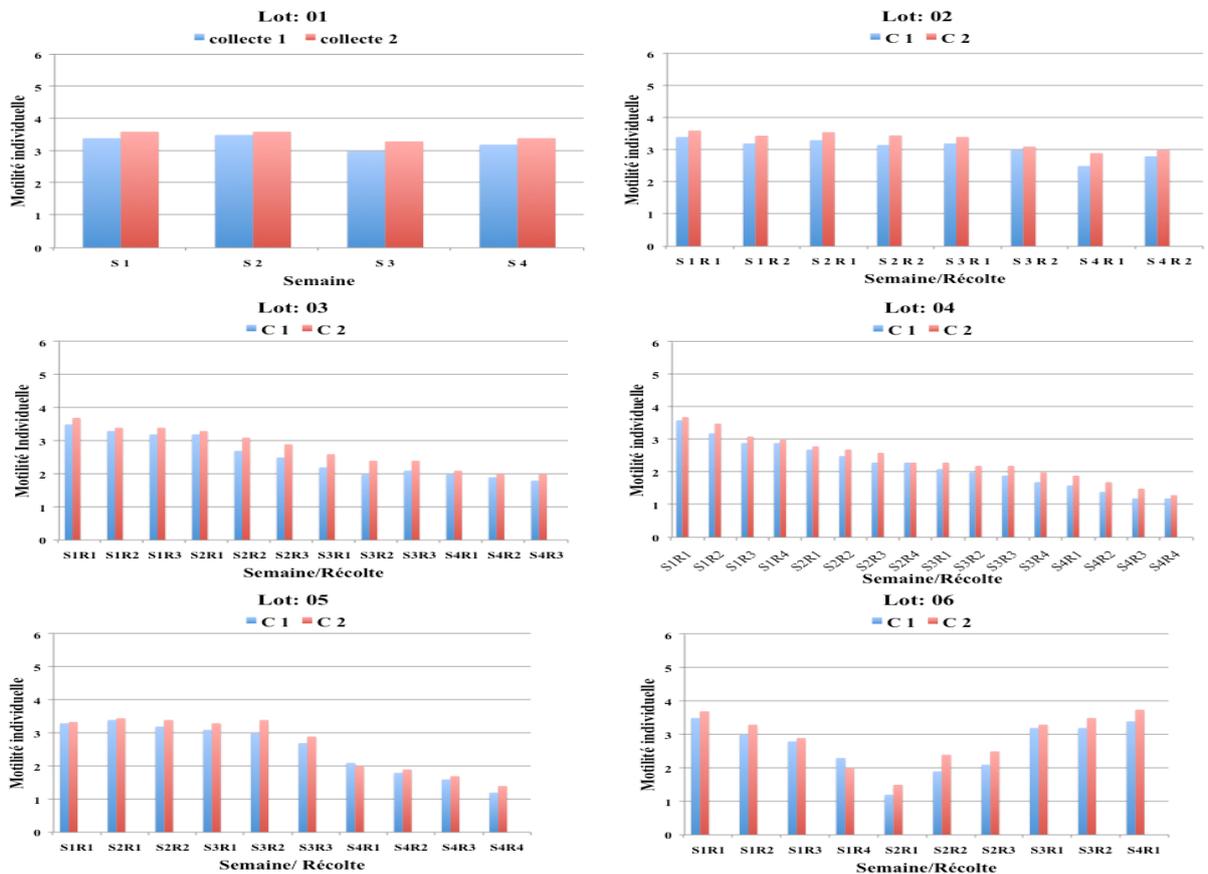


Figure 30: Comparaison de la motilité individuelle des éjaculats entre les deux collectes successives

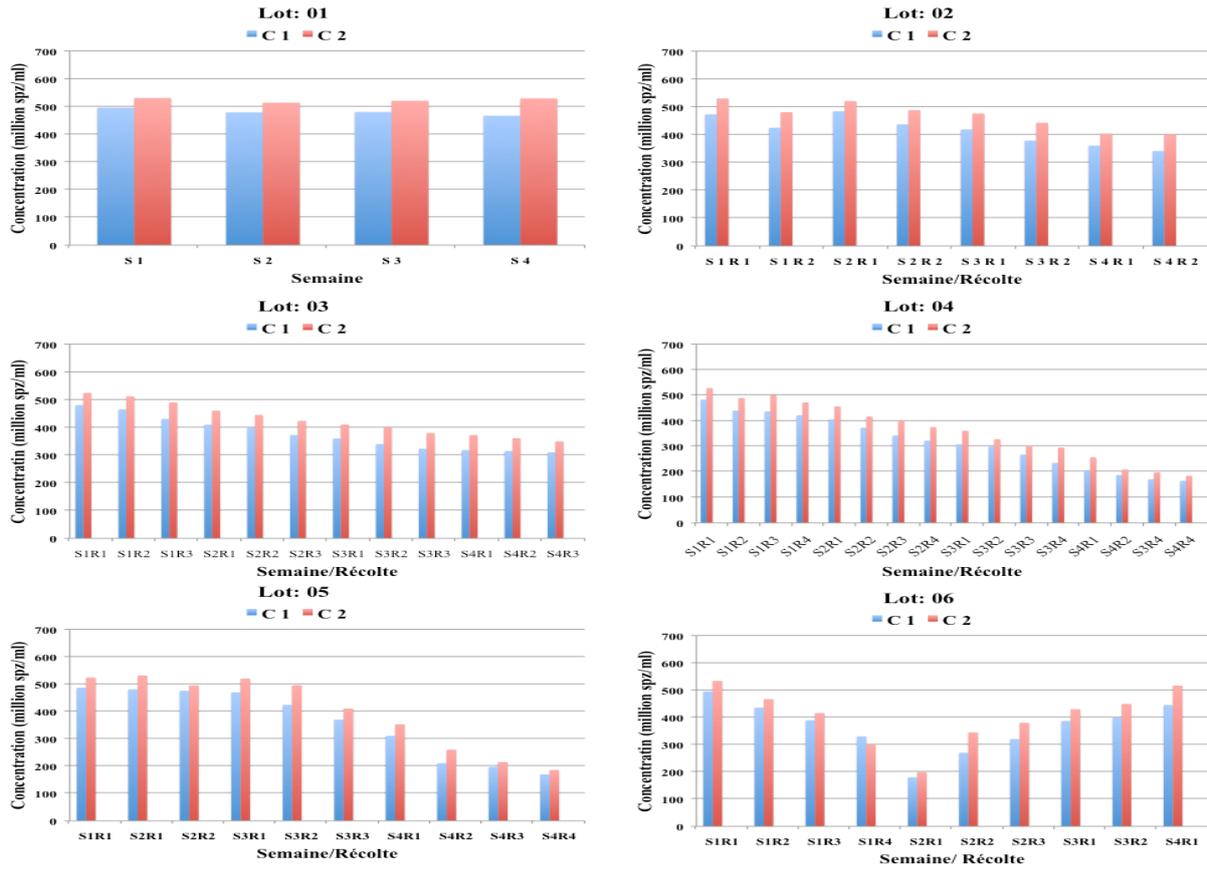


Figure 31: Comparaison de la concentration des éjaculats entre les deux collectes successives

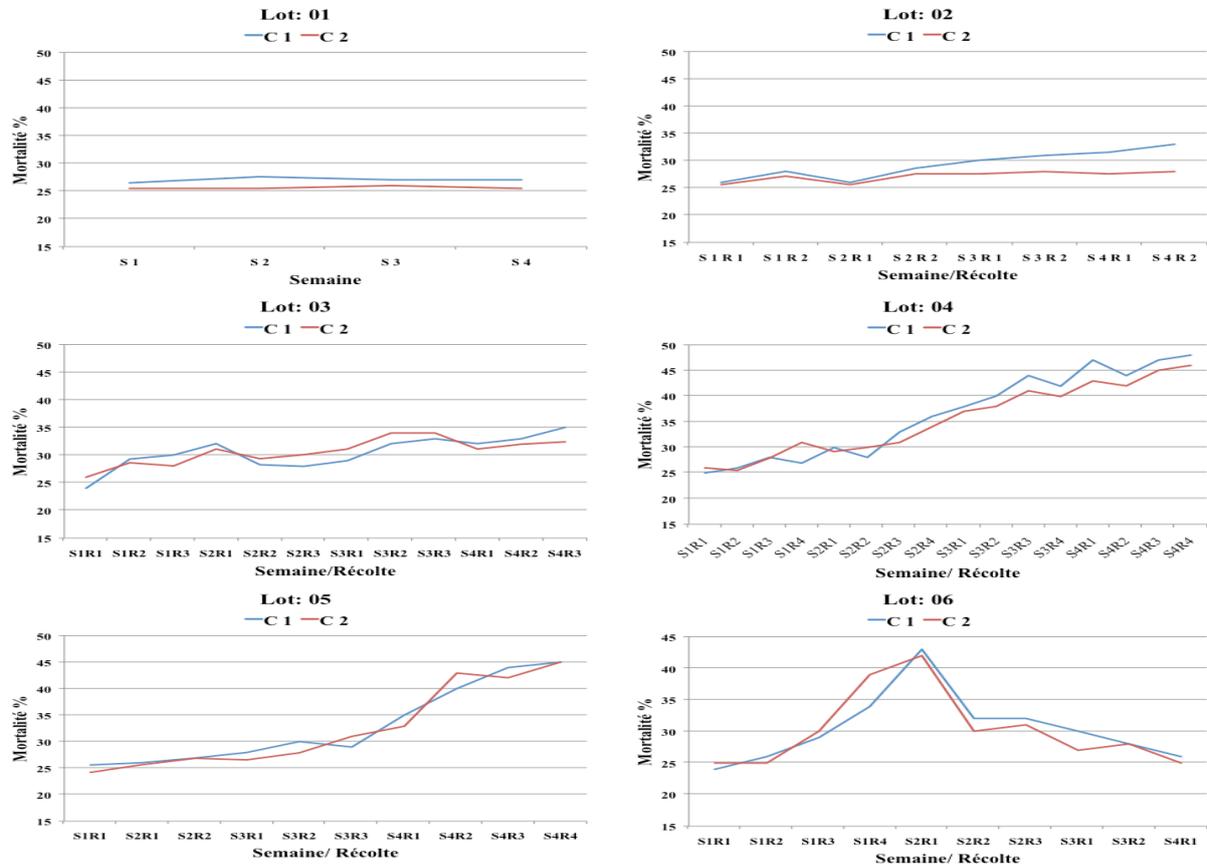
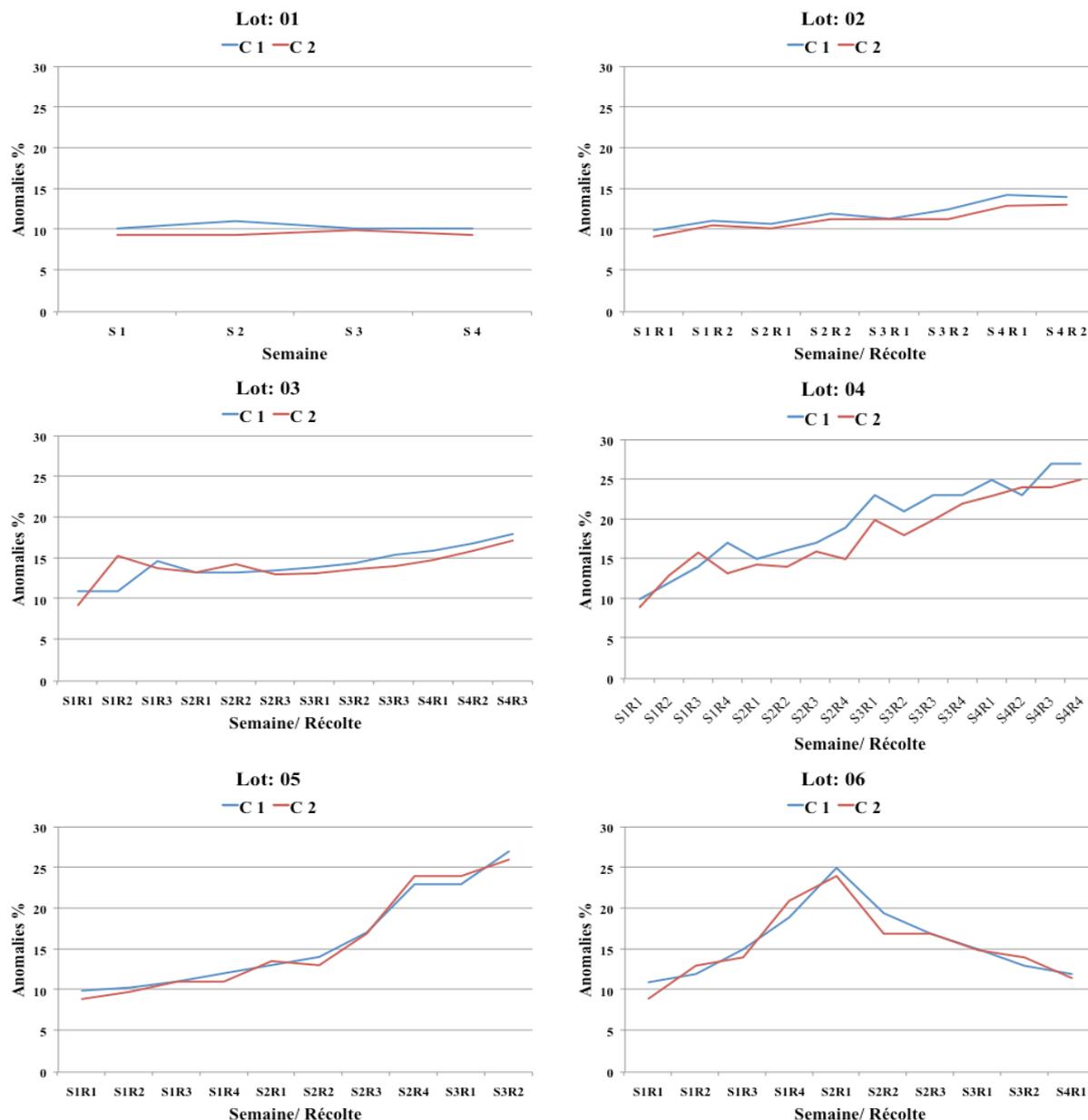


Figure 32: Comparaison de la mortalité des éjaculats entre les deux collectes successives



**Figure 33:** Comparaison des anomalies des éjaculats entre les deux collectes successives

Au cours de notre expérimentation, sur le nombre total des éjaculats éliminés, 6,0% sont survenus lors de la 2<sup>ème</sup> collecte, ce qui est en accord avec les observations de [Benchikh.\(1995\)](#), et [Garcia-Tomas et al.\(2006a\)](#).

### V.1.3.3. Effet du rythme de récolte

L’analyse du sperme ne révèle aucune différence apparente de la couleur pour la majorité des résultats relevée chez les lapins. Selon la grille de la couleur de sperme de [Roca et al.\(1993\)](#), variant de 0 à 3 (sperme blanc nacré ou blanc ivoire), une note de 3,0 a été attribuée

pour les lots 1 et 2 avec le symbole BN pour blanc nacré. Alors qu'on a enregistré respectivement 2,77 ; 2,58 ; 2,62 ; 2,63 pour les lots 3, 4, 5 et 6. (Tableau 9)

**Tableau 9** : Caractéristiques macroscopiques du sperme (la couleur)

	<i>lot</i>	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>	<i>p</i>
Couleur	1	80	3,00	0,00	3—3	
	2	159	2,99	0,11	2—3	
	3	228	2,77	0,42	2—3	
	4	155	2,58	0,56	1—3	
	5	194	2,63	0,56	1—3	
	6	188	2,64	0,64	1—3	

*n* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *p* : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

Des travaux sur le sperme des lapins de race Californienne, Néo-Zélandaise et Chinchilla âgés de 10 mois, ont affecté une note moyenne de 2,03 à la couleur du sperme (Salcedo-Baca et al., 2004). Ce dernier était un peu moins opaque que le sperme de notre souche synthétique (avec une moyenne de 2,76 pour l'ensemble des éjaculats de l'essai), en relation avec la concentration en spz plus élevée (Roca et al., 1993).

Pour les lots 4 et 5 nous avons enregistré une dégradation de la note au cours de l'essai respectivement de 3 vers 1, 6 et de 3 vers 2 contrairement au lot 6 où on a obtenu une diminution de la note de 3 jusqu'à 2 vers la deuxième semaine suivie d'une amélioration de 3. La couleur est un indicateur de la qualité du sperme (Boussit 1989 ; Alvarino 1993). Les travaux de Roca et al. (1993) ont montré une corrélation positive entre la couleur et la concentration spermatique. La diminution de la note attribuée à la couleur du sperme indique une dépréciation de la concentration spermatique.

Le volume moyen de toutes les collectes de notre expérimentation est de  $0,44 \pm 0,12$  ml, inférieur à celui prélevé chez différentes races (Californienne, Néo-Zélandaise Blanche et Chinchilla du Mexique) âgées entre 32 et 48 semaines d'âge (1,15 ml) (Salcedo-Baca et al., 2004). Selon Boulbina et al. (2011) chez le lapin local algérien, le volume total collecté entre la 24<sup>ème</sup> et la 33<sup>ème</sup> semaine d'âge est estimé à 1,2 ml. Par ailleurs, chez les lapins hybrides, âgés entre 3 et 18 mois, le volume moyen du sperme était de 0,92 ml (Roca et al., 2005).

Le volume sans gel moyen du sperme récolté chez notre souche synthétique est similaire à celui estimé chez la lignée H : 0,59 ml (Brun et al., 2006). La population locale algérienne

enregistre un volume de 0,73 ml (Boulbina, 2011) nettement supérieur à celui récolté sur les lapins de notre souche synthétique au même âge : 0,44 ml. En revanche, la race égyptienne Baladi noir et la souche INRA1077 ont présenté un volume aussi supérieur : 0,73 ml et 0,79 ml respectivement (Safaa *et al.*, 2008 ; Bencheikh, 1995).

Le pH du sperme récolté au cours de l'expérimentation a été en moyenne de 7,04. Cette valeur est considérée comme normale et comparable à celle rapportée par Brun *et al.*(2006). Une variabilité du pH du sperme est révélée par les données de la littérature, entre les différentes souches et races étudiées (de 6,94 à 7,63) (Garcia-Tomas *et al.*, 2006a ; Brun *et al.*,2002a ; Brun *et al.*, 2009). La mesure du pH au pH-mètre doit être immédiate car le sperme s'acidifie rapidement suite à la formation d'acide lactique, résultant de l'utilisation des sucres par les spermatozoïdes (Alvarino, 1993 ; Arencibia et Rosario, 2009). (Tableau 10)

**Tableau 10** : Caractéristiques macroscopiques du sperme (pH)

	<i>lot</i>	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>	<i>p</i>
pH	1	80	6,86	0,12	6,66—7,20	
	2	159	7,07	0,26	6,50—7,57	<0,01
	3	228	7,18	0,25	6,59—7,60	<0,01
	4	155	7,04	0,19	6,66—7,50	<0,01
	5	194	7,04	0,18	6,66—7,44	<0,01
	6	188	7,01	0,10	6,66—7,60	<0,01

*n* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *p* : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

La concentration affiche une moyenne de  $415 \pm 81$  millions de spz qui se rapproche des valeurs décrites par Boiti.(2005). L'évolution hebdomadaire de la concentration exprimée en spz par millilitre pour les lapins diminue progressivement au cours de la période expérimentale de  $502 \times 10^6$  spz dans la première semaine jusqu'à  $339 \times 10^6$  spz pour la fin de l'expérimentation. Nos résultats sont plus faibles que ceux enregistrés par Bencheikh.(1993), Brun *et al.*(2002a), Castellini *et al.*(2003), Theau-Clément *et al.*(2009) et Brun *et al.*(2006) chez la lignée L ( $634 \times 10^6$  spz/ml) et la lignée H ( $738 \times 10^6$  spz/ml). Ils sont similaires à ceux trouvés par Nabi 2013 ( $429 \pm 263 \times 10^6$ ) pour le même âge. En effet, Boulbina.(2011) a trouvé une valeur moyenne plus élevée ( $735 \times 10^6$  spz et  $506 \times 10^6$  spz/ml) entre 19 et 33 semaines d'âge et de  $642 \times 10^6$  spz/ml chez les lapins récoltés à partir de la 24<sup>ème</sup> semaine d'âge et jusqu'à la 33<sup>ème</sup> d'âge.

Par ailleurs [Safaa et al.\(2008\)](#) indiquent des concentrations de  $703 \times 10^6$  spz /ml pour la race Baladi Noir et de  $590 \times 10^6$  spz/ml pour la race Néo-Zélandaise Blanche (en Egypte).

Toutefois, des concentrations nettement plus faibles, de l'ordre de  $243 \times 10^6$  spz/éjaculat, ont été révélées chez différentes souches sélectionnées par l'INRA (1077, 2066, 2666 et 1001) ([Theau-Clément et al., 2003](#) ; [Brun et al., 2009](#)) et de l'ordre de  $245 \times 10^6$  spz/ml pour les deux lignées C et R tel que rapporté par [Garcia-Tomas et al.\(2006a\)](#).

Les notes moyennes de motilités massale et individuelle ont été respectivement de  $4,32 \pm 0,99$  sur 9 et  $2,8 \pm 0,76$  sur 4. L'ensemble des éjaculats présente un pourcentage moyen de spz anormaux de  $14,4 \pm 4,05$  %.

Néanmoins, les notes moyennes de motilités massale et individuelle s'avèrent faibles, au-dessous du seuil d'une bonne mobilité (motilité massale : aspect de vagues ( $\geq 6/9$ ) et motilité individuelle : progression rapide ( $\geq 3/4$ )) et souhaitable pour des inséminations ([Boussit, 1989](#)). Cette faiblesse de motilité peut être un caractère propre de la souche, comme elle pourrait être expliquée par le faible nombre d'observations enregistrées dans une durée potentiellement courte.

Les spz dans le sperme du lapin de souche synthétique se caractérisent par une motilité massale inférieure à celle mesurée chez les lapins de différentes origines ([Bencheikh, 1995](#) ; [Theau-Clément et al., 2003](#) ; [Brun et al., 2006](#) et [2009](#)). En revanche, leur motilité individuelle est tantôt supérieure, tantôt plus faible que celles rapportées par les données bibliographiques et ce en fonction de l'origine génétique du lapin ([Bencheikh, 1995](#) ; [Garcia-Tomas et al., 2006a](#)).

[Boulbina.\(2011\)](#) a trouvé un taux faible de mobilité des spz, chez le lapin local (64,2%) et de 74,8% à un âge plus avancé chez la même population (entre 24 et 33 semaines). [Brun et al. \(2006\)](#) ont rapporté un taux de 76% en utilisant des mâles de lignées sélectionnées sur la croissance. La mobilité des spz semble s'améliorer avec l'âge ([Salcedo-Baca et al., 2004](#)). Chez le lapin, des travaux indiquent qu'une bonne motilité massale des spz accompagne un bon taux de gestation ([Brun et al., 2002b](#)).

Quel que soient les caractères considérés (volume, motilités, concentration), on a obtenu des valeurs plus faibles que celles enregistrées par [Bencheikh.\(1993\)](#), [Brun et al.\(2002ab\)](#), [Castellini et al.\(2003\)](#), [Brun et al.\(2006\)](#) et [Theau-Clément et al.\(2009\)](#) (France). En occurrence, [Boulbina.\(2011\)](#) a trouvé des valeurs moyennes plus élevées, à savoir le volume (0,86 ml), la motilité massale (7,68), la motilité individuelle (3,57), et la concentration

( $735 \times 10^6$  spz). Ces différences de volume et de concentration spermatique semblent être liées à l'origine génétique des lapins et au programme de sélection auquel ils seraient soumis.

Il est important de souligner que les méthodes utilisées par ces différentes études étaient basées sur l'observation et le comptage, qui probablement sont une source supplémentaire de la variabilité des résultats (Cabannes, 2008), qui pourrait être estompée par l'utilisation de méthodes d'analyse assistées par ordinateur.

Les anomalies totales observées chez les spz sont en proportion équivalentes à celles rencontrées chez la race Néo-Zélandaise Blanche (Brésil) en moyenne 24,3% (Cardoso et Bao, 2007). Toutefois, ce taux d'anomalies totales diminue avec l'âge de l'animal, atteignant 16,8% chez le lapin local âgé entre 24 et 33 semaines d'âge, et se rapproche de la valeur minimale rapportée par la littérature (entre 11,6 et 30,5%) (Khalil, 2002b ; Safaa et al., 2008 ; Garcia-Tomas et al., 2006a).

Hormis le pH et le volume, les moyennes des caractéristiques de l'éjaculat obtenu avec le rythme extensif (lot 1) sont supérieures à celle des autres rythmes ; les différences sont à chaque fois significatives ( $P < 0,01$ ). (Tableaux 9 à 14). Le pH est significativement plus faible avec le rythme extensif ( $6,86 \pm 0,12$ ) qu'avec les 5 autres rythmes (7,06 ; 7,18 ; 7,04 ; 7,04 ; 7,01). La moyenne du volume du sperme est similaire pour les trois premiers rythmes et supérieure à celles des trois derniers rythmes et son évolution au cours de la période d'essai pour les deux premiers lots est presque constante (0,50 ml à 0,46 ml), pour le troisième, le quatrième et le cinquième lots une diminution remarquable débutant par un volume de 0,54 ml et finissant par 0,24 ml, contrairement au 6<sup>ème</sup> lot pour lequel on a constaté une chute remarquable dans la deuxième semaine, suivie par une nette amélioration . (Tableau 11)

**Tableau 11** : Caractéristiques macroscopiques du sperme (volume)

	<i>lot</i>	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>	<i>P</i>
<b>Volume (ml)</b>	1	80	0,48	0,11	0,23—0,80	
	2	159	0,48	0,10	0,30—0,70	0,78
	3	228	0,45	0,11	0,25—0,70	0,03
	4	155	0,41	0,11	0,14—0,65	<0,01
	5	194	0,41	0,14	0,11—0,80	<0,01
	6	188	0,42	0,11	0,12—0,69	<0,01

*n* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *p* : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

Par rapport aux fréquences de rythmes extrêmement intensifs (lot 4) et au rythme des deux derniers lots, les trois premiers lots (1, 2 et 3) permettent de recueillir plus de 12% de volume de semence en plus par éjaculat. Alors que par rapport aux fréquences étudiées (lot 2, 3, 4, 5 et 6), le pourcentage des spz vivants du rythme extensif (lot 1) a été amélioré respectivement plus de 2,5%, 5,7%, 13,0%, 8,7%, 2,7%, 2,7%, en même temps, la concentration a été améliorée de plus de 12,1%, 19,9%, 32,5%, 24,5% 23,4% respectivement.

L'augmentation quantitative du volume et du nombre de spz s'accompagne d'une amélioration de la motilité. Le regroupement en classe des notes de motilité massale rend mieux compte de l'avantage du rythme extensif : 42,5% des éjaculats de ce groupe présentent une note de 6/9, la proportion n'étant que de 4,4% dans le rythme intermédiaire. L'examen de la distribution de la motilité individuelle dégage des conclusions similaires. Les valeurs moyennes des motilités massale et individuelle, ainsi que les pourcentages des anomalies totales des spermatozoïdes en fonction de la fréquence de collecte sont répertoriées dans le

Tableaux 12, 13 et 14.

**Tableau 12 :** Caractéristiques microscopiques du sperme (concentration)

	<i>lot</i>	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>	<i>P</i>
<b>con x10<sup>6</sup> spz/ml</b>	1	80	502	28,9	437-564	
	2	159	442	55,1	305-548	<0,01
	3	228	404	66,7	276--543	<0,01
	4	155	375	105	126--567	<0,01
	5	194	380	130	113--560	<0,01
	6	188	386	98,6	130--567	<0,01

*con* : concentration ; *spz* : spermatozoïdes ; *n* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *p* : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

Les motilités massale et individuelle et la concentration sont supérieures dans le rythme extensif par rapport aux autres rythmes, ainsi qu'on a enregistré des pourcentages moyennement faibles pour les taux de mortalité et d'anomalie dans ce premier lot contre les valeurs des autres lots (Tableaux 12, 13 et 14). Ce qui est en accord avec [Benchikh.\(1995\)](#).

**Tableau 13** : Caractéristiques microscopiques du sperme (Motilités massale et individuelle)

	<i>lot</i>	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>	<i>p</i>
<b>Motilité massale</b>	1	80	5,21	0,77	4—6	
	2	159	4,98	0,53	4—6	<0,01
	3	228	3,89	0,90	2—6	<0,01
	4	155	3,88	1,21	1—6	<0,01
	5	194	3,92	1,29	1—6	<0,01
	6	188	4,04	1,25	1—6	<0,01
<b>Motilité individuelle</b>	1	80	3,36	0,56	2—4	
	2	159	3,18	0,50	2—4	<0,01
	3	228	2,68	0,74	1—4	<0,01
	4	155	2,51	0,92	1—4	<0,01
	5	194	2,36	0,94	1—4	<0,01
	6	188	2,71	0,90	1—4	<0,01

*n* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *p* : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

Cependant, [Nizza et al. \(2003\)](#) et [Vigrag et al.,\(1992\)](#) n'ont pas trouvé d'effet de la fréquence ni sur le pourcentage des anomalies ni sur le pourcentage des cellules vivantes. La fréquence extrêmement intensive correspond à une détérioration de l'ensemble des caractéristiques de l'éjaculat : volume, motilité, concentration et pourcentage de spz vivants.

**Tableau 14** : Caractéristiques microscopiques du sperme (mortalité)

	<i>lot</i>	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>	<i>p</i>
<b>Pourcentage de spz morts</b>	1	80	26,3	1,29	24—30	
	2	159	28,2	2,41	25—35	<0,01
	3	228	30,4	4,21	21—42	<0,01
	4	155	33,3	8,31	19—58	<0,01
	5	194	32,6	7,68	23—52	<0,01
	6	188	30,3	6,55	18—53	<0,01

*spz* : spermatozoïdes ; *n* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *p* : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

La valeur du pH est plus faible avec le rythme extensif, mais le pH est corrélé négativement avec les autres caractéristiques de l'éjaculat. D'après [Amann.\(1981\)](#), un rythme élevé de récolte, tel que la troisième fréquence de collecte pratiquée ici, diminue les réserves de la queue de l'épididyme, ainsi que le nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

Selon [Bodnar et al.\(1996\)](#) et [Arroita et al.\(2000\)](#), le volume et la concentration spermatique sont altérés lorsque le rythme de collecte augmente. Selon les mêmes auteurs, un rythme de prélèvement extensif améliore la motilité et le pourcentage de spz vivants. Tandis que [Bunaciu et al.\(1996\)](#) et [Bencheikh.\(1995\)](#) ont montré que le nombre de spz prélevés par semaine était plus élevé dans les rythmes les plus intensifs. Par contre, [Bencheikh.\(1995\)](#) a signalé que sur la base de la quantité hebdomadaire de spz récoltés, une fréquence de 2 à 3 jours par semaine paraît préférable au rythme extensif.

En revanche, certaines études plus récentes ne soulignent aucun effet du rythme de collecte sur la motilité, le pourcentage de spz vivants, le pourcentage d'anomalies de l'acrosome et le pourcentage d'anomalies spermatiques ([Arroita et al., 2000](#) ; [Nizza et al., 2001](#) ; [Nizza et al., 2003](#)) pour des rythmes comparables à ceux que nous avons étudié.

Des études menées chez différentes espèces, basées sur l'estimation des réserves testiculaires de spz, montrent que le rythme de récolte n'affecte pas le niveau de la production spermatique dans le testicule ([Bencheikh, 1993](#)). Selon [Amann.\(1970\)](#), les mêmes études soulignent la diminution de la durée nécessaire pour le transit du spz dans l'épididyme, ainsi que la réduction des réserves épидидymaires, suite à l'application d'un rythme intensif de récolte.

Compte tenu du fait qu'aucune étude n'a inclus tous les rythmes tels que ceux pratiqués ici, il est difficile de comparer toutes les valeurs moyennes des caractéristiques du sperme à celles obtenues dans des travaux antérieurs. Nos résultats, en accord avec les études antérieures, ont montré que la fréquence de collecte influence grandement les caractéristiques de l'éjaculat.

De plus, les souches de mâles utilisées étaient toujours différentes et les effectifs sont réduits.

### V.1.3.4. Corrélations entre les caractéristiques de l'éjaculat

Dans notre expérience, environ 991 données (80 éjaculats du rythme extensif, 159 du rythme intermédiaire, 228 du rythme intensif, 155 du rythme extrêmement intensif, 194 du rythme ascendant et 188 du rythme descendant) ont été intégrées dans le calcul des corrélations.

Les variables mesurées ou calculées sont quasiment toutes corrélées (Tableau 15). Une corrélation positive significative lie entre elles les critères qualitatifs du sperme (motilité massale et individuelle, concentration) ; la valeur du coefficient de corrélation varie alors de 0,82 à 0,85 pour l'ensemble des lots ( $p < 0,01$ ). Les mêmes critères paraissent positivement mais faiblement liés au volume de l'éjaculat. En effet, un coefficient variant de 0,39 à 0,41 a été trouvé.

**Tableau 15:** Corrélations entre les caractéristiques du sperme (6 lots)

	<b>VOL</b>	<b>pH</b>	<b>MM</b>	<b>MI</b>	<b>CON</b>	<b>MOR</b>	<b>ANO</b>
<b>VOL</b>	1	-0,17	0,41	0,40	0,39	-0,48	0,49
<b>pH</b>	-0,17	1	-0,30	-0,31	-0,30	0,22	0,18
<b>MM</b>	0,41	-0,30	1	0,85	0,83	-0,81	-0,81
<b>MI</b>	0,40	-0,31	0,85	1	0,82	-0,77	-0,77
<b>CON</b>	0,39	-0,30	0,83	0,82	1	-0,86	-0,86
<b>MOR</b>	-0,48	0,22	-0,81	-0,77	-0,86	1	0,89
<b>ANO</b>	-0,49	0,18	-0,81	-0,77	-0,86	0,89	1

*VOL : volume ; MM : motilité massale ; MI ; motilité individuelle ; CON : concentration ; MOR : mortalité ; ANO : anomalies. Coefficient de corrélation de Pearson, les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha=0,01$*

Par ailleurs, une corrélation négative significative semble lier le taux de mortalité et les anomalies aux critères précédents, de -0,86 à -0,77 ( $p < 0,01$ ).

Selon [Bencheikh et al.\(1995\)](#), une corrélation positive significative entre les critères qualitatifs du sperme avec une valeur du coefficient de corrélation variant de 0,28 à 0,49 dans le rythme extensif, et de 0,43 à 0,59 dans le rythme intensif.

### V.1.3.5. Nombre de doses de semence utilisables

En résumé ce nombre s'établit ainsi, si on considère qu'il convient d'avoir  $12 \times 10^6$  spz par dose pour insémination en semence fraîche.

**Tableau 16:** Nombre de doses de semence utilisables pour les mâles selon le rythme de collecte.

Rythmes	Sem. 1	Sem. 2	Sem. 3	Sem. 4	Moyenne par sem.	SEM (total)	<i>p</i>
1	895 <sup>a</sup>	827 <sup>a</sup>	834 <sup>a</sup>	831 <sup>a</sup>	847 <sup>E</sup>	4,28	0,54
2	1583 <sup>a</sup>	1600 <sup>a</sup>	1430 <sup>ab</sup>	1260 <sup>b</sup>	1468 <sup>D</sup>	4,28	0,16
3	2177 <sup>a</sup>	1882 <sup>b</sup>	1661 <sup>c</sup>	1520 <sup>d</sup>	1810 <sup>A</sup>	4,40	<0,001
4	2507 <sup>a</sup>	2065 <sup>b</sup>	1587 <sup>c</sup>	1065 <sup>d</sup>	1806 <sup>A</sup>	4,79	<0,0001
5	842 <sup>a</sup>	1642 <sup>c</sup>	2254 <sup>b</sup>	1597 <sup>c</sup>	1584 <sup>C</sup>	4,28	0,008
6	2898 <sup>a</sup>	1424 <sup>b</sup>	1360 <sup>b</sup>	805 <sup>c</sup>	1622 <sup>B</sup>	4,28	<0,0001
Moyenne					1523		

*Sem.* = semaine. (*a, b, c, d*) dans la même ligne et pour les mêmes rythmes, (*A, B, C, D, E*) dans la même colonne, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ).

Ainsi les rythmes ayant permis de produire le plus de spz dans la période sont par ordre décroissant : 3 et 4, puis 6, puis 5 puis 2 et loin derrière 1. Il est possible de noter que dans la 4<sup>e</sup> semaine, les rythmes 2, 3, 4 et 6 sont beaucoup moins productifs que dans les autres semaines (3,6 fois moins que la première semaine pour le rythme 6). De même que la première semaine du rythme 5 (deux éjaculats successifs une fois par semaine) par rapport aux autres semaines. Par contre, on note une production constante, sans différence significative pour les 4 semaines avec le 1<sup>er</sup> rythme ( $P > 0,05$ ) (Tableau 16).

Les résultats obtenus soulignent l'importance de la fréquence des collectes pour la production de sperme et la quantité de spermatozoïdes récoltés, par éjaculat, ou en moyenne par semaine. Concernant les caractères macroscopiques et microscopiques du sperme collecté durant notre travail, une bonne qualité de sperme collecté avec le rythme 1 (1 jour par semaine) avait une concentration moyenne de  $502.10^6 \pm 28,9$  spz / ml, un volume moyen de  $0,48 \pm 0,11$  ml, une libido moyenne de  $17,8 \pm 2,4$  secondes, une motilité massale moyenne de  $5,21 \pm 0,77$ , une motilité individuelle de  $3,36 \pm 0,56$ , un pourcentage de spz anormaux de  $10,1 \pm 1,5\%$ , et un pourcentage de spz morts de  $26,3 \pm 1,3\%$ .

Néanmoins les rythmes ayant permis de produire le plus de spz dans la période (en négligeant les effets saisonniers) sont par ordre décroissant : 3 et 4, puis les rythmes 6, 5, 2 et enfin le rythme 1.

A l'issue des résultats de ces essais, nous pouvons conclure que :

La réponse des lapins mâles à la sollicitation du vagin artificiel a présenté un faible taux de refus, mais aussi une bonne récolte utile. Les mâles semblent s'adapter à la récolte de sperme à l'aide d'un vagin artificiel conçu par nos soins, et qui pourrait être utilisé dans le cadre de l'insémination artificielle.

Les résultats obtenus soulignent l'importance de la fréquence des collectes pour la production de sperme en termes de quantité et de qualité. Ces données montrent qu'il est possible de faire plusieurs types de rythme de collecte avec un très bon taux de récolte, et une bonne quantité de spermatozoïdes hebdomadaires (moyenne des semaines) collectés.

Les moyennes de la plupart des caractéristiques du sperme obtenues dans notre étude montrent la nette supériorité du rythme extensif par rapport aux autres rythmes pour la qualité du sperme obtenu. Ce qui est en accord avec [Bencheikh.\(1995\)](#) qui montre chez la souche Hyplus que le rythme extensif permet de multiplier le nombre de spz par éjaculat du rythme intermédiaire par 1,6 et celui du rythme intensif par 2,3, en même temps, la qualité du sperme, appréciée par la motilité, est améliorée. De plus, le rythme extensif de récolte permet de réaliser la meilleure adéquation entre le nombre de spermatozoïdes par éjaculat et leur qualité, le nombre total par semaine et la gestion rationnelle des chantiers de collecte. Mais la quantité moyenne de semence utilisable par semaine est la plus faible.

La production de sperme a été très variable entre les mâles et selon les éjaculats pour un même mâle ; la fréquence des collectes influence directement la quantité et la qualité du sperme et de la semence. Un rythme de collecte trop intense altère la spermatogenèse (augmentation du nombre de spz immatures) et diminue les résultats de fertilité.

## V.2. Effet de la température et de la durée de stockage du sperme sur la qualité de la semence du lapin de la souche ITELV 2006

Les valeurs moyennes et les écart-types globaux des différents critères de l'analyse spermatique avant la conservation sont représentées dans le tableau 17.

Une note moyenne de 3,0 est attribuée à la couleur du sperme récolté pendant la période expérimentale. Le volume moyen de toutes les collectes de notre expérimentation est de  $0,48 \pm 0,11$  ml. Il est inférieur à celui prélevé chez différentes races (Californienne, Néo-Zélandaise Blanche et Chinchilla du Mexique) âgées entre 32 et 48 semaines (1,15 ml) (Salcedo-Baca et al., 2004).

Selon Boulbina et al.(2011) chez le lapin local algérien, le volume total collecté entre la 24<sup>ème</sup> et la 33<sup>ème</sup> semaine d'âge est estimé à 1,2 ml. Par ailleurs, chez les lapins hybrides, âgés entre 3 et 18 mois, le volume moyen du sperme était de 0,92 ml (Roca et al., 2005).

Le pH du sperme récolté au cours de l'expérimentation a été en moyenne de 6,86. Cette valeur est considérée comme normale et comparable à celle rapportée par Brun et al.(2006). Une variabilité du pH du sperme est révélée par les données de la littérature, entre les différentes souches et races étudiées (de 6,94 à 7,63) (Garcia-Tomas et al., 2006a ; Brun et al., 2002a ; Brun et al., 2009). La mesure du pH au pH-mètre doit être immédiate car le sperme s'acidifie rapidement suite à la formation d'acide lactique, résultant de l'utilisation des sucres par les spz (Alvarino, 1993).

La concentration affiche une moyenne de  $502 \pm 29$  millions de spz qui se rapproche des valeurs décrites par Boiti.(2005) et Nabi.(2013) pour le même âge. Nos résultats sont plus faibles que ceux enregistrés par Bencheikh.(1993), Brun et al.(2002a), Castellini et al. (2003), Theau-Clément et al.(2009) et Brun et al.(2006) chez la lignée L ( $634 \times 10^6$  spz/ml) et la lignée H ( $738 \times 10^6$  spz/ml). En effet, Boulbina.(2011) a trouvé une valeur moyenne plus élevée ( $642 \times 10^6$  spz et  $735 \times 10^6$  spz/ml) chez les lapins récoltés à partir de la 24<sup>ème</sup> semaine d'âge et jusqu'à la 33<sup>ème</sup> d'âge. Par ailleurs Safaa et al.(2008) indiquent des concentrations de  $703 \times 10^6$  spz /ml pour la race Baladi Noir et de  $590 \times 10^6$  spz/ml pour la race Néo-Zélandaise Blanche (en Egypte). Toutefois, des concentrations nettement plus faibles, de l'ordre de  $243 \times 10^6$  spz/éjaculat, ont été révélées chez différentes souches sélectionnées par l'INRA (1077, 2066, 2666 et 1001) (Theau-Clément et al., 2003 ; Brun et al., 2009) et de l'ordre de  $245 \times 10^6$  spz/ml pour les deux lignées C et R tel que rapporté par Garcia-Tomas et al.(2006a).

Les notes moyennes de motilités massale et individuelle ont été respectivement de  $5,21 \pm 0,77$  sur 9 et  $3,36 \pm 0,56$  sur 4. Néanmoins, les notes moyennes de motilités massale et individuelle s'avèrent faibles, *au-dessous* du seuil d'une bonne mobilité (motilité massale : aspect de vagues ( $\geq 6/9$ ) et motilité individuelle : progression rapide ( $\geq 3/4$ )) et souhaitable pour des inséminations (Boussit, 1989).

Cette faible motilité peut être un caractère propre de la souche, comme elle pourrait être expliquée par le faible nombre d'observations enregistrées dans une durée potentiellement courte. Les spz dans le sperme du lapin de souche synthétique se caractérisent par une motilité massale inférieure à celle mesurée chez les lapins de différentes origines (Bencheikh, 1995 ; Theau-Clément *et al.*, 2003 ; Brun *et al.*, 2006 et 2009).

En revanche, leur motilité individuelle est tantôt supérieure, tantôt plus faible que celles rapportées par les données bibliographiques et ce en fonction de l'origine génétique du lapin (Bencheikh, 1995 ; Garcia-Tomas *et al.*, 2006a).

Boulbina.(2011) a trouvé un taux faible de mobilité des spz, chez le lapin local (64,2%) et de 74,8% à un âge plus avancé chez la même population (entre 24 et 33 semaines). Brun *et al.*(2006) ont rapporté un taux de 76% en utilisant des mâles de lignées sélectionnées sur la croissance. La mobilité des spz semble s'améliorer avec l'âge (Salcedo-Baca *et al.*, 2004).

Chez le lapin, des travaux indiquent qu'une bonne motilité massale des spz accompagne un bon taux de gestation (Brun *et al.*, 2002b). Quel que soient les caractères considérés (volume, motilités, concentration), on a obtenu des valeurs plus faibles que celles enregistrées par Bencheikh.(1993), Brun *et al.*(2002b), Castellini *et al.*(2003), Brun *et al.*(2006) et Theau-Clément *et al.*(2009) (France).

En occurrence, Boulbina.(2011) a trouvé des valeurs moyennes plus élevées, à savoir le volume (0,86 ml), la motilité massale (7,68), la motilité individuelle (3,57), et la concentration ( $735 \times 10^6$  spz).

Les différences de volume et de concentration spermatique semblent être liées à l'origine génétique des lapins et au programme de sélection auquel ils seraient soumis. Il est important de souligner que les méthodes utilisées par ces différentes études étaient basées sur l'observation et le comptage, qui probablement sont une source supplémentaire de la variabilité des résultats (Cabannes, 2008), qui pourrait être estompée par l'utilisation de méthodes d'analyse assistées par ordinateur.

Selon Bodnar *et al.* (1996) le volume et la concentration spermatique sont altérés lorsque le rythme de collecte augmente. Selon les mêmes auteurs, un rythme de prélèvement extensif améliore la motilité et le pourcentage de spz vivants.

L'ensemble des éjaculats présente un pourcentage moyen de spz anormaux de  $14,4 \pm 4,05$  %. Les anomalies totales observées chez les spz sont en proportion équivalentes à celles rencontrées chez la race Néo-Zélandaise Blanche (Brésil) en moyenne 24,3% (Cardoso *et Bao*, 2007).

Toutefois, ce taux d'anomalies totales diminue avec l'âge de l'animal, et se rapproche de la valeur minimale rapportée par la littérature (entre 11,6 et 30,5%) (Khalil, 2002b ; Safaa *et al.*, 2008 ; Garcia-Tomas *et al.*, 2006a).

**Tableau 17** : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du sperme frais.

	<i>N</i>	<i>moy</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>
<b>Couleur</b>	80	3,00	0,00	3—3
<b>pH</b>	80	6,86	0,12	6,66—7,20
<b>Volume (ml)</b>	80	0,48	0,11	0,23—0,80
<b>Motilité massale</b>	80	5,21	0,77	4—6
<b>% MM</b>	80	82,86	7,82	60--95
<b>Motilité individuelle</b>	80	3,36	0,56	2—4
<b>Pourcentage de spz vivants</b>	80	73,69	1,29	70—76
<b>con x106 spz/ml</b>	80	502	28,9	437-564

*N* : nombre d'éjaculats ; *moy* : moyenne ; *ETM* : écart type de la moyenne ; *Distr* : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; *con* : concentration ; *spz* : spermatozoïdes.

Les valeurs moyennes et les écart-types globaux des différents critères de l'analyse spermatique après conservation sont représentées dans le tableau 18.

Les résultats obtenus nous permettent de déduire que la motilité d'ensemble diminue au fil du temps de conservation, passant de  $5,21 \pm 0,77$  à 24h vs 0 à 96h. Alors qu'on a enregistré des valeurs variables pour les températures de conservation avec une détérioration des caractéristiques étudiées à partir de 72h pour les différentes températures de conservation.

L'effet de la durée et de la température de conservation sur la motilité et la vitalité de la semence est représenté à la figure 34, les résultats ont montré que tous les paramètres des spz ont diminués avec le temps de stockage ( $P < 0,05$ ), quelle que soit la température de réfrigération utilisée. Cela est comparable avec l'étude d'El-Gaafary (1994), utilisant un

diluant Tris-jaune, qui a constaté que les spermatozoïdes refroidis et stockés à 5°C pendant 24 h, avaient une motilité moyenne de 45% se baissant à 25% après 48 heures. Cette forte baisse de la viabilité du sperme pendant tout le temps de conservation peut être due à la température de refroidissement. La température comme cause de perturbation du spermatozoïde de lapin n'a pas été établie, cependant des études comparant diverses températures de conservation du sperme de lapin concluent que 15 °C est plus approprié que 5 ° C (Roca *et al.*, 2000).

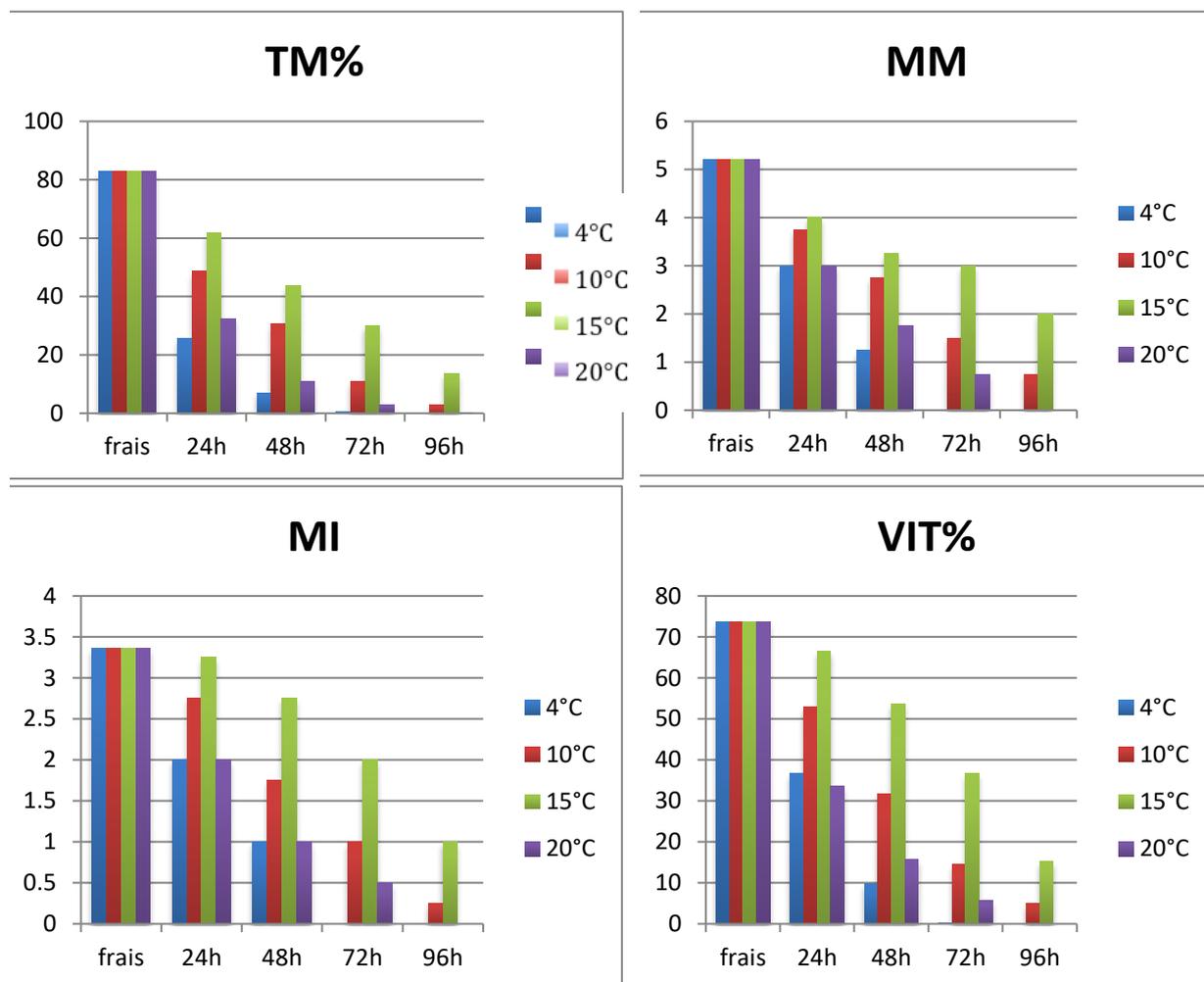
**Tableau 18:** Les caractéristiques de vitalité et de motilité de la semence conservée.

	°C	frais	24h	48h	72h	96h	ESM	P
TM (%)	4	82,86 ±7,82 <sup>a</sup>	25,50±1,12 <sup>e</sup>	07±2,24 <sup>gh</sup>	0,50±0,87 <sup>i</sup>	00 <sup>i</sup>	1,014	< 0,0001
	10		48,75±1,30 <sup>c</sup>	30,75±2,16 <sup>d</sup>	11±10 <sup>fg</sup>	2,75±0,83 <sup>hi</sup>		
	15		61,75±2,05 <sup>b</sup>	43,75±2,38 <sup>c</sup>	30±2,12 <sup>de</sup>	13,5±1,50 <sup>f</sup>		
	20		32,50±1,80 <sup>d</sup>	±2,24 <sup>fg</sup> 11	03±0,71 <sup>hi</sup>	±0,43 <sup>i</sup> 0,25		
MM	4	5,21 ± 0,77 <sup>a</sup>	03 <sup>cd</sup>	1,25±0,43 <sup>fg</sup>	00 <sup>h</sup>	00 <sup>h</sup>		
	10		3,75±0,43 <sup>bc</sup>	2,75±0,43 <sup>de</sup>	1,5±0,5 <sup>fg</sup>	0,75±0,43 <sup>gh</sup>		
	15		4 <sup>b</sup>	3,25±0,43 <sup>bcd</sup>	3 <sup>cd</sup>	2 <sup>ef</sup>		
	20		3 <sup>cd</sup>	±0,43 <sup>f</sup> 1,75	±0,43 <sup>gh</sup> 0,75	00 <sup>h</sup>		
MI	4	3,36 ± 0,56 <sup>a</sup>	2 <sup>bc</sup>	1 <sup>de</sup>	00 <sup>f</sup>	00 <sup>f</sup>		
	10		2,75±0,43 <sup>ab</sup>	1,75±0,43 <sup>cd</sup>	1 <sup>de</sup>	0,25±0,43 <sup>ef</sup>		
	15		±0,43 <sup>a</sup> 3,25	±0,43 <sup>ab</sup> 2,75	2 <sup>bc</sup>	1 <sup>de</sup>		
	20		2 <sup>bc</sup>	1 <sup>de</sup>	±0,5 <sup>ef</sup> 0,5	00 <sup>f</sup>		
VIT (%)	4	73,69 ±1,29 <sup>a</sup>	36,75±1,78 <sup>d</sup>	9,75±1,09 <sup>ef</sup>	0,25±0,43 <sup>g</sup>	00 <sup>g</sup>		
	10		±1,87 <sup>c</sup> 53	31,75±1,48 <sup>d</sup>	±1,8 <sup>e</sup> 14,5	5±1,22 <sup>fg</sup>		
	15		±1,12 <sup>b</sup> 66,5	±2,38 <sup>c</sup> 53,75	36,75±5,17 <sup>d</sup>	±2,77 <sup>e</sup> 15,25		
	20		33,5±2,18 <sup>d</sup>	±3,11 <sup>e</sup> 15,75	±0,83 <sup>f</sup> 5,75	00 <sup>g</sup>		

(a, b, c, d, e, f, g, h, i) dans la même ligne et pour le même paramètre, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement (P>0,05).

Il existe des interactions entre la température et le temps de stockage (P <0,05) sur toutes les paramètres évalués. Après 72 heures de conservation, la qualité de la semence conservée à 15°C a fourni des meilleurs résultats avec une différence significative (p <0,05) pour tous les paramètres étudiés par rapport aux autres températures utilisées. En effet, l'étude in vitro de Roca.(2000) a démontré que 15° C peut être une température adéquate pour stocker le sperme de lapin lorsque des extensions de tampon Tris sont utilisées. Castellini.(1996) a conclu que les tampons inorganiques ont un pouvoir tampon limité tandis que les tampons organiques, comme le Tris, sont plus appropriés pour le stockage du sperme de lapin à basses températures.

L'utilisation efficace de la semence réfrigérée pour l'IA dépend de la vitalité et de la motilité des spermatozoïdes après le stockage. Dans notre étude la comparaison de la qualité de la semence conservée à 4°C et 20°C dans le même temps de stockage, n'affiche aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les spz examinés pour les paramètres de viabilité et motilité.



**Figure 34:** l'évolution des paramètres de variation de la semence durant la période de conservation (TM: taux de mobilité ; MM: motilité massale ; MI: motilité individuel ; VIT: taux de vitalité).

La qualité des spz était plus élevée ( $P < 0,05$ ) pour les semences conservées durant 24h par rapport aux autres durées. Les spz examinés à 96 h ont montré les paramètres les plus faibles ( $P < 0,05$ ).

Des études antérieures pour évaluer la fertilité du sperme stocké chez le lapin ont été menées dans le cadre de conditions expérimentales (El-Gaafary, 1994; Maertens et Luzi, 1995). Elles ont considéré que le taux de conception ne diminuait pas lorsque le sperme était stocké à 20° C pendant 6 h après dilution dans un diluant commercial à base de Tris Maertens

et Luzi.(1995). Alors que El-Gaafary.(1994) a montré une chute importante des taux de mise bas lorsque le sperme était conservé à 5 °C pendant 24 et 48 h après dilution dans un diluant Tris-jaune.

La température de stockage du sperme est un facteur important permettant de conserver le pouvoir fertilisant des spermatozoïdes de lapin (López et al., 1996) et la température de 15°C semble être meilleure que les températures 4° C, 10°C et 20°C avec une durée de conservation ne dépassant pas les 72h et l'utilisation des extensions de tampon Tris.

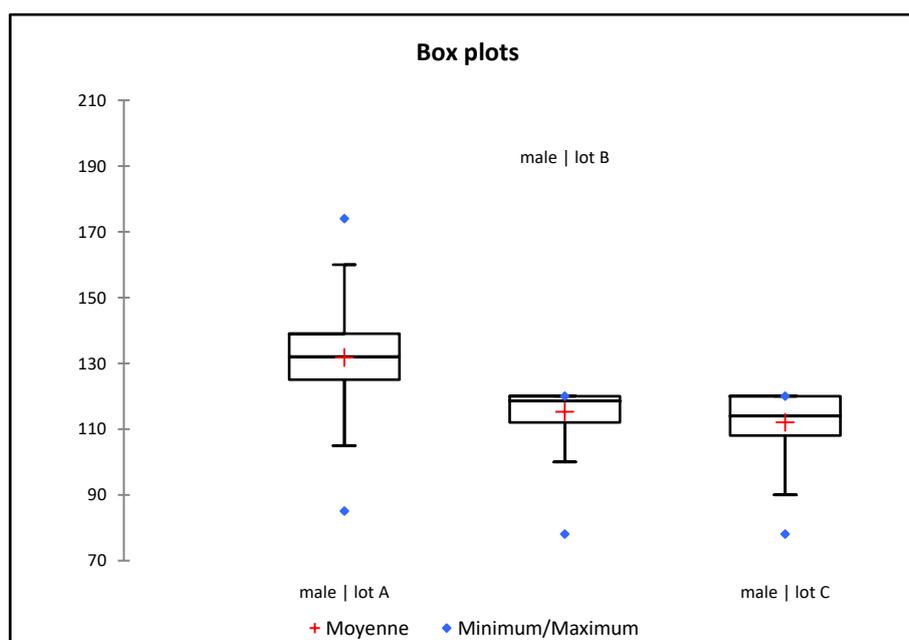
### **V.3. Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur *la libido* et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche ITELV 2006**

### V.3.1. La consommation alimentaire

Les quantités moyennes ingérées durant la période expérimentale varient en fonction des lots et des individus (Figure 35), les lapins du lot C où la ration est supplémentée par les peptones de viande consomment la quantité d'aliment la plus faible ( $112,1 \pm 7,8$ g), suivi par les animaux du lot rationné B ( $115,2 \pm 6,6$ g), alors que les lapins du lot témoin (A) ingèrent la plus grande quantité d'aliment ( $131,7 \pm 10,9$ g) (Tableau 19).

**Tableau 19:** La consommation alimentaire moyenne des mâles des trois lots expérimentaux.

	lot A	lot B	lot C
<b>Nb. d'observations</b>	600	600	600
<b>Min – Max (g)</b>	85-174	78-120	80-120
<b>Moyenne (g/j)</b>	132 ( $\pm 11$ )	115 ( $\pm 7$ )	112 ( $\pm 8$ )



**Figure 35 :** La consommation alimentaire des mâles des trois lots expérimentaux.

### V.3.2. Evolution du poids corporel

Nos résultats indiquent une variation du poids vif relativement faible en fonction des lots et des individus. On s'attendait à un gain de poids plus important pour les mâles du 3<sup>ème</sup> lot, supplémentés en protéines. Par contre, les résultats montrent des valeurs significativement plus élevées en faveur des animaux du lot témoin A, comparativement aux deux autres lots ( $P < 0,05$ ) (Tableau 20), (Figure 36).

**Tableau 20:** Poids corporel moyen et gain de poids moyen pour les trois lots expérimentaux.

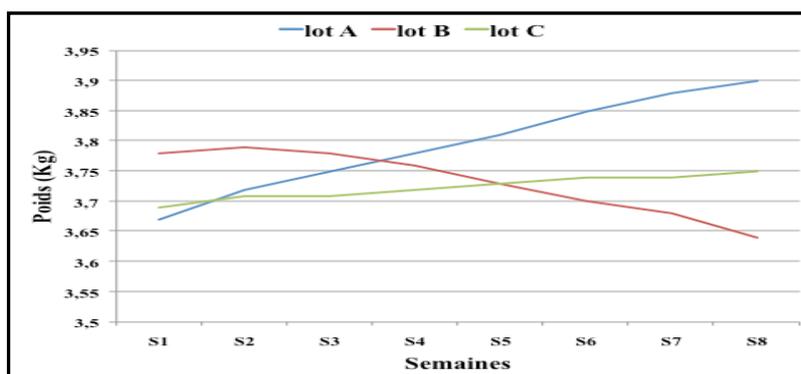
	<i>lot A</i>	<i>lot B</i>	<i>lot C</i>
<b>Nb. d'observations</b>	72	72	72
<b>Poids initial (g)</b>	3671 <sup>b</sup>	3775 <sup>a</sup>	3690 <sup>ab</sup>
<b>Poids final (g)</b>	3900 <sup>a</sup>	3641 <sup>c</sup>	3749 <sup>b</sup>
<b>Ecart moyen (g)</b>	+229 <sup>a</sup>	- 134 <sup>c</sup>	+59 <sup>b</sup>
<b>Comparaison</b>	<i>lot A vs C</i>	<i>lot A vs B</i>	<i>lot B vs C</i>
<b>ESM</b>	5,12	4,50	0,62
<b>Valeur critique</b>	2,92	2,92	2,92
<b>p.</b>	<0,0001	<0,0001	0,810

(a, b, c) dans la même ligne, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ).

Valeur critique du d de Tukey : 3,41

De nombreux auteurs ont montré un effet dépressif du rationnement des mâles reproducteurs sur leurs poids. En effet, [Luzi et al. \(1996\)](#) ont rapporté que les mâles rationnés juste au besoin d'entretien, soit : 114 à 125 g/jour ou encore 75-80% de *l'ad libitum*, présentent un poids vif réduit (4,0 vs 4,8 kg). D'autres études ont noté que chez le lapin de la race Néo-Zélandaise, l'ingestion augmente moins rapidement que le poids vif car le lapin régule son ingestion selon son besoin énergétique ([Lebas et Gidenne, 2005](#)).

Dans notre étude, les conditions de l'expérimentation, étaient maîtrisées dans le bâtiment d'élevage afin de supprimer l'effet des températures élevées de la saison estivale (climatiseurs placés dans le bâtiment permettant de maintenir la température à 25°C).



**Figure 36:** L'évolution du poids moyen des 9 lapins de chaque lot au cours des 8 semaines d'essai

### V.3.3. Evaluation de la production spermatique chez les lapins

#### V.3.3.1. Taux de récolte utile des lapins

En général, nous avons obtenu un taux global de récoltes utiles élevé 100%. Les éjaculations donnant lieu à des éjaculats avec du gel représentent 26,05% avec une prédominance significative pour le premier éjaculat comparé au second (18,88% vs 7,17%).

Le refus de la collecte est nul au cours des 8 semaines d'expérimentation. Contrairement à [Boulbina.\(2011\)](#), qui a signalé que le taux de refus était plus élevé dans un essai de 6 semaines par rapport à un essai de 16 semaines (3,6% vs 1,6%). [Bencheikh.\(1993\)](#) a noté que quelque soit le rythme de collecte, les valeurs de refus restent faibles, et il indique que la réponse des mâles à la collecte, peut constituer une caractéristique de la souche. Le refus des mâles INRA A2066 et celui de mâles INRA 1077 était respectivement de 1,7% et 8,2% ([Bencheikh,1993](#)).

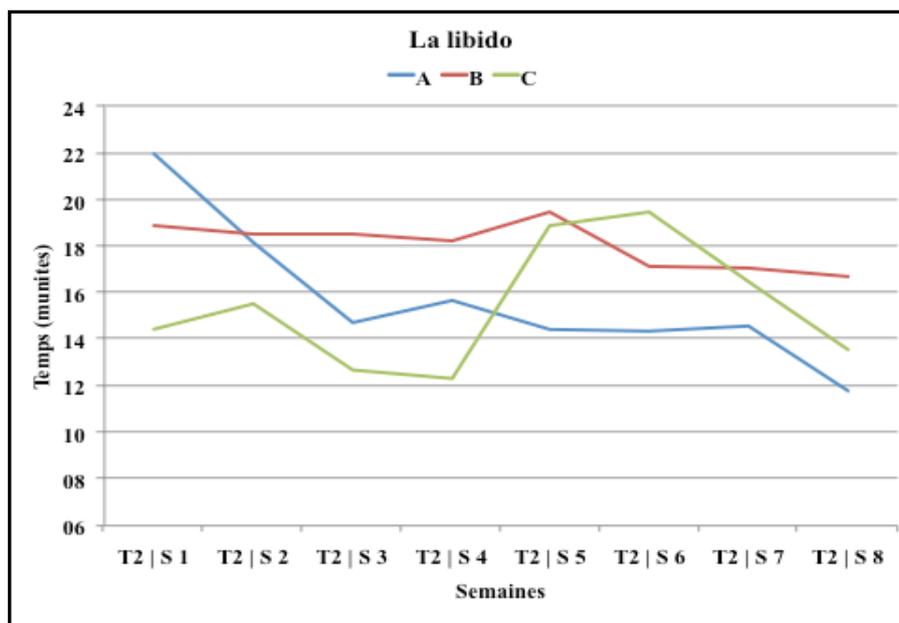
Le pourcentage de présence d'urine, ou celui des éjaculats à volume réduit s'avère nul, contrairement aux résultats de [Boulbina.\(2011\)](#) qui a rapporté un pourcentage de 4,8% pour la population locale algérienne. [Bencheikh.\(1993\)](#) a trouvé un taux d'éjaculats avec urine de 13,4% et 6,5% respectivement chez les mâles des souches A2066 et A1077. [Brun et al.\(2006\)](#) ont trouvé un taux de 4,7 et 13,9% respectivement pour les lignées L et H.

Le refus de la collecte nul de notre expérimentation ne pourrait être expliqué par l'adaptation et l'entraînement des mâles avant l'expérimentation d'une part et d'autre part, à la bonne maîtrise de la technique de récolte.

### **V.3.3.2. Evolution hebdomadaire de l'ardeur sexuelle et des caractéristiques de la semence**

#### **V.3.3.2.1. Ardeur sexuelle ou libido**

Le temps séparant la présentation de la femelle boute- en-train du chevauchement (T1) est en moyenne de 9,53;11,85 et 9,53 secondes pour les lots A , B et C respectivement. Le temps séparant la présentation de la femelle et l'éjaculation (T2) est en moyenne de 15,71 secondes pour le lot A,18,09 pour le lot B et 15,43pour le lot C, avec un temps significativement prolongé des mâles de lot B avec une probabilité  $P<0,05$ . Ainsi la moyenne de la libido sur toute la période d'essai est de  $16.41 \pm 3,4$  sec (Figure 37). Il semblerait que les T2 se révèlent plus proches que ceux étudiés par [Lankri et al.\(2019\)](#) pour la même souche synthétique (14,9 secondes) et que ceux enregistrés par [Bencheikh.\(1993\)](#) pour les souches A 2066 et A 1077, les moyennes de T2 de ces deux souches étant respectivement de 14 et 18 secondes. [Boulbina.\(2011\)](#) signale chez les mâles de la population locale algérienne, une libido (T2) moyenne de 14,5.



**Figure 37:** Effet du type d'alimentation sur la libido

### V.3.3.2.2. Caractéristiques de la semence

#### - Caractéristiques macroscopiques

L'analyse macroscopique de la semence des mâles des trois lots ne révèle aucune différence apparente de couleur de la semence. Selon la grille déterminant la couleur du sperme de [Roca et al.\(1993\)](#), une note proche de 3 a été attribuée pour les trois lots expérimentaux avec le symbole BN pour le blanc nacré. Les valeurs de pH déterminées sur les spermatozoïdes des trois lots ne montrent aucune différence significative ; elles sont en moyenne de  $7,06 \pm 0,27$  ;  $7,06 \pm 0,23$  et  $7,03 \pm 0,25$  respectivement pour les lots A, B et C. Ces valeurs sont considérées comme normales et comparables à celle rapportée par [Lankri et al. \(2019\)](#) et [Brun et al.\(2006\)](#).

Pour le volume des éjaculats des trois lots, les valeurs oscillent autour d'une moyenne de 0,48 ml (Tableau 21). Nos résultats en termes de volume se rapprochent des valeurs décrites par [Lankri et al.,\(2019\)](#) ; [Boiti.\(2005\)](#). Nous avons obtenu des valeurs plus faibles que celles enregistrées par [Bencheikh.\(1993\)](#), [Castellini et al. \(2003\)](#), [Brun et al. \(2006\)](#) et [Theau-Clément et al.\(2009\)](#). [Boulbina.\(2011\)](#) rapporte des valeurs moyennes supérieures, à savoir un volume de 0,86 ml.

#### - Caractéristiques microscopiques

Les caractéristiques microscopiques de la semence des mâles de la souche synthétique (concentration, les motilités massale et individuelle) sont relativement faibles et similaires à

celles signalées par [Nabi.\(2013\)](#), sur les lapins mâles de population blanche et élevés dans la région de Tizi-Ouzou, qui obtient une concentration moyenne de  $428,94 \times 10^6$  spz. Par contre, [Boulbina.\(2011\)](#), sur les lapins de population locale enregistre des valeurs moyennes plus élevées pour les caractères de motilité massale (7,68), motilité individuelle (3,57), et de concentration ( $734,9 \times 10^6$  spz).

Nos résultats sont également inférieurs à ceux signalés par plusieurs auteurs sur les souches INRA ([Bencheikh, 1993](#) ;[Brun et al., 2006](#) ;[Theau-Clément et al., 2009](#)).

#### V.3.4. Effet du niveau d'alimentation et de la supplémentation protéique

Le plus bas niveau de protéines (14,5%) dans le régime B rationné de 120g/j a donné des temps de libido significativement plus longs et des taux de vitalité et des anomalies des spermatozoïdes plus faibles que dans les deux autres groupes. En ce qui concerne la quantité d'aliments à administrer à des mâles, [Luzi et al.\(1996\)](#) montrent qu'un protocole diététique restreint réduit la libido et certains coups séminaux. Cependant, le plus important facteur n'est pas la quantité de diète fournie, mais ses caractéristiques chimiques.

Nos résultats montrent que le rationnement et la supplémentation ne semblent pas influencer les caractéristiques de la semence (mis à part la libido, les anomalies, le % de vitalité) (Figure 38), car aucune différence significative n'a été révélée. cela pourrait être lié à la courte durée de l'expérimentation. En revanche, [Luzi et al.\(1996\)](#) ont conclu que le rationnement réduit significativement le poids vif, la libido et diminue le volume des éjaculats ainsi que le nombre de spermatozoïdes par éjaculat.

Par contre, dans cette même expérimentation, les auteurs n'observent aucune influence du taux protéique (14,5% ou 19,7%) sur les caractéristiques de la semence de ces mâles. Les différentes études relatives à l'effet de la teneur protéique de l'aliment sur les caractéristiques de la semence recommandent un taux optimal de 14,5% ([Luzi et al., 1996](#)).

En revanche, [Castrovilli et al.\(1995\)](#), ont trouvé une concentration (spz/ml) faible avec une augmentation du taux de protéines (13-17-21%) sans changement du volume de l'éjaculat.

Le contenu protéique du régime a, au contraire, considérablement influencé la qualité des semences et les paramètres de fertilité observés *in vivo*, soulignant, ainsi la nécessité de ne pas abaisser les teneurs en protéines brutes de moins de 15% dans l'alimentation. ([Nizza et al., 2000a](#)).

Pour l'alimentation d'un lapin mâle reproducteur, la composition de l'aliment distribué a

**Tableau 21:** Effet du type d'alimentation sur la libido et les caractéristiques de la semence. plus d'importance que le niveau d'alimentation lui-même (Lebas, 2014 ; Nizza et al., 2000a).

Par ailleurs, les taux de lysine et de méthionine dans l'alimentation des lapins mâles influencent peu la libido et la qualité de la semence (Nizza et al., 2000b).

D'après Nizza.(2000a), l'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculât et de la concentration en spermatozoïdes. Les régimes contenant plus de 15% de protéines brutes sont recommandés pour assurer une production de sperme appropriée (Nizza et al., 2000a).

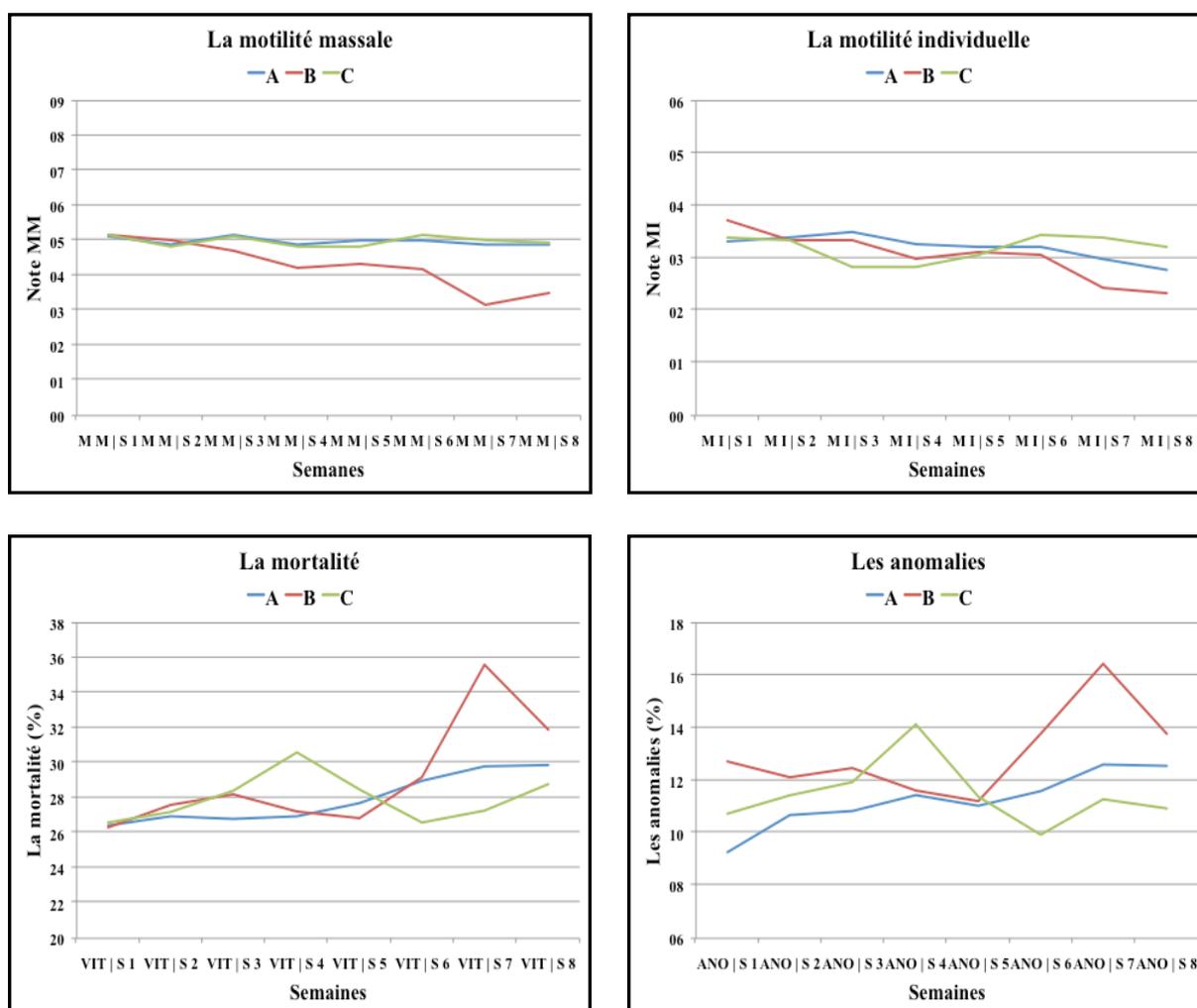


Figure 38: Effet du type d'alimentation sur les caractéristiques des spz

<i>Anormaux %</i>	113 <sup>b</sup> (±1,6)	13,0 <sup>a</sup> (±3,0)	11,5 <sup>b</sup> (±2,0)
<i>Morts %</i>	27,9 <sup>b</sup> (±2,3)	29,1 <sup>a</sup> (±4,3)	28,0 <sup>b</sup> (±2,4)
<i>Concentra. x 10<sup>6</sup> spz/ml</i>	450 <sup>a</sup> (±52)	438 <sup>a</sup> (±57)	446 <sup>a</sup> (±55)
<i>Motilité individ.</i>	3,21 <sup>a</sup> (±0,50)	3,04 <sup>b</sup> (±0,64)	3,19 <sup>ab</sup> (±0,51)
<i>Motilité massale</i>	4,99 <sup>a</sup> (±0,52)	4,28 <sup>b</sup> (±0,87)	5,00 <sup>a</sup> (±0,54)
<i>pH</i>	7,06 <sup>a</sup> (±0,27)	7,06 <sup>a</sup> (±0,23)	7,03 <sup>a</sup> (±0,25)
<i>Couleur</i>	2,99 <sup>a</sup> (±0,12)	2,84 <sup>b</sup> (±0,37)	2,99 <sup>a</sup> (±0,12)
<i>Volume (ml)</i>	0,48 <sup>a</sup> (±0,10)	0,48 <sup>a</sup> (±0,11)	0,48 <sup>a</sup> (±0,10)
<i>T2 (sec)</i>	15,71 <sup>b</sup> (±4,01)	18,09 <sup>a</sup> (±2,40)	15,43 <sup>b</sup> (±3,96)
<i>T1 (sec)</i>	9,53 <sup>b</sup> (±3,10)	11,85 <sup>a</sup> (±2,24)	9,53 <sup>b</sup> (±3,08)
	<b>Lot A</b>	<b>Lot B</b>	<b>Lot C</b>

(a, b) dans la même colonne, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ).

# *Conclusion*

## Conclusion

L'objectif de ce travail vise à étudier l'effet de quelques facteurs de réussite de l'insémination artificielle liés au mâle (la fréquence des prélèvements, l'alimentation par la supplémentation protéique, la température et la durée de stockage de la semence) sur les variabilités des caractères de la semence, et à collecter des éjaculats ayant un nombre maximal de spz durant une période déterminée, afin d'obtenir un maximum de doses utilisables.

De point de vue quantitatif et qualitatif, nous avons montré que le rythme extensif avec une seule récolte par semaine est le meilleur. Nous constatons, par ailleurs, que ce rythme est le moins important par rapport aux autres fréquences, en tenant compte de la quantité totale de la semence produite par semaine. Le 3<sup>ème</sup> rythme de récolte (intensif, 3 fois par semaine) et le 4<sup>ème</sup> rythme (très intensif, 4 fois par semaine) ont réalisé les nombres les plus élevés de spz par semaine et aussi les nombres de doses utilisables les plus intéressants.

Les diluants à tampon Tris sont efficaces pour la dilution et le stockage de sperme de lapin à 15 ° C durant 72h. L'effet de la durée et de la température de conservation sur la motilité et la vitalité de la semence a montré que tous les paramètres des spz sont diminués avec le temps de stockage ( $P < 0,05$ ), quelle que soit la température de réfrigération utilisée.

Néanmoins, Après 72 heures, la qualité de la semence conservée à 15°C a fourni des meilleurs résultats avec une différence significative ( $p < 0,05$ ) pour tous les paramètres étudiés par rapport aux autres températures utilisées. Cette qualité était plus élevée ( $P < 0,05$ ) pour les semences conservées durant 24h par rapport aux autres durées. Alors qu'on ne peut jamais revenir à la qualité initiale de la semence fraîche.

La comparaison de la qualité de la semence conservée à 4°C et 20°C sur une même durée de stockage, n'affiche aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les spz examinés pour les paramètres de viabilité et motilité.

La température de 15°C semble être meilleure que les températures 4° C, 10°C et 20°C avec une durée de conservation ne dépassant pas les 72h. L'utilisation des extensions de tampon Tris sont efficaces pour la dilution et le stockage de sperme de lapin à 15 ° C durant 72h.

La consommation alimentaire journalière moyenne des lapins mâles de la souche synthétique est de  $120 \pm 8$ g/j. Néanmoins les lapins ont bien réagi aux sollicitations avec un taux de récolte utile de 100% et une moyenne de l'ardeur sexuelle de 16,4secondes, avec un temps plus court pour le lot C.

L'analyse de la semence montre que les trois lots présentent une production spermatique moyenne; les lapins mâles produisent un volume moyen de 0,48ml, avec une concentration moyenne de  $444,58 \pm 54,83 \times 10^6$  spz/ml. L'analyse de la motilité donne une note moyenne de  $\approx 5/9$  (bonne) et  $\approx 3/4$  (bonne) respectivement pour les motilités massale et individuelle.

Nous signalons que notre expérimentation a été menée sur un échantillon réduit de mâles et sur une période courte. Il serait donc nécessaire de compléter cette étude préliminaire par des essais portant sur un plus grand effectif et sur différentes modalités. À ce propos, plusieurs paramètres importants seraient à développer.

- Pour distinguer les facteurs génétiques des facteurs phénotypiques, il est recommandé d'utiliser un échantillon beaucoup plus important, pour pouvoir calculer l'héritabilité de chaque caractère et voir l'influence de l'environnement sur les variations de ces paramètres. Un effectif élevé, en incluant de jeunes lapins serait intéressant à mettre en place pour confirmer l'effet de l'aliment sur les performances des lapins reproducteurs.

- Une bonne connaissance et une meilleure gestion des besoins nutritionnels, en tenant compte d'autres éléments nutritionnels (énergétiques,...).

- Une bonne maîtrise de la collecte de la semence du lapin par le préleveur car la relation entre celui-ci et l'animal occupe une place prépondérante dans la réussite de la collecte.

***PRODUCTION  
SCIENTIFIQUE***

## Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006

**E Lankri, K Boudour, A Aichouni, F Rechachou**

*Université Hassiba Benbouali, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département des sciences agronomiques et biotechnologie, Chlef, (Algérie)*

[lankri2006@yahoo.fr](mailto:lankri2006@yahoo.fr)

### Résumé

L'effet du rythme de collecte du sperme récolté au vagin artificiel sur un ensemble de caractères de production des spermatozoïdes (spermogramme : motilité massale et individuelle, taux de spermatozoïdes (spz) vivants, volume du sperme, concentration et nombre de spz vivants par éjaculat récolté) a été analysé entre mars et juillet chez des lapins reproducteurs de souche synthétique ITELV 2006 en Algérie. Pendant 4 semaines, 6 différents rythmes ont été comparés sur 10 mâles chacun : 1- rythme extensif de 2 éjaculats successifs un jour par semaine (n = 80 éjaculats), 2- rythme intermédiaire de 2 éjaculats successifs 2 fois par semaine à 3-4 jours d'intervalle (n = 159), 3- rythme intensif de 2 éjaculats successifs 3 fois par semaine à 72h d'intervalle (n = 228), 4- rythme très intensif avec 2 éjaculats successifs 4 fois par semaine à 48h d'intervalle (n = 155), 5- rythme ascendant de 4 fréquences différentes (n = 194), 6- rythme descendant de 4 fréquences différentes (n = 188). Le sperme récolté une fois par semaine (rythme 1) a eu une meilleure qualité pour l'insémination artificielle : concentration =  $502 \pm 29.10^6$  spz / ml, volume =  $0,48 \pm 0,11$  ml, motilité massale =  $5,21 \pm 0,77$ , motilité individuelle =  $3,36 \pm 0,56$ , libido =  $17,8 \pm 2,4$  secondes, pH =  $6,86 \pm 0,12$ . Les rythmes les plus productifs (nombre moyen de doses de semence utilisables par semaine) ont été les rythmes intensifs 3 et 4 avec le sperme récolté 3 fois ou 4 fois par semaine.

**Mots-clés** : *insémination artificielle, rythme de collecte, semence, spermatozoïde, spermogramme.*

## Effect of frequency of collecting sperm on the quality of the semen in the rabbit line ITELV 2006

### Abstract

The effect of the collection rate of sperm collected on the artificial vagina on a set of spermatozoa production characteristics (spermogram: mass and individual motility, spermatozoa (spz) level, sperm volume, concentration and number of live spz per ejaculate harvested) was analyzed between March and July in ITELV 2006 synthetic breed rabbits in Algeria. During 4 weeks, 6 different rhythms were compared on 10 males each: 1- extensive rhythm of 2 successive ejaculates one day a week (n = 80 ejaculates), 2- intermediate rhythm of 2 successive ejaculates 2 times a week at 3-4 days apart (n = 159), 3- intensive rhythm of 2 successive ejaculates 3 times a week from 48 to 72h intervals (n = 228), 4- very intensive rhythm with 2 successive ejaculates 4 times a week 24 to 48h intervals (n = 155), 5- ascending rhythm of 4 different frequencies (n = 194), 6- descending rhythm of 4 different

frequencies (n = 188). The sperm collected once a week (rhythm 1) had a better quality for artificial insemination: concentration =  $502 \pm 29.10^6$  spz / ml, volume =  $0,48 \pm 0,11$  ml, mass motility =  $5,21 \pm 0,77$ , individual motility =  $3,36 \pm 0,56$ , libido =  $17,8 \pm 2,43$  seconds, pH =  $6,86 \pm 0,12$ . The most productive rhythms (mean number of usable semen doses per week) were the intensive rhythms 3 and 4 with the sperm harvested 3 times or 4 times a week.

**Key words:** artificial insemination, collection rate, semen, spermatozoon, spermogram.

## Introduction

L'insémination artificielle (IA) chez le lapin est en cours de développement en Algérie. Ce mode de reproduction a permis la mise en place d'un nouveau système de production : "la conduite en bande" et une meilleure organisation des élevages. Selon Alvarino (2000) le mâle est la base du succès de la reproduction. Le lapin mâle joue un rôle très important dans la réussite et dans la rentabilité d'un élevage cunicole car il influence la fertilité et la prolificité d'environ 8 à 11 lapines lorsqu'on pratique la saillie naturelle (Roca 1994, Osechas et Becerra 2006) et 100 lapines lorsqu'on pratique l'insémination artificielle (Eid 2008).

Un aspect important est la détermination des conditions d'utilisation du mâle, afin d'obtenir une quantité optimale et de bonne qualité de sperme donc de semence. Dans ce contexte s'inscrit notre objectif : il s'agit d'estimer l'influence du rythme de récolte du sperme sur les caractéristiques des éjaculats recueillis chez des lapins de souche synthétique ITELV2006.

Cette souche a été créée en 2003 dans le cadre d'un programme de coopération entre INRA et l'ITELV ; elle a été obtenue par un croisement initial entre la population locale algérienne et la souche INRA 2666 (Gacem et Bolet 2005).

Bien que la production de sperme soit très variable entre les mâles et selon les éjaculats pour un même mâle, la fréquence des collectes ainsi que la saison de collecte influencent directement la quantité et la qualité du sperme et donc de la semence (Joly et Theau-Clément 2000).

Différentes études ont rapporté l'effet du rythme de prélèvement sur la qualité du sperme en utilisant des protocoles différents. Le nombre de prélèvements par jour peut varier de 1 à 4 (Bodnar et al 1996 ; Bunaciu et al 1996 ; Lopez et al 1996 ; Mocé et al 2000a). A partir du 3ème prélèvement, le volume, la concentration et le nombre des doses pour l'insémination diminuent (Lopez et al 1996). Le nombre de jours de collecte par semaine peut varier d'un jour de prélèvement (Bencheikh 1995 ; Bunaciu et al 1996 ; Arroita et al 2000 ; Mocé et al 2000a) à 7 avec des prélèvements journaliers (Bodnar et al 1996). Dans ce cas, le volume et la concentration spermatique sont altérés lorsque le rythme de collecte augmente (Bencheikh 1995 ; Bodnar et al 1996 ; Bunaciu et al 1996 ; Arroita et al 2000) tandis que le nombre de spermatozoïdes prélevés par semaine est plus élevé dans les rythmes les plus intenses (Bencheikh 1995 ; Nizza et al 2003). L'intérêt pratique à viser est d'obtenir un maximum de doses de semences utilisables en un temps donné et pendant la vie du mâle en respectant au mieux le bien-être des lapins.

Notre travail, qui rentre dans le cadre d'une thèse de doctorat de faculté de la SNVde

l'Université de Chlef, vise à étudier l'effet de la fréquence de collecte du sperme sur cette production de sperme de mâles de la souche ITELV 2006, à travers un ensemble de caractéristiques aussi bien quantitatives que qualitatives.

## **Animaux, matériels et méthodes**

A l'Université de Chlef, 25 lapins adultes dont 5 mâles et 20 femelles de la souche hybride synthétique ITELV2006 ramenés de l'Institut technique d'élevage de Baba Ali d'Alger, se sont reproduits depuis leur mise en place le 7 février 2017. Après une année d'élevage et de suivi de production, 60 lapins mâles ont été utilisés pour l'essai, 10 par modalité expérimentale, âgés de 7,5 à 8 mois, donc au moment de leur maturité sexuelle. En effet, la maturité sexuelle, définie par le moment ou le nombre de spermatozoïdes (spz) récoltés par jour n'augmente plus, serait atteinte vers l'âge de 32 semaines (Amann et Lambiase 1967). Cependant, des spzs sont présents dans l'éjaculat à la puberté dès l'âge de 16 semaines (Martinet 1974). Le poids moyen en début d'essai était de  $3,70 \pm 0,13$  kg et les mêmes conditions de logement ont été utilisées. Les animaux étaient nourris de granulés pour lapins équilibrés et abreuvés *ad libitum* et placés dans des cages individuelles grillagées (75 cm de longueur, sur 46 cm de largeur et 28 cm de l'hauteur) à l'intérieur d'un bâtiment climatisé.

La collecte du sperme a été réalisée pour les six lots dans une période de 5 mois (de mars à juillet) selon le protocole suivant :

Pour le premier lot deux éjaculats successifs un seul jour par semaine (jeudi).

Le deuxième lot : deux prélèvements successifs deux fois par semaine à trois à quatre jours d'intervalle (vendredi et mardi). Ces deux lots (1 et 2) ont été prélevés 4 semaines de suite dans le même mois pendant 30 jours (mars).

Le troisième lot : deux éjaculats consécutifs trois fois par semaine, les dimanche, mardi et vendredi, de 48 à 72 h d'intervalle pendant un mois (avril).

Le quatrième lot avec une fréquence de deux éjaculats consécutifs quatre fois par semaine les dimanche, mardi, mercredi et vendredi, soit de 24 à 48 h d'intervalle, pendant un mois (mai).

Le cinquième lot avec une fréquence ascendante durant un mois (juin) débutée par deux éjaculats successifs une fois pour la première semaine (dimanche) puis deux prélèvements successifs deux fois durant la deuxième semaine (dimanche et mercredi), ensuite 2 éjaculats consécutifs 3 fois pour la troisième semaine (dimanche, mardi et vendredi), et enfin 2 éjaculats consécutifs 4 fois pour la dernière semaine (dimanche, mardi, jeudi et samedi).

Le sixième lot pendant un mois aussi (juillet) avec une fréquence descendante en inversant le rythme du cinquième lot.

Un intervalle de 10 min séparait les 2 prélèvements successifs un jour donné. La récolte de 2 éjaculats consécutifs par jour de prélèvement et le choix des fréquences de collecte ont d'abord été motivés par les connaissances bibliographiques.

Les mâles sont entraînés au prélèvement du sperme au moyen du vagin artificiel dès l'âge de 5 mois (Garcia et al 2004 ; Garcia-Thomas et al 2006b ; Lavara et al 2008 ; Theau-Clément et

al 2009). Aucune préparation sexuelle n'est appliquée au mâle avant la collecte. Un refus de prélèvement est enregistré si le mâle n'a pu être récolté dans un délai de dix minutes de contact avec une première lapine ainsi qu'avec une seconde (Theau-Clément et al 1991 et 2009).

La libido des lapins a été comptée avec un chronomètre. C'est le temps écoulé en secondes entre l'introduction de la femelle et le premier chevauchement (T1), et celui entre l'introduction de la femelle et l'éjaculation (T2) (Castellini et al 2006). La collecte du sperme est effectuée à l'aide d'un vagin artificiel et en présence d'une femelle réceptive boute-en-train (Boussit 1989).

### **Méthodes d'analyse du sperme**

Les méthodes d'analyse du sperme sont les suivantes :

Une fois le sperme récolté, le volume total de l'éjaculat recueilli est mesuré par lecture directe sur le tube gradué servant à la collecte. Si le sperme recueilli contient du gel, ce dernier est retiré à l'aide d'une pipette Pasteur pour déterminer le volume sans gel. Le pH du sperme est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. La couleur est déterminée par observation du sperme dans le tube de collecte transparent (Boussit 1989). Une notation a été appliquée à la couleur du sperme selon la grille de Roca et al (1993), variant de 0 (sperme contaminé avec l'urine (jaunâtre) ou le sang (rosâtre ou rougeâtre)) à 3 (sperme blanc nacré ou blanc ivoire).

Ensuite les motilités massale et individuelle des spz ont été déterminées sous microscope. La motilité massale a été appréciée en plaçant une goutte de sperme pure entre lame et lamelle observée au grossissement (x10). Une note a été attribuée au mouvement de la masse des spz observés selon la grille de Petitjean (1965) (Boussit 1989) allant de 0 à 9.

La motilité individuelle a été appréciée après dilution du sperme dans 1cc de sérum physiologique. Une goutte de semence (sperme dilué) a été observée entre lame et lamelle avec un grossissement (x 40). Le type des mouvements individuel des spz est noté en utilisant l'échelle d'Andrieu (1974) (Boussit 1989) allant de 0 à 4.

Le pourcentage de spz morts a été déterminé par la préparation d'un frottis utilisant la coloration vitale éosine-nigrosine : une goutte de sperme diluée dans du sérum physiologique a été mélangée avec une goutte de colorant, ensuite le mélange a été étalé délicatement sur une lame à l'aide d'une lamelle et séché à l'air libre (Baril et al 1993). Puis il a été observé au microscope au grossissement (x 40) ; 100 spz sont comptés, à partir desquels sont estimés le pourcentage de spz colorés correspondant aux spz morts dont la membrane endommagée est perméable à la coloration rose, alors que les spz vivants avec leurs membranes fonctionnelles ne laissent pas diffuser le colorant et restent par conséquent incolores (Boussit 1989).

Le pourcentage de spz anormaux a été étudié sur la même lame ayant servi au dénombrement des spz vivants. 100 spz ont été comptés au hasard parmi lesquels on a distingué les spz anormaux (Boussit 1989).

La concentration en spz (en millions/ml) a été déterminée en utilisant un hématimètre de type cellule de Thoma à partir d'une goutte de sperme diluée. Le comptage a été effectué sous le microscope au grossissement x40 (Boussit 1989).

## Analyse statistique

Dans l'expérience, toutes les mesures ont été faites au cours des 4 semaines directement après la récolte. Quand la majorité des prélèvements d'un mâle étaient contaminés, l'ensemble des données de cet animal ont été éliminées (Bencheikh 1995). On a exclu de l'analyse 2 mâles du lot 4 et un mâle du lot 3 (pododermatite). Les éjaculats contaminés et les absences de récolte ont été considérés comme des données manquantes. Les analyses ont porté finalement sur des effectifs de 9 et 8 mâles respectivement dans les lots 3 et 4, et 10 mâles dans les autres lots.

Notre étude statistique des données obtenues a été traitée par un logiciel XLstat 2016 pour les calculs concernant d'abord les statistiques de position et de dispersion. Les caractéristiques de l'éjaculat ont ensuite été étudiées au moyen d'un modèle d'analyse de variance à effets fixés incluant les effets du rythme de récolte, de l'ordre de l'éjaculat, de la période de temps, et leurs interactions. On a utilisé le *test de Student* pour la comparaison de 2 moyennes observées à partir de 2 échantillons indépendants. Nous avons calculé ensuite les corrélations entre les caractéristiques du sperme, intra-modalité expérimentale, au travers des corrélations résiduelles résultant d'un modèle d'analyse de variance incluant comme effet fixé l'ordre de l'éjaculat.

## Résultats et discussion

### *Evaluation de la production spermatique chez les lapins*

#### *Taux de récolte utile des lapins*

Le terme de taux de récoltes utiles désigne le rapport entre d'une part le nombre des éjaculats non contaminés par l'urine ou le sang, avec un volume supérieur à 0,1 ml et contenant des spz vivants, et d'autre part le nombre total de sollicitations, donc de récoltes potentielles. (Bencheikh 1995).

En général nous avons obtenu un taux global de récoltes utiles élevé : 89,3%, révélant une bonne réponse à la récolte artificielle du sperme pour cette souche synthétique. Nos résultats corroborent ceux obtenus par Brun et al (2006) et Nizza et al (2001 et 2003) qui ont trouvé des taux de réponses positives avoisinant respectivement 88,5% chez des lignées L et H sélectionnées sur une croissance rapide et 85,1% chez des souches commerciales Hyla. Par ailleurs, Garcia-Tomas et al (2006) ont marqué un taux de 93,9% chez des lignées dénommées C et R sélectionnées sur la croissance. Le taux de sollicitation rapporté par Bencheikh (1995) chez des lapins de souche Hyplus soumis au même deuxième rythme de collecte a été de 99,6%.

Les taux de récolte utiles ont été significativement plus élevés avec les rythmes extensif, intermédiaire et intensif : 100% , 99,4%, 100% respectivement contre 60,5% 97,0%, 94,0%, pour les rythmes très intensif, ascendant et descendant. Deux situations principales ont été à l'origine de l'absence de récolte utile : le refus de prélèvement ou le volume réduit de l'éjaculat (<0,1 ml). Bencheikh (1995) désigne un taux de récoltes utiles significativement élevé avec le rythme extensif de collecte : 78% contre 70% pour le rythme intensif dans l'expérience I, 80% contre 69% pour le rythme intermédiaire dans l'expérience II (P<0,01).

La fréquence des refus de prélèvement a été nulle pour les trois premiers rythmes ; une seule récolte a été perdue à cause de faute de manipulation dans le lot 2 (rythme intermédiaire). La proportion de refus de prélèvement a été plus élevée pour le rythme très intensif : 101 sur 256 sollicitations contre 12 et 6 respectivement pour les rythmes descendant et ascendant. Ces résultats ne tiennent pas compte des refus quasi systématiques de prélèvement de trois mâles (lots 3 et 4) (Tableau 1).

**Tableau 1.** Réponses aux sollicitations, taux des éjaculats utiles et présentant un gel

	Lot 1 (10)		Lot 2 (10)		Lot3 (9)		Lot4 (8)		Lot5 (10)		Lot6 (10)		T (57)
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	
N sollicitations	40	40	80	80	114	114	128	128	100	100	100	100	1124
N éjaculats collectés	40	40	80	80	114	114	125	120	100	100	100	100	1113
%Réponse aux sollicitations	100	100	100	100	100	100	97,6	93,7	100	100	100	100	99
N éjaculats éliminés	0	0	0	01	0	0	34	67	0	06	04	08	120
Causes d'élimination													
V réduit	0	0	0	0	0	0	31	59	0	06	04	08	108
Refus de sollicitation	0	0	0	0	0	0	03	08	0	0	0	0	11
Autres	0	0	0	01	0	0	0	0	0	0	0	0	01
N. éjaculats utiles	40	40	80	79	114	114	94	61	100	94	96	92	991
% éjaculats utiles	100	100	100	98,7	100	100	73,4	47,6	100	94	96	92	89,3
N. avec gel	16	03	37	07	46	08	86	13	43	7	41	8	315
% avec gel	40	7,5	46,2	8,86	40,3	7,01	91,5	21,3	43	7,44	42,7	8,69	31,7

N : nombre ; V : valeur ; % : pourcentage ; T : total ; C : collecte

Des auteurs ont déjà relevé la fréquence faible des refus de prélèvement chez le lapin (Grégoire et al 1958 ; Amann et Lambiase 1967) et, à l'inverse, la fréquence plus importante des éjaculats contaminés par l'urine, en particulier chez certains individus (Adams 1972), mais ils n'ont pas fait de relation avec le rythme de récolte du sperme.

Le pourcentage de présence d'urine s'est montré nul. En revanche Bencheikh (1993) a trouvé un taux d'urine de 13,4% et 6,5% respectivement pour les souches A2066 et A1077. Brun et al (2006) ont trouvé un taux de 4,7 et 13,9% respectivement pour les lignées L et H. Boulbina (2011) a vu un pourcentage de 4,8% chez la population locale.

Nos résultats révèlent une proportion de 9,6% d'éjaculats de faible volume (<0,1 ml). 8% pour le quatrième lot (fréquence de 4 fois par semaine). En définitive, les mâles de la souche synthétique semblent s'être adaptés à la récolte du sperme à l'aide d'un vagin artificiel conçu par nos soins, et qui pourrait être utilisé dans le cadre de l'insémination artificielle.

Les éjaculations donnant lieu à des spermatozoïdes avec du gel ont représenté 28,0% des cas. Ce taux est proche de celui rapporté chez la race Néo-Zélandaise Blanche (27% ; Roca et al 1993), et les lignées sélectionnées sur la croissance C et R (22,8% ; Garcia-Tomas et al 2006a). La présence du gel constitue une manipulation supplémentaire lors de l'analyse du sperme ou de la semence avant une insémination artificielle, mais dans les conditions naturelles lors d'une saillie naturelle ce gel constitue un bouchon au niveau du vagin de la lapine pour éviter le reflux du sperme après l'accouplement (Alvarino 1993).

Bencheikh (1993) note que quel que soit le rythme de collecte, les valeurs de refus sont restées faibles, et il indique que la réponse des mâles à la collecte peut constituer une caractéristique de la souche. Le refus des mâles de souches INRA A2066 et INRA 1077 était respectivement de 1,7% et 8,2%.

## ***Evolution hebdomadaire de l'ardeur sexuelle et des caractéristiques du sperme en fonction du rythme de collecte***

### ***Ardeur sexuelle ou libido***

Le temps séparant la présentation de la femelle boute-en-train du chevauchement (T1) a été en moyenne de 10,4 secondes. Il semblerait en moyenne que le T1 se révèle plus allongé que celui obtenu par Bencheikh (1993) pour les souches A 2066 et A 1077 (4 et 5,5 secondes).

Les moyennes de temps séparant la présentation de la femelle de l'éjaculation (T2) de ces deux souches étaient respectivement de 14 et 18 secondes. Les lapins mâles de notre souche synthétique (ITELV 2006) étudiés entre la 30<sup>ème</sup> et la 36<sup>ème</sup> semaine d'âge, ont montré une ardeur sexuelle moyenne avec 14,9 secondes, meilleure que celles des lapins de lignées L et H (sélectionnées sur le poids corporel) et estimées respectivement à 28,3 et 27,5 secondes (Brun et al 2006) ; de celles de trois phénotypes de la race égyptienne Baladi (Red : 21 secondes, White : 18 secondes, Black : 22 secondes) indiquées par Khalil (2002b). Par ailleurs, Nizza et al (2003) ont souligné que chez des mâles adultes de génotype Hyla (plus de 12 mois d'âge) la libido était de 23,2 secondes. Les libidos pour les six lots de notre étude ont été respectivement : 17,8, 12,5, 17,0, 14,1, 16,9 et 14,9 secondes pour les lots 1,2,3,4,5 et 6. Par ailleurs, Safaa et al (2008) ont rapporté une libido de 14,5 secondes chez des lapins de race Black Baladi et 21,9 secondes chez des lapins de race Néo-Zélandaise blanche âgés entre 24 et 36 semaines. Dans notre étude, le temps de réaction enregistré entre la 30<sup>ème</sup> semaine et la fin de l'expérimentation est inférieur de près de 25% à celui de la race égyptienne Black Baladi (7,7 secondes).

D'une manière générale, nous pouvons dire que les mâles de la souche synthétique se sont caractérisés par un temps de réaction plus court par rapport aux différents types de lapins étudiés dans la littérature, entrant ainsi dans l'intervalle de variation (entre 5 et 300 secondes) énoncé par Alvarino (1993). Ce résultat pourrait être dû à une caractéristique de la souche ou bien à la méthodologie de collecte que nous avons adoptée. En effet, en plus du même préleveur, plusieurs lapines boute-en-train ont été utilisées au cours de toute l'expérimentation.

### ***Les caractéristiques de l'éjaculat***

#### ***Distribution des variables***

Les distributions du volume, de la concentration, des motilités individuelle et massale par lot ont montré des coefficients d'asymétrie et d'aplatissement inférieurs à zéro presque dans tous les lots. Par rapport à une distribution normale, un déséquilibre à gauche a été enregistré dans la plupart des distributions. Pour les pourcentages des anomalies et des vitalités on a enregistré le contraire avec une asymétrie à droite et d'autre part une trop grande proportion de données était égale ou proche de la moyenne. De ce fait, les résultats obtenus avec les méthodes statistiques basées sur l'hypothèse de normalité (analyse de variance) doivent être interprétés avec prudence.

### Comparaison des 2 éjaculats successifs

L'effet de l'ordre de l'éjaculat a été significatif ( $p < 0,01$ ), quelle que soit la caractéristique considérée pour le rythme, mis à part le pH. Le volume a été plus faible au second prélèvement (0,36 vs 0,57 ml), mais toutes les autres caractéristiques de l'éjaculat ont été améliorées à la 2<sup>ème</sup> récolte : la motilité d'ensemble (5,3 vs 5,12), la motilité individuelle (3,47 vs 3,27), le pourcentage de spz vivants (74,4 vs 73,0%), la concentration (524 vs 480 millions par ml).

Une analyse analogue des autres rythmes confirme ces résultats. Les mâles répondent mieux à la première sollicitation qu'à la deuxième. D'un autre côté, nos résultats ont montré une prédominance significative pour le premier éjaculat avec gel comparé au second (respectivement en moyenne 27,1% vs 4,64% soit un écart de 70,8%), telle que signalée par Holtz et Foote (1978b) et Garcia-Tomas et al (2006a) avec un écart de 72%.

Au cours de notre expérimentation, sur le nombre total des éjaculats éliminés, 6,0% sont survenus lors de la 2<sup>ème</sup> collecte, ce qui est en accord avec les observations de Benchikh (1995), et Garcia-Tomas et al (2006).

### Effet du rythme de récolte

L'analyse du sperme ne révèle aucune différence apparente de la couleur pour la majorité des résultats relevée chez les lapins. Selon la grille de la couleur de sperme de Roca et al (1993), variant de 0 à 3 (sperme blanc nacré ou blanc ivoire), une note de 3,0 a été attribuée pour les lots 1 et 2 avec le symbole BN pour blanc nacré. Alors qu'on a enregistré respectivement 2,77 ; 2,58 ; 2,62 ; 2,63 pour les lots 3, 4, 5 et 6. (Tableau 2)

**Tableau 2.** Caractéristiques macroscopiques du sperme

	lot	N	moy	ETM	Distr	p
couleur	1	80	3,00	0,00	3—3	
	2	159	2,99	0,11	2—3	
	3	228	2,77	0,42	2—3	
	4	155	2,58	0,56	1—3	
	5	194	2,63	0,56	1—3	
	6	188	2,64	0,64	1—3	
pH	1	80	6,86	0,12	6,66—7,20	
	2	159	7,07	0,26	6,50—7,57	<0,01
	3	228	7,18	0,25	6,59—7,60	<0,01
	4	155	7,04	0,19	6,66—7,50	<0,01
	5	194	7,04	0,18	6,66—7,44	<0,01
	6	188	7,01	0,10	6,66—7,60	<0,01
Volume (ml)	1	80	0,48	0,11	0,23—0,80	
	2	159	0,48	0,10	0,30—0,70	0,78
	3	228	0,45	0,11	0,25—0,70	0,03
	4	155	0,41	0,11	0,14—0,65	<0,01
	5	194	0,41	0,14	0,11—0,80	<0,01
	6	188	0,42	0,11	0,12—0,69	<0,01

*n* : nombre d'éjaculats ; moy : moyenne ; ETM : écart type de la moyenne ; Distr : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; p : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

Des travaux sur le sperme des lapins de race Californienne, Néo-Zélandaise et Chinchilla âgés de 10 mois, ont affecté une note moyenne de 2,03 à la couleur du sperme (Salcedo-Baca et al 2004). Ce dernier était un peu moins opaque que le sperme de notre souche synthétique (avec une moyenne de 2,76 pour l'ensemble des éjaculats de l'essai), en relation avec la concentration en spz plus élevée (Roca et al 1993).

Pour les lots 4 et 5 on a enregistré une dégradation de la note au cours de l'essai respectivement de 3 vers 1, 6 et de 3 vers 2 contrairement au lot 6 où on a obtenu une diminution de la note de 3 jusqu'à 2 vers la deuxième semaine suivie d'une amélioration de 3. La couleur est un indicateur de la qualité du sperme (Boussit 1989 ; Alvarino 1993). Les travaux de Roca et al (1993) ont montré une corrélation positive entre la couleur et la concentration spermatique. La diminution de la note attribuée à la couleur du sperme indique une dépréciation de la concentration spermatique.

Le volume moyen de toutes les collectes de notre expérimentation est de  $0,44 \pm 0,12$  ml, inférieur à celui prélevé chez différentes races (Californienne, Néo-Zélandaise Blanche et Chinchilla du Mexique) âgées entre 32 et 48 semaines d'âge (1,15 ml) (Salcedo-Baca et al 2004). Selon Boulbina et al (2011) chez le lapin local algérien, le volume total collecté entre la 24ème et la 33ème semaine d'âge est estimé à 1,2 ml. Par ailleurs, chez les lapins hybrides, âgés entre 3 et 18 mois, le volume moyen du sperme était de 0,92 ml (Roca et al 2005).

Le volume sans gel moyen du sperme récolté chez notre souche synthétique est similaire à celui estimé chez la lignée H : 0,59 ml (Brun et al 2006). La population locale algérienne enregistre un volume de 0,73 ml (Boulbina 2011) nettement supérieur à celui récolté sur les lapins de notre souche synthétique au même âge : 0,44 ml. En revanche, la race égyptienne Baladi noir et la souche INRA1077 ont présenté un volume aussi supérieur : 0,73 ml et 0,79 ml respectivement (Safaa et al 2008 ; Bencheikh 1995).

Le pH du sperme récolté au cours de l'expérimentation a été en moyenne de 7,04. Cette valeur est considérée comme normale et comparable à celle rapportée par Brun et al (2006). Une variabilité du pH du sperme est révélée par les données de la littérature, entre les différentes souches et races étudiées (de 6,94 à 7,63) (Garcia-Tomas et al 2006a ; Brun et al 2002a ; Brun et al 2009). La mesure du pH au pH-mètre doit être immédiate car le sperme s'acidifie rapidement suite à la formation d'acide lactique, résultant de l'utilisation des sucres par les spermatozoïdes (Alvarino 1993 ; Arencibia et Rosario 2009).

La concentration affiche une moyenne de  $415 \pm 81$  millions de spz qui se rapproche des valeurs décrites par Boiti (2005). L'évolution hebdomadaire de la concentration exprimée en spz par millilitre pour les lapins diminue progressivement au cours de la période expérimentale de  $502 \times 10^6$  spz dans la première semaine jusqu'à  $339 \times 10^6$  spz pour la fin de l'expérimentation. Nos résultats sont plus faibles que ceux enregistrés par Bencheikh (1993), Brun et al (2002), Castellini et al (2003), Theau-Clément et al (2009) et Brun et al (2006) chez la lignée L ( $634 \times 10^6$  spz/ml) et la lignée H ( $738 \times 10^6$  spz/ml). Ils sont similaires à ceux trouvés par Nabi 2013 ( $429 \pm 263 \times 10^6$ ) pour le même âge. En effet, Boulbina (2011) a trouvé une valeur moyenne plus élevée ( $735 \times 10^6$  spz et  $506 \times 10^6$  spz/ml) entre 19 et 33 semaines d'âge et de  $642 \times 10^6$  spz/ml chez les lapins récoltés à partir de la 24ème semaine d'âge et jusqu'à la 33ème d'âge.

Par ailleurs Safaa et al (2008) indiquent des concentrations de  $703 \times 10^6$  spz /ml pour la race Baladi Noir et de  $590 \times 10^6$  spz/ml pour la race Néo-Zélandaise Blanche (en Egypte).

Toutefois, des concentrations nettement plus faibles, de l'ordre de  $243 \times 10^6$  spz/éjaculat, ont été révélées chez différentes souches sélectionnées par l'INRA (1077, 2066, 2666 et 1001) (Theau-Clément et al 2003 ; Brun et al 2009) et de l'ordre de  $245 \times 10^6$  spz/ml pour les deux lignées C et R tel que rapporté par Garcia-Tomas et al (2006a).

Les notes moyennes de motilités massale et individuelle ont été respectivement de  $4,32 \pm 0,99$  sur 9 et  $2,8 \pm 0,76$  sur 4. L'ensemble des éjaculats présente un pourcentage moyen de spz anormaux de  $14,4 \pm 4,05$  %.

Néanmoins, les notes moyennes de motilités massale et individuelle s'avèrent faibles, au-dessous du seuil d'une bonne mobilité (motilité massale : aspect de vagues ( $\geq 6/9$ ) et motilité individuelle : progression rapide ( $\geq 3/4$ )) et souhaitable pour des inséminations (Boussit 1989). Cette faiblesse de motilité peut être un caractère propre de la souche, comme elle pourrait être expliquée par le faible nombre d'observations enregistrées dans une durée potentiellement courte.

Les spz dans le sperme du lapin de souche synthétique se caractérisent par une motilité massale inférieure à celle mesurée chez les lapins de différentes origines (Bencheikh, 1995 ; Theau-Clément et al 2003 ; Brun et al 2006 et 2009). En revanche, leur motilité individuelle est tantôt supérieure, tantôt plus faible que celles rapportées par les données bibliographiques et ce en fonction de l'origine génétique du lapin (Bencheikh 1995 ; Garcia-Tomas et al 2006a).

Boulbina (2011) a trouvé un taux faible de mobilité des spz, chez le lapin local (64,2%) et de 74,8% à un âge plus avancé chez la même population (entre 24 et 33 semaines). Brun et al. (2006) ont rapporté un taux de 76% en utilisant des mâles de lignées sélectionnées sur la croissance. La mobilité des spz semble s'améliorer avec l'âge (Salcedo-Baca et al 2004). Chez le lapin, des travaux indiquent qu'une bonne motilité massale des spz accompagne un bon taux de gestation (Brun et al 2002b).

Quel que soient les caractères considérés (volume, motilités, concentration), on a obtenu des valeurs plus faibles que celles enregistrées par Bencheikh (1993), Brun et al (2002), Castellini et al (2003), Brun et al (2006) et Theau-Clément et al (2009) (France). En occurrence, Boulbina (2011) a trouvé des valeurs moyennes plus élevées, à savoir le volume (0,86 ml), la motilité massale (7,68), la motilité individuelle (3,57), et la concentration ( $735 \times 10^6$  spz). Ces différences de volume et de concentration spermatique semblent être liées à l'origine génétique des lapins et au programme de sélection auquel ils seraient soumis.

Il est important de souligner que les méthodes utilisées par ces différentes études étaient basées sur l'observation et le comptage, qui probablement sont une source supplémentaire de la variabilité des résultats (Cabannes 2008), qui pourrait être estompée par l'utilisation de méthodes d'analyse assistées par ordinateur.

Les anomalies totales observées chez les spz sont en proportion équivalentes à celles rencontrées chez la race Néo-Zélandaise Blanche (Brésil) en moyenne 24,3% (Cardoso et Bao 2007). Toutefois, ce taux d'anomalies totales diminue avec l'âge de l'animal, atteignant 16,8% chez le lapin local âgé entre 24 et 33 semaines d'âge, et se rapproche de la valeur minimale rapportée par la littérature (entre 11,6 et 30,5%) (Khalil 2002b ; Safaa et al 2008 ; Garcia-Tomas et al 2006a).

Hormis le pH et le volume, les moyennes des caractéristiques de l'éjaculat obtenu avec le rythme extensif (lot 1) sont supérieures à celle des autres rythmes ; les différences sont à chaque fois significatives ( $P < 0,01$ ). (Tableaux 2 et 3). Le pH est significativement plus faible avec le rythme extensif ( $6,86 \pm 0,12$ ) qu'avec les 5 autres rythmes (respectivement 7,06 ; 7,18 ; 7,04 ; 7,04 ; 7,01). La moyenne du volume du sperme est similaire pour les trois premiers rythmes et supérieure à celles des trois derniers rythmes et son évolution au cours de la période d'essai pour les deux premiers lots est presque constante (0,50 ml à 0,46 ml), pour le troisième, le quatrième et le cinquième lots une diminution remarquable débutant par un volume de 0,54 ml et finissant par 0,24 ml, contrairement au 6<sup>ème</sup> lot pour lequel on a constaté une chute remarquable dans la deuxième semaine, suivie par une nette amélioration.

**Tableau 3.** Caractères microscopiques du sperme

	lot	N	moy	ETM	Distr	p
Motilité massale	1	80	5,21	0,77	4—6	
	2	159	4,98	0,53	4—6	<0,01
	3	228	3,89	0,90	2—6	<0,01
	4	155	3,88	1,21	1—6	<0,01
	5	194	3,92	1,29	1—6	<0,01
	6	188	4,04	1,25	1—6	<0,01
Motilité individuelle	1	80	3,36	0,56	2—4	
	2	159	3,18	0,50	2—4	<0,01
	3	228	2,68	0,74	1—4	<0,01
	4	155	2,51	0,92	1—4	<0,01
	5	194	2,36	0,94	1—4	<0,01
	6	188	2,71	0,90	1—4	<0,01
Pourcentage de spz morts	1	80	26,3	1,29	24—30	
	2	159	28,2	2,41	25—35	<0,01
	3	228	30,4	4,21	21—42	<0,01
	4	155	33,3	8,31	19—58	<0,01
	5	194	32,6	7,68	23—52	<0,01
	6	188	30,3	6,55	18—53	<0,01
con x106 spz/ml	1	80	502	28,9	437-564	
	2	159	442	55,1	305-548	<0,01
	3	228	404	66,7	276--543	<0,01
	4	155	375	105	126--567	<0,01
	5	194	380	130	113--560	<0,01
	6	188	386	98,6	130--567	<0,01

con : concentration ; spz : spermatozoïdes ; n : nombre d'éjaculats ; moy : moyenne ; ETM : écart type de la moyenne ; Distr : étendue de la distribution des spermatozoïdes par mâle ; p : seuil de signification de la différence entre les moyennes ( $p < 0,01$ ).

Par rapport aux fréquences de rythmes extrêmement intensifs (lot 4) et au rythme des deux derniers lots, les trois premiers lots (1, 2 et 3) permettent de recueillir plus de 12% de volume de semence en plus par éjaculat. Alors que par rapport aux fréquences étudiées (lot 2, 3, 4, 5 et 6), le pourcentage des spz vivants de rythme extensif (lot 1) a été amélioré respectivement plus de 2,5%, 5,7%, 13,0%, 8,7%, 2,7% , en même temps que la concentration a été améliorée de plus de 12,1%, 19,9%, 32,5%, 24,5% 23,4% respectivement.

L'augmentation quantitative de volume et de nombre de spz s'accompagne d'une amélioration de la motilité. Le regroupement en classe des notes de motilité massale rend mieux compte de l'avantage du rythme extensif : 42,5% des éjaculats de ce groupe présentent une note de 6/9, la proportion n'étant que de 4,4% dans le rythme intermédiaire. L'examen de la distribution de la motilité individuelle dégage des conclusions similaires. Les valeurs moyennes des motilités massale et individuelle, ainsi que les pourcentages des anomalies totales des spermatozoïdes en fonction de la fréquence de collecte sont répertoriées dans le Tableau 3.

Les motilités massale, individuelle et la concentration sont supérieures dans le rythme extensif par rapport aux autres rythmes, ainsi qu'on a enregistré des pourcentages moyennement faible pour les taux de mortalité et d'anomalie dans ce premier lot contre les rythmes des autres lots. Ce qui est en accord avec Benchikh (1995), cependant, Nizza et al (2003) et Vigrag et al (1992) n'ont pas trouvé d'effet de la fréquence ni sur le pourcentage des anomalies ni sur le pourcentage des cellules vivantes.

La fréquence extrêmement intensive correspond à une détérioration de l'ensemble des caractéristiques de l'éjaculat : volume, motilité, concentration et pourcentage de spz vivants. La valeur du pH est plus faible avec le rythme extensif, mais le pH est corrélé négativement avec les autres caractéristiques de l'éjaculat. D'après Amann (1981), un rythme élevé de récolte, tel que la troisième fréquence de collecte pratiquée ici, diminue les réserves de la queue de l'épididyme, ainsi que le nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

Selon Bodnar et al (1996) et Arroita et al (2000), le volume et la concentration spermatique sont altérés lorsque le rythme de collecte augmente. Selon les mêmes auteurs, un rythme de prélèvement extensif améliore la motilité et le pourcentage de spz vivants. Tandis que Bunaciu et al (1996) et Bencheikh (1995) ont montré que le nombre de spz prélevés par semaine était plus élevé dans les rythmes les plus intensifs. Par contre, Bencheikh (1995) a signalé que sur la base de la quantité hebdomadaire de spz récoltés, une fréquence de 2 à 3 jours par semaine paraît préférable au rythme extensif.

En revanche, certaines études plus récentes ne soulignent aucun effet du rythme de collecte sur la motilité, le pourcentage de spz vivants, le pourcentage d'anomalies de l'acrosome et le pourcentage d'anomalies spermatiques (Arroita et al 2000) ; Nizza et al 2001 ; Nizza et al 2003) pour des rythmes comparables à ceux que nous avons étudiés.

Des études menées chez différentes espèces, basées sur l'estimation des réserves testiculaires de spz, montrent que le rythme de récolte n'affecte pas le niveau de la production spermatique dans le testicule (Bencheikh 1993). Selon Amann (1970a), les mêmes études soulignent la diminution de la durée nécessaire pour le transit du spz dans l'épididyme, ainsi que la réduction des réserves épидидymaires, suite à l'application d'un rythme intensif de récolte.

Compte tenu du fait qu'aucune étude n'a inclus tous les rythmes tels que ceux pratiqués ici, il est difficile de comparer toutes les valeurs moyennes des caractéristiques du sperme à celles obtenues dans des travaux antérieurs. Nos résultats, en accord avec les études antérieures, ont montré que la fréquence de collecte influence grandement les caractéristiques de l'éjaculat.

De plus, les souches de mâles utilisées étaient toujours différentes et les effectifs réduits.

#### *Corrélation entre les caractéristiques de l'éjaculat*

Dans notre expérience, environ 991 données (80 éjaculats du rythme extensif, 159 du rythme intermédiaire, 228 du rythme intensif, 155 du rythme extrêmement intensif, 194 du rythme ascendant et 188 du rythme descendant) ont été intégrées dans le calcul des corrélations.

Les variables mesurées ou calculées sont quasiment toutes corrélées (Tableau 4). Une corrélation positive significative lie entre elles les critères qualitatifs du sperme (motilité massale et individuelle, concentration) ; la valeur du coefficient de corrélation varie alors de 0,82 à 0,85 pour l'ensemble des lots ( $p < 0,01$ ). Les mêmes critères paraissent positivement mais faiblement liés au volume de l'éjaculat. En effet, un coefficient variant de 0,39 à 0,41 à été trouvé.

**Tableau 4.** Corrélations entre les caractéristiques du sperme (6 lots)

	<b>VOL</b>	<b>pH</b>	<b>M M</b>	<b>M I</b>	<b>CON</b>	<b>MOR</b>	<b>ANO</b>
<b>VOL</b>	<b>1</b>	<b>-0,17</b>	<b>0,41</b>	<b>0,40</b>	<b>0,39</b>	<b>-0,48</b>	<b>0,49</b>
<b>pH</b>	<b>-0,17</b>	<b>1</b>	<b>-0,30</b>	<b>-0,31</b>	<b>-0,30</b>	<b>0,22</b>	<b>0,18</b>
<b>M M</b>	<b>0,41</b>	<b>-0,30</b>	<b>1</b>	<b>0,85</b>	<b>0,83</b>	<b>-0,81</b>	<b>-0,81</b>
<b>M I</b>	<b>0,40</b>	<b>-0,31</b>	<b>0,85</b>	<b>1</b>	<b>0,82</b>	<b>-0,77</b>	<b>-0,77</b>
<b>CON</b>	<b>0,39</b>	<b>-0,30</b>	<b>0,83</b>	<b>0,82</b>	<b>1</b>	<b>-0,86</b>	<b>-0,86</b>
<b>MOR</b>	<b>-0,48</b>	<b>0,22</b>	<b>-0,81</b>	<b>-0,77</b>	<b>-0,86</b>	<b>1</b>	<b>0,89</b>
<b>ANO</b>	<b>-0,49</b>	<b>0,18</b>	<b>-0,81</b>	<b>-0,77</b>	<b>-0,86</b>	<b>0,89</b>	<b>1</b>

*VOL : volume ; M M : motilité massale ; M I ; motilité individuelle ; CON : concentration ; MOR : mortalité ; ANO : anomalies. Coefficient de corrélation de Pearson, les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha = 0,01$*

Par ailleurs, une corrélation négative significative semble lier le taux de mortalité et les anomalies aux critères précédents, de -0,86 à -0,77 ( $p < 0,01$ ).

Selon Bencheikh et al (1995), une corrélation positive significative entre les critères qualitatifs du sperme avec une valeur du coefficient de corrélation variant de 0,28 à 0,49 dans le rythme extensif, et de 0,43 à 0,59 dans le rythme intensif.

#### *Nombre de doses de semence utilisables*

En résumé ce nombre s'établit ainsi, si on considère qu'il convient d'avoir  $12 \times 10^6$  spz par dose pour insémination en semence fraîche.

Ainsi les rythmes ayant permis de produire le plus de spz dans la période sont par ordre décroissant : 3 et 4, puis 6, puis 5 puis 2 et loin derrière 1. Il est possible de noter que dans la 4<sup>e</sup> semaine, les rythmes 2, 3, 4 et 6 sont beaucoup moins productifs que dans les autres semaines (3,6 fois moins que la première semaine pour le rythme 6). De même que la première semaine du rythme 5 (deux éjaculats successifs une fois par semaine) par rapport aux autres semaines. Par contre, on note une production constante, sans différence significative pour les 4 semaines avec le 1<sup>er</sup> rythme ( $P > 0,05$ ) (Tableau 5).

**Tableau 5.** Nombre de doses de semence utilisables pour les mâles selon le rythme de collecte.

Rythmes	Sem. 1	Sem. 2	Sem. 3	Sem. 4	Moyenne par sem.	SEM (total)	p.
1	895 <sup>a</sup>	827 <sup>a</sup>	834 <sup>a</sup>	831 <sup>a</sup>	847 <sup>E</sup>	4,28	0,54
2	1583 <sup>a</sup>	1600 <sup>a</sup>	1430 <sup>ab</sup>	1260 <sup>b</sup>	1468 <sup>D</sup>	4,28	0,16
3	2177 <sup>a</sup>	1882 <sup>b</sup>	1661 <sup>c</sup>	1520 <sup>d</sup>	1810 <sup>A</sup>	4,40	0,001
4	2507 <sup>a</sup>	2065 <sup>b</sup>	1587 <sup>c</sup>	1065 <sup>d</sup>	1806 <sup>A</sup>	4,79	<0,0001
5	842 <sup>a</sup>	1642 <sup>c</sup>	2254 <sup>b</sup>	1597 <sup>c</sup>	1584 <sup>C</sup>	4,28	0,008
6	2898 <sup>a</sup>	1424 <sup>b</sup>	1360 <sup>b</sup>	805 <sup>c</sup>	1622 <sup>B</sup>	4,28	<0,0001
Moyenne					1523		

Sem. = semaine. (a, b, c, d) dans la même ligne et pour les mêmes rythmes, (A, B, C, D, E) dans la même colonne, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ).

Les résultats obtenus soulignent l'importance de la fréquence des collectes pour la production de sperme et la quantité de spermatozoïdes récoltés, par éjaculat, ou en moyenne par semaine. Concernant les caractères macroscopiques et microscopiques du sperme collecté durant notre travail, une bonne qualité de sperme collecté avec le rythme 1 (1 jour par semaine) avait une concentration moyenne de  $502.10^6 \pm 28,9$  spz / ml, un volume moyen de  $0,48 \pm 0,11$  ml, une libido moyenne de  $17,8 \pm 2,4$  secondes, une motilité massale moyenne de  $5,21 \pm 0,77$ , une motilité individuelle de  $3,36 \pm 0,56$ , un pourcentage de spz anormaux de  $10,1 \pm 1,5\%$ , et un pourcentage de spz morts de  $26,3 \pm 1,3\%$ .

Néanmoins les rythmes ayant permis de produire le plus de spz dans la période (en négligeant les effets saisonniers) sont par ordre décroissant : 3 et 4, puis les rythmes 6, 5, 2 et enfin le rythme 1.

A l'issue des résultats de ces essais, nous pouvons conclure que :

La réponse des lapins mâles à la sollicitation du vagin artificiel a présenté un faible taux de refus, mais aussi une bonne récolte utile. Les mâles semblent s'adapter à la récolte de sperme à l'aide d'un vagin artificiel conçu par nos soins, et qui pourrait être utilisé dans le cadre de l'insémination artificielle.

Les résultats obtenus soulignent l'importance de la fréquence des collectes pour la production de sperme en termes de quantité et de qualité. Ces données montrent qu'il est possible de faire plusieurs types de rythme de collecte avec un très bon taux de récolte, et une bonne quantité de spermatozoïdes hebdomadaires (moyenne des semaines) collectés.

Les moyennes de la plupart des caractéristiques du sperme obtenues dans notre étude montrent la nette supériorité du rythme extensif par rapport aux autres rythmes pour la qualité du sperme obtenu. Ce qui est en accord avec Bencheikh (1995) qui montre chez la souche Hyplus que le rythme extensif permet de multiplier le nombre de spz par éjaculat du rythme intermédiaire par 1,6 et celui du rythme intensif par 2,3, en même temps que la qualité du sperme, appréciée par la motilité, est améliorée. De plus, le rythme extensif de récolte permet de réaliser la meilleure adéquation entre le nombre de spermatozoïdes par éjaculat et leur qualité, le nombre total par semaine et la gestion rationnelle des chantiers de collecte. Mais la quantité moyenne de semence utilisables par semaine est la plus faible.

La production de sperme a été très variable entre les mâles et selon les éjaculats pour un même mâle ; la fréquence des collectes influence directement la quantité et la qualité du

sperme et de la semence. Un rythme de collecte trop intense altère la spermatogenèse (augmentation du nombre de spz immatures) et diminue les résultats de fertilité.

## Conclusion

L'objectif de ce travail vise à collecter des éjaculats ayant un nombre maximal de spz durant une période déterminée afin d'obtenir un maximum de doses utilisables. De point de vue quantitatif et qualitatif de chaque éjaculat étudié à part, nous avons montré que le rythme extensif du premier lot est le meilleur. Par ailleurs et en tenant compte de la quantité totale de la semence produite par semaine avec les autres fréquences, nous constatons que ce rythme est le moins important. Le 3<sup>e</sup> rythme de récolte (intensif 3 fois par semaine) et le 4<sup>e</sup> rythme (intensif 4 fois par semaine) ont réalisé les nombres les plus élevés de spz par semaine et aussi les nombres de doses utilisables les plus intéressants.

## Références bibliographiques

- Adams CE 1972** Induction of ovulation and AI techniques in the rabbit. Vet Rec 91, 194-197
- Alvarino M R 1993** Control de la reproduction en el conejo. 1ère éd., IRYDA, Mundi-Prensa, 137 p.
- Amann RP 1981** A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. J Androl 2, 37-58
- Amann R P and Lambiase J T 1967** The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. J. Reprod. Fert., 14 : 329-332.
- Arencibia Arrebola D F, Rosario Fernandez L A 2009** Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de Conejos aplicado en estudios de toxicologia de la fertilidad. Redvet Revista Electronica Veterinaria, 8 (10) : 1-18.
- Arroita Z, Falceto M V, Martin Rillo S, De Alba C, Moreno C, Ciudad M J and Rafel O 2000** Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen. In Proc. 7th World Rabbit Congress, 4-7 July, Valencia (Spain). Vol. A : 81-87(6 p.). In Journal of the World rabbit science association, vol. 8, supplément 1
- Baril G, Chemineau P, Cogniez Y, Guerin Y, Leboeuf B, Orgueur P et Vallet JC 1993** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO. Rome (Italie) 231p.
- Bencheikh N 1993** Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. Ann Zootech 44, 263-279
- Bencheikh N 1995** Production de sperme et fertilité du lapin mâle. *Oryctolagus cuniculus*. Effets de la fréquence de collecte et du type génétique. Thèse d'état. Ecole nationale Agronomique de Toulouse.
- Bodnar K, Torok I, Hejel P and Bodnar E 1996** Preliminary study on the effect of ejaculation frequency on some characteristics of rabbit semen. 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2 : 41-44.
- Boiti C, Castellini C, Theau-Clément M, Besenfelder U, Liguori L, Renieri T and Pizzi F 2005** Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. World Rabbit Science, 13 : 71-91.
- Boulbina et al 2011** Caractéristiques de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*). Thèse de magistère. Ecole nationale supérieure d'Alger.
- Boussit D 1989** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. Association Française de Cuniculture,

Ed. Lempdes France, 234 p.

**Brun J M, Theau-Clément M and Bolet G 2002a** Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. *Anim. Res.*, 51 : 433-442.

**Brun J M, Theau-Clément M and Bolet G 2002b** The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 70 : 139-149

**Brun J M, Theau-Clément M, Esparbié J, Falières J, Saleil G and Larzul C 2006** Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63-d body weight. *Theriogenology*, 66 : 2165- 2172.

**Brun J M, Sanchez A, Duzert R, Saleil G et Theau-Clément M 2009** Paramètres génétiques des caractéristiques de la semence de lapin. 13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 Novembre 2009, Le Mans (France), 4 p.

**Bunaciu P, Cimpeanu I and Bunaciu M 1996** Mating frequency effect on spermatogenesis and performance of breeding rabbits. 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2 : 51-54.

**Cabannes C R 2008** Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 107 p.

**Cardoso J R and Bão S N 2007** Effects of chronic exposure to soy meal containing diet or soy derived isoflavones supplement on semen production and reproductive system of male rabbits. *Animal Reproduction Science*, 97: 237-245.

**Castellini C, Besenfelder U, Pizzi F, Theau-Clément M, Vicente J and Renieri T 2006** Developments in the investigation of rabbit semen and buck management. In : *Recent advances in rabbit sciences*. Édité par Maertens L. et Coudert P., p. 53-67.

**Castellini C, Boiti C, DalBosco A, Lattaioli P et Zampini D 2003** Effet de la supplémentation en acides gras n-3 et vitamine E sur les caractéristiques de la semence de lapins d'âges différents. 10èmes Journées de la Recherche Cunicole, INRA-ITAVI, Paris, p.

**Eid Y Z 2008** Dietary grape pomace affects lipid peroxidation and antioxidative status in rabbit semen. *World Rabbit Science*, 16 : 157-164.

**Gacem M et Bolet G 2005** Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche européenne. 11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris, p.15-18.

**Garcia M L, Andrés I, Caselles P, Lavara R 2004** Estudio de la edad de los machos de conejo en la inseminación artificial. *Boletín de cunicultura*, N° 132. Mars-Avril, p. 17-25.

**Garcia-Tomas M, Sanchez J, Rafel O, Ramon J and Piles M 2006a** Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. *Livestock Science*, 100 : 111-120.

**Garcia-Tomas M, Sánchez j, Rafel O, Ramon J and Piles M 2006b** Reproductive performance of crossbred and purebred male rabbits. *Livestock Science*, 104 : 233-243.

**Grégoire AT, Bratton RW and Foote RH 1958** Sperm output and fertility of rabbits ejaculated either once a week or once a day for 43 weeks. *J Anim Sci* 17, 243-248

**Holtz W and Foote R H 1978** Composition of rabbit semen and the origin of several constituents. *Biology of Reproduction*, 18 : 286-292.

**Joly T et Theau-Clément M 2000** Reproduction et physiologie de la reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture. A.S.F.C. Journée du 5 Décembre 2000, Valencia 2000 "Ombres et lumières", thème "Reproduction", p. 19-24.

**Khalil M H 2002** The Baladi Rabbits (Egypt). *Options Méditerranéennes, série B "Etudes et Recherches"*, N° 38, p. 41-50.

- Lavara R, Vicente J S, Marco-Jiménez F and Baselga M 2008** Correlation between CASA and ASMA parameters in rabbit semen. 9th World Rabbit Congress, juin 2008, Verona (Italy), p.10-13.
- López J, Alvarino J M R, Del Arco J A, Bueno A and Sanz C 1996** Effect of male rabbit management on semen production. 6th World rabbit congress, Toulouse (France), 2 : 83-86.
- Martinet L 1974** Aspects de la physiologie de la reproduction chez le lapin. *Nouvelles de l'Aviculture* 212,13-155
- Mocé E, Lavara R, Lavara F and Vicente J S 2000** Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. 7th World Rabbit Congress, 4-7 juillet, Valencia (Spain), 6 p.
- Nabi I 2013** Performances de reproduction du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) de population blanche : Production spermatique des mâles et fertilité des femelles conduites en insémination artificielle. Mémoire de magistère, Ecole nationale supérieure vétérinaire El Harach Alger. 93p.
- Nizza A, Di Meo C, Taranto S and Stanco G 2001** Effect of collection frequency on rabbit semen production. *World Rabbit Science*, 10 (2) : 49-52
- Nizaa A, Dimeo C and Taranto S 2003** Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. *World Rabbit Science*, 10 (2): 49- 52.
- Osechas D, Becerra M S 2006** Producción y mercadeo de carne de conejo en el estado trujillo, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 16 (2) : 129-135.
- Petitjean 1965** Recherche sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. Thèse d'ingénieur d'état, Agriculture, France. ? p.
- Roca T, Casas J and De Gracia J 1993** Efecto de los factores ambientales sobre las características del semen de conejo. *Boletín de cunicultura*, N° 70, 4 p.
- Roca T 1994** Rentabilidad de la explotación del conejo de monte. *Boletín de cunicultura*, N° 71, p. 37-42
- Roca J, Martínez S, Orengo J, Parrilla I, Vazquez J M and Martínez E A 2005** Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. *Livestock Production Science*, 94 (2005) : 169-177.
- Safaa H M, Emarah M E and Saleh N F A 2008** Seasonal effects on semen quality in Black Baladi and White New Zealand rabbit bucks. *World Rabbit Science*, 16 : 13- 20.
- Salcedo-Baca R, Pichardo-Reyes M and Echagaray-Torres J L 2004** Buck semen characteristics from a Mexican population of the Californian, White New Zealand, and Chinchilla breeds. 8th World Rabbit Congress, 7-10 septembre 2004, Puebla (Mexico), p. 334-348.
- Theau-Clément M, Thébault RG, Bolet G et De Rochambeau H 1991** La reproduction du lapin Angora de souche Française : Ovulation chez la femelle, production de semence chez le mâle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 31 : 667-673.
- Theau-Clément M, Brun J M, Sabbioni E, Castellini C, Renieri T, Besenfelder U, Falières J, Esparbié J et Saleil G 2003** Comparaison de la production spermatique de trois souches de lapins : moyennes et variabilités. 10èmes Journées de la Recherche Cunicole, INRA-ITAVI 19-20 novembre 2003, Paris (France), p. 81-88.
- Theau-Clément M, Sanchez A, Duzert R, Saleil G et Brun J M 2009** Etude de facteurs de variation de la production spermatique chez le lapin. 13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 novembre, Le Mans (France), 4p.
- Virag GY, Mézes M and Bersényi A 1992** Effect of independent factors on semen characteristics in rabbits. *J. Appl. Rabbit. Res.*, 15: 499-504.

## EFFECT OF SPERM STORAGE TIME AND TEMPERATURE ON SEMEN QUALITY IN THE RABBIT LINE ITELV 2006

Elhassen LANKRI<sup>1\*</sup>, Khadideja BOUDOUR<sup>1</sup>, Ahmed AICHOUNI<sup>2</sup>, Fatima RECHACHOU<sup>1</sup>, Nacira ZERROUKI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hassiba Benbouali University, Chlef, Algeria

<sup>2</sup>University center El wancharissi Tissemsilet, Algeria

<sup>3</sup>Natural Resources Laboratory, UMMTO, Tzi-Ouzou, Algeria

\*Corresponding author: [e.lankri@univ-chlef.dz](mailto:e.lankri@univ-chlef.dz)

### Abstract

The present study aims to study the effect of storage time and temperature on the semen quality of adult rabbits of the same age of the ITELV 2006 strain. In order to achieve our goal, 04 experiments are conducted to evaluate the semen quality of 10 adult rabbits. The semen samples are mixed the individual's ejaculation analysis and divided into fractions, and then diluted in a Tris diluent. They are then kept at four different temperatures for 96 hours. Samples are taken after 24, 48, 72 and 96 h. The experiment is repeated 4 times during 1 month at a rate of once a week. The microscopic parameters of ejaculation are evaluated before and after the preservation process. The results of the analysis showed that the percentage of motility and vitality of spermatozoa in fresh semen is  $82.86\% \pm 7.82$ ,  $73.69\% \pm 1.29$  respectively. For the conserved semen and for the same parameters, a decrease in the motility and vitality values is observed with the conservation time ( $p < 0.05$ ). For the storage temperature, the semen kept at  $15^\circ\text{C}$  for 24h has the best values compared to other temperatures ( $61.75\% \pm 2.05$  and  $66.5\% \pm 1.12$  respectively for motility and vitality,  $p < 0.05$ ). We record a zero motility and vitality for the semen kept at  $4^\circ\text{C}$  from 72h.

**Key words:** *spermatozoa, refrigeration, Tris-based extender, vitality, motility.*

### Introduction

Despite the widespread use of Artificial Insemination (AI) in large rabbit farms in several countries around the world, it has not become a common practice in Algeria. A limiting factor for a more extensive practical application is related to the conservation of the semen. The current practice of using freshly diluted sperm in a few hours following collection is mainly limited to AI at the farm where the male is located, resulting to such high conception rates as those obtained with natural mating. Short life imposes considerable stress on rabbit AI, as fast delivery is essential. Since frozen semen is currently not suitable for routine AI in commercial rabbit production (Morrell 1995 and Castellini 1996). The interest in preserving rabbit semen for a period of 24-72h has been the subject of several trials (Alvarino et al., 1996, Gottardi, 1993, perrier, theau-clément et al 1998, Santa Maria et al, 1989). Badù et al 2004, have shown that the semen kept 24h at  $5^\circ\text{C}$  in a saline solution (Tris- EDTA- citric acid) does not affect the mobility nor the straightness of the displacement of the cells. The storage temperature and its duration play an important role in sperm survival (Carluccio, and al., 2004) Temperatures of  $5^\circ\text{C}$  to  $25^\circ\text{C}$  are suitable for the preservation of rabbit sperm for 72 h (Johinke, D. and al., 2014; López, FJ and Alvariño, JMR 1998; Roca, J., and al., 2000). Mathur and al. (1992), Gottardi (1993) and Lopez and al. (1996) found that a storage temperature of 15 to  $19^\circ\text{C}$  is the most favorable for sperm survival. Sperm refrigerated and stored for 24 to 72 hours may facilitate their transport and subsequent widespread use of artificial insemination in rabbits

while preserving the fertilizing capacity of sperm. In order to improve the management of reproduction, the objective of this study is to evaluate the effect of different storage times at different temperatures on the quality of the ITELV 2006 synthetic strain semen. This strain is created in 2003 as part of a breeding program cooperation between INRA and ITELV; it is obtained by an initial cross between the Algerian local population and the INRA 2666 strain (Gacem and Bolet 2005).

### Materials and Methods

At the level of the animal department of the Department of Agricultural Sciences and Biotechnologies, Hassiba Ben Bouali University of Chlef, Algeria, 10 adult male rabbits of the synthetic hybrid strain ITELV 2006 brought from the Baba Ali Breeding Technical Institute of Algiers, aged 7.5 to 8 months, so at the time of sexual maturity. Indeed, sexual maturity, defined by the time when the number of spermatozoa harvested per day no longer increases, would be reached around the age of 32 weeks (Amann and Lambiase 1967). However, spermatozoa have been present in the ejaculation at puberty as early as 16 weeks of age (Martinet 1974). The average weight at the beginning of the test is  $3.70 \pm 0.13$  kg and the same housing conditions are used. During the experimental period all animals receive, voluntarily, a commercial feed in the form of granules, containing maize, soybean meal, mill products, calcium, phosphates, amino acids, trace elements, poly vitamins, antioxidant, folic acid, oil soybean and alfalfa (Table 1) and watered ad libitum and placed in individual wire cages (75 cm long, 46 cm wide and 28 cm high) inside an air-conditioned building. The livestock building is a concrete room, with an area of 220.80 m<sup>2</sup> and a height of 4m. It consists of two separate rooms, one for the breeding of animals and the other in the form of a laboratory for carrying out various analyzes. The two dirty ones are opened in the light of the day by several lateral windows, having a system of cooling.

Table 1: Chemical composition of the standard feed

Component	Content. (% as is)	Reference of the method of analysis
Dry matter	91.42	NA 1291-1994
Mineral matter	7.51	NA 650 - 1994
Raw protein	14.5	NA 652-1992
Crude cellulose	9.49	NA 6138 -1991
Fat	3.38	NA 654 -1992
Calcium	0.89	NA 653 - 1992
Phosphorus	0.60	NA 657-1992

The sperm collection is carried out in a period of one month (March 2018) according to the following protocol: two successive ejaculates a single day a week. An interval of 10 min separated the 2 successive samples. The harvest of 2 consecutive ejaculates per day of collection and the choice of collection frequencies are initially motivated by the bibliographic knowledge. Males are trained to collect sperm using the artificial vagina as early as 5 months of age (Garcia and al 2004, Garcia-Thomas and al 2006b, Lavara and al 2008, Theau-Clément and al 2009). No sexual preparation is applied to the male before collection. A refusal of harvest is recorded if the male could not be harvested within ten minutes of contact with a first rabbit as well as with a second (Theau-Clément and al 1991 and 2009). Sperm collection is performed using an artificial vagina and in the presence of a receptive female teaser (Boussit 1989).

The methods of sperm analysis are as follows: Once the sperm has been collected, the total volume of ejaculate collected is measured by direct reading on the graduated tube used for collection. If the sperm collected contains gel, the gel is removed using a Pasteur pipette to determine the frost-free volume. Sperm pH is measured using a pH meter. Before dilution, macroscopic analyzes of each ejaculation were performed to assess the color and volume of the sample; Only white ejaculates had a volume greater than 0.25 ml, and had at least 70% motility are used for the study. Then the mass and individual motility of spermatozoa are determined under a microscope. Mass motility is appreciated by placing a drop of pure sperm between slide and lamella observed at magnification (x10). A note is attributed to the movement of the mass of spermatozoa observed according to the Petitjean grid (1965) (Boussit 1989) ranging from 0 to 9. Individual motility is assessed after dilution of sperm in 1cc of saline. A drop of semen (diluted sperm) is observed between slide and coverslip at a magnification (x 40). The type of individual movements of spermatozoa is noted using the Andrieu (1974) scale (Boussit 1989) ranging from 0 to 4. The percentage of dead spermatozoa is determined by the preparation of a smear using eosin-nigrosine vital staining: a drop of sperm diluted in saline is mixed with a drop of dye, then the mixture is gently spread on a blade with a coverslip and dried in the open air (Baril and al 1993). Then it is observed under a microscope at magnification (x 40); 100 spermatozoa are counted, from which are estimated the percentage of colored spermatozoa corresponding to the dead spermatozoa whose damaged membrane is permeable to the pink coloring, whereas the living spermatozoa with their functional membranes do not diffuse the dye and therefore remain colorless (Boussit 1989). The percentage of abnormal spermatozoa is studied on the same slide used to count living spermatozoa. 100 spermatozoa are randomized from which abnormal spermatozoa are distinguished (Boussit 1989). The spermatozoa concentration (in million / ml) is determined using a Thoma cell type hemocytometer from a diluted drop of semen. Counting is performed under the microscope at  $\times 40$  magnification (Boussit 1989).

All ejaculates are pooled to eliminate the differences, then the heterosperm samples are diluted (1/10) in a Tris diluent and the diluted sperm samples are divided into four equal fractions. was cooled gradually from 37 ° C to 5, 10, 15 and 20 ° C for 120 minutes (Mocé, E. and Vicente, JS 2009) and stored for up to 96 h. The evaluation of viability and motility of spermatozoa are determined at 24, 48, 72 and 96 h after the start of cooling This experimental procedure is repeated four times (once a week).

In the experiment, all measurements are made within 4 weeks directly after harvest, 24, 48, 72h and 96h. Our statistical study of the obtained data is processed by a software XLstat 2016 for the calculations concerning the descriptive statistics. The characteristics of ejaculate are then studied using a fixed-effect model of variance analysis including the effects of storage temperature, shelf life and their interactions.

## Results and Discussion

The color for all the results found in rabbits. According to the Roca and al (1993) sperm color chart, ranging from 0 to 3 (pearly white or ivory white sperm), a score of 3.0 is assigned for all ejaculates (Table 2). The average volume of all collections in our experiment is  $0.48 \pm 0.11$  ml, lower than that collected in different breeds (Californian, New Zealand White and Chinchilla of Mexico) between 32 and 48 weeks of age ( 1.15 ml) (Salcedo-Baca and al 2004). According to Boulbina and al (2011) in the local Algerian rabbit, the total volume

collected between the 24th and 33rd week of age is estimated at 1.2 ml. Furthermore, in hybrid rabbits, aged between 3 and 18 months, the mean sperm volume was 0.92 ml (Roca and al 2005). The pH of sperm collected during the experiment averaged 6.86. This value is considered normal and comparable to that reported by Brun and al (2006). A variability in sperm pH is revealed by the literature data between the different strains and races studied (from 6.94 to 7.63) (Garcia-Tomas and al 2006a, Brun and al 2002a, Brun and al 2009). The measurement of the pH at the pH meter must be immediate because the semen is rapidly acidified following the formation of lactic acid, resulting from the use of sugars by the spermatozoa (Alvarino 1993, Arencibia and Rosario 2009). The concentration shows an average of  $502 \pm 29$  million spermatozoa which is close to the values described by Boiti (2005) and Nabi (2013) for the same age. Our results are weaker than those recorded by Bencheikh (1993), Brun and al (2002), Castellini and al (2003), Theau-Clément and al (2009) and Brun and al (2006) in the L line ( $634 \times 10^6$  spermatozoa / ml) and line H ( $738 \times 10^6$  spermatozoa / ml). Indeed, Boulbina (2011) found a higher mean value ( $642 \times 10^6$  spermatozoa and  $735 \times 10^6$  spermatozoa / ml) in rabbits harvested from the 24th week of age to the 33rd age. Furthermore, Safaa and al (2008) indicate concentrations of  $703 \times 10^6$  spermatozoa / ml for the Black Baladi breed and  $590 \times 10^6$  spermatozoa / ml for the White New Zealand breed (in Egypt). However, significantly lower concentrations, of the order of  $243 \times 10^6$  spermatozoa / ejaculate, are revealed in various strains selected by INRA (1077, 2066, 2666 and 1001) (Theau-Clément and al 2003; 2009) and of the order of  $245 \times 10^6$  spermatozoa / ml for both lines C and R as reported by Garcia-Tomas and al (2006a). The mean scores of mass and individual motility were respectively  $5.21 \pm 0.77$  out of 9 and  $3.36 \pm 0.56$  out of 4. The whole of the ejaculates has an average percentage of spermatozoa abnormal of  $14.4 \pm 4.05\%$ . Nevertheless, the average scores of mass and individual motility are low, below the threshold of good mobility (mass motility: appearance of waves ( $\geq 6/9$ ) and individual motility: rapid progression ( $\geq 3/4$ ) and desirable for inseminations (Boussit 1989). This weakness of motility can be a specific character of the strain, as it could be explained by the small number of observations recorded in a potentially short duration. The spermatozoa in sperm of synthetic rabbits are characterized by a lower mass motility than that measured in rabbits of different origins (Bencheikh 1995, Theau-Clément and al 2003, Brun and al 2006 and 2009). On the other hand, their individual motility is sometimes superior, sometimes weaker than those reported by the bibliographic data and this according to the genetic origin of the rabbit (Bencheikh 1995, Garcia-Tomas and al 2006a).

Boulbina (2011) found a low rate of spermatozoa mobility in the local rabbit (64.2%) and 74.8% at older ages in the same population (between 24 and 33 weeks). Brun and al. (2006) reported a rate of 76% using males of selected lines on growth. The mobility of spermatozoa seems to improve with age (Salcedo-Baca and al 2004). In the rabbit, studies indicate that good mass motility of spermatozoa accompanies a good pregnancy rate (Brun and al 2002b). Whatever the characters considered (volume, motility, concentration), lower values are obtained than those recorded by Bencheikh (1993), Brun and al (2002), Castellini and al (2003), Brun and al (2006) and Theau-Clément and al (2009) (France). In fact, Boulbina (2011) found higher average values, namely volume (0.86 ml), mass motility (7.68), individual motility (3.57), and concentration ( $735 \times 10^6$  spermatozoa). ). These differences in volume and sperm concentration appear to be related to the genetic origin of the rabbits and the selection program to which they would be subjected. It is important to note that the methods used by these different studies are based on observation and counting, which is likely to be an additional source of variability in the results.

Table 2. Macroscopic and microscopic features of fresh semen.

	<i>N</i>	<i>avg</i>	<i>ETM</i>	<i>Distr</i>
Color	80	3.00	0.00	3—3
pH	80	6.86	0.12	6.66—7.20
Volume (ml)	80	0.48	0.11	0.23—0.80
Massive motility	80	5.21	0.77	4—6
% MM	80	82.86	7.82	60--95
Individual motility	80	3.36	0.56	2—4
Percentage of live spz	80	73.69	1.29	70—76
con x10 <sup>6</sup> spz/ml	80	502	28.9	437-564

*n*: number of ejaculates; *avg*: average; *ETM*: standard deviation of the mean; *Distr*: extent of distribution of spermatozoa per male; *con*: concentration; *spz*: spermatozoa; *n*: number of ejaculates; *avg*: average; *ETM*: standard deviation of the mean; *Distr*: extent of distribution of spermatozoa per male.

Mean values and global standard deviations of the different criteria for sperm analysis after storage are shown in Table 3.

The results obtained allow us to deduce that the overall motility decreases over the conservation time, from  $5.21 \pm 0.77$  to 24h vs 0 to 96h, while variable values are recorded for the storage temperatures with deterioration of the characteristics studied from 72h, for the deferent storage temperature.

The effect of storage time and temperature on the motility and vitality of the semen is shown in Figure 1, the results showed that all spermatozoa parameters are decreased with storage time ( $P < 0.05$ ), regardless of the refrigeration temperature used. This is comparable to the El-Gaafary (1994) study, using a Tris-yellow diluent, which found that sperm are cooled and stored at 5°C for 24 h. had an average motility of 45% and dropped to 25% after 48 hours. This sharp decrease in sperm viability during the entire storage time may be due to the cooling temperature. Temperature as a cause of disturbance of rabbit spermatozoa has not been established, however studies comparing various conservation temperatures of rabbit sperm conclude that 15 ° C is more appropriate than 5 ° C (Roca and al., 2000).

There are interactions between temperature and storage time ( $P < 0.05$ ) on all evaluated parameters. After 72 hours of storage, the quality of the semen stored at 15 ° C provided better results with significant deference ( $p < 0.05$ ) for all parameters studied compared to other temperatures used. However, the in vitro study by J. Roca (2000) demonstrated that 15 ° C may be a suitable temperature for storing rabbit semen when Tris buffer extensions are used. Castellini, 1996 concluded that inorganic buffers have limited buffering capacity while organic buffers, such as Tris, are more suitable for storage of rabbit sperm at low temperatures.

The effective use of chilled semen for AI depends on the vitality and motility of the sperm after storage. In our study the comparison of the quality of the semen kept at 4 ° C and 20 ° C in the same storage time, showed no significant difference ( $P > 0.05$ ) between the spermatozoa examined for the viability parameters and motility.

Table 3: The vitality and motility characteristics of the preserved semen.

	°C	fresh	24h	48h	72h	96h	ESM	P
TM (%)	4		25.50±1.12 <sup>e</sup>	07±2.24 <sup>gh</sup>	0.50±0.87 <sup>i</sup>	00 <sup>i</sup>		
	10	82.86	48.75±1.30 <sup>c</sup>	30.75±2.16 <sup>d</sup>	11±10 <sup>fg</sup>	2.75±0.83 <sup>hi</sup>		
	15	±7.82 <sup>a</sup>	61.75±2.05 <sup>b</sup>	43.75±2.38 <sup>c</sup>	30±2.12 <sup>de</sup>	13.5±1.50 <sup>f</sup>		
	20		32.50±1.80 <sup>d</sup>	11±2.24 <sup>fg</sup>	03±0,71 <sup>hi</sup>	0.25±0.43 <sup>i</sup>		
MM	4		03 <sup>cd</sup>	1.25±0.43 <sup>fg</sup>	00 <sup>h</sup>	00 <sup>h</sup>		
	10	5.21	3.75±0.43 <sup>bc</sup>	2.75±0.43 <sup>de</sup>	1.5±0.5 <sup>fg</sup>	0.75±0.43 <sup>gh</sup>		
	15	±0.77 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	3.25±0.43 <sup>bcd</sup>	3 <sup>cd</sup>	2 <sup>ef</sup>		
	20		3 <sup>cd</sup>	1.75±0.43 <sup>f</sup>	0.75±0.43 <sup>gh</sup>	00 <sup>h</sup>		
MI	4		2 <sup>bc</sup>	1 <sup>de</sup>	00 <sup>f</sup>	00 <sup>f</sup>		
	10	3.36	2.75±0.43 <sup>ab</sup>	1.75±0.43 <sup>cd</sup>	1 <sup>de</sup>	0.25±0.43 <sup>ef</sup>		
	15	±0.56 <sup>a</sup>	3.25±0.43 <sup>a</sup>	2.75±0.43 <sup>ab</sup>	2 <sup>bc</sup>	1 <sup>de</sup>		
	20		2 <sup>bc</sup>	1 <sup>de</sup>	0.5±0.5 <sup>ef</sup>	00 <sup>f</sup>		
VIT (%)	4		36.75±1.78 <sup>d</sup>	9.75±1.09 <sup>ef</sup>	0.25±0.43 <sup>g</sup>	00 <sup>g</sup>		
	10	73.69	53±1.87 <sup>c</sup>	31.75±1.48 <sup>d</sup>	14.5±1.8 <sup>e</sup>	5±1.22 <sup>fg</sup>		
	15	±1.29 <sup>a</sup>	66.5±1.12 <sup>b</sup>	53.75 ±2.38 <sup>c</sup>	36.75 ±5.17 <sup>d</sup>	15.25 ±2.77 <sup>e</sup>		
	20		33.5±2.18 <sup>d</sup>	15.75 ±3.11 <sup>e</sup>	5.75±0.83 <sup>fg</sup>	00 <sup>g</sup>		

1.014  
< 0.0001

(a, b, c, d, e, f, g, h, i) in the same row and for the same parameter, the assigned values of the same letter do not differ significantly (P> 0.05).

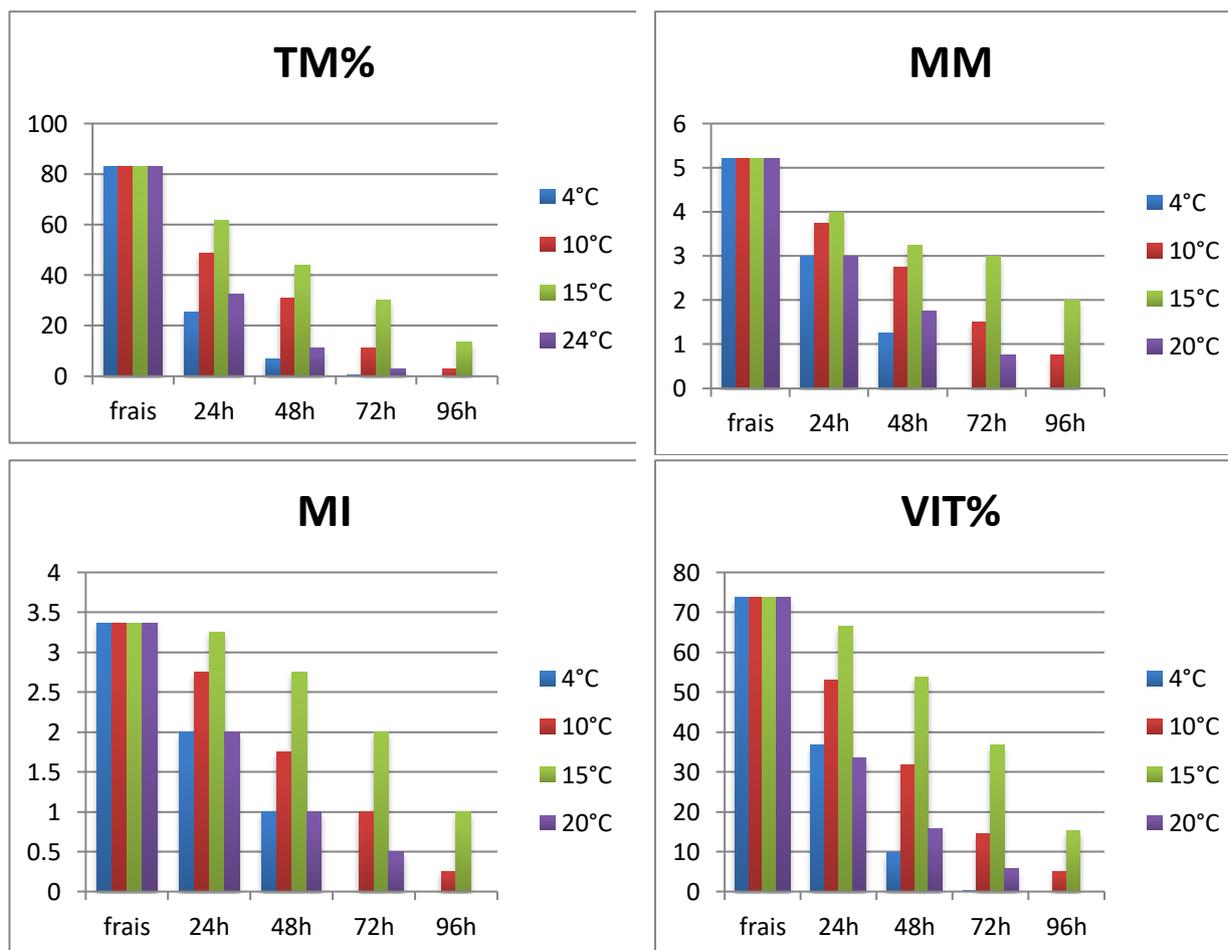


Figure 1: Evolution of semen variation parameters during the storage period. The quality of spermatozoa is higher (P <0.05) for semen's kept for 24 hours compared to other durations. Spermatozoa examined at 96 h shows the lowest parameters (P <0.05).

Previous studies to evaluate the fertility of sperm stored in rabbits have been conducted under experimental conditions (El-Gaafary 1994, Maertens and Luzi 1995). Whereas the conception rate did not decrease when the semen was stored at 20 ° C for 6 h after dilution in a commercial diluent based on Tris Maertens and Luzi (1995), while El-Gaafary (1994) showed a fall birth rates when sperm were stored at 5 ° C for 24 and 48 h after dilution in a Tris-yellow diluent.

Sperm storage temperature is an important factor in maintaining the fertility of rabbit spermatozoa (López and al., 1996) and the temperature of 15 ° C seems to be better than the temperatures of 4 ° C, 10 ° C and 20 ° C. ° C with a shelf life of no more than 72h and the use of Tris buffer extensions.

### Conclusion

It can be concluded that Tris buffer diluents are effective for dilution and storage of rabbit sperm at 15 ° C for 72h. The effect of storage time and temperature on semen motility and vitality shows that all spermatozoa parameters are decreased with storage time ( $P < 0.05$ ), regardless of temperature refrigeration used.

Nevertheless, after 72 hours, the quality of the semen kept at 15 ° C provided better results with a significant deference ( $p < 0.05$ ) for all the parameters studied compared to the other temperatures used, this quality being higher ( $P < 0.05$ ) for semen's kept for 24 hours compared to other durations. So we can never go back to the original quality of the fresh semen.

The comparison of the quality of the semen kept at 4 ° C and 20 ° C in the same storage time, shows no significant difference ( $P > 0.05$ ) between the spermatozoa examined for viability and motility parameters.

The temperature of 15 ° C seems to be better than the temperatures 4 ° C, 10 ° C and 20 ° C with a shelf life not exceeding 72h and the use of Tris buffer extensions, which allows to conclude that are effective for dilution and storage of rabbit semen at 15 ° C for 72h.

### References

- Alvarino M R. (1993). Reproduction control in the rabbit. 1st ed., IRYDA, World Press, 137 p.
- Alvarino et al. (1996) Alvarino J.M.R., López F.J., Del Arco J.A., Delgado F., Artificial insemination of rabbit with diluted semen stored for 24 hours. 6th World Rabbit Congress, Toulouse, 9-12 juillet 1996, V.Po I3.7 -24,0 .p
- Amann R P and Lambiase J T. (1967). The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. J. Reprod. Fert., 14 : 329-332.
- Baril G, Chemineau P, Cogniez Y, Guerin Y, Leboeuf B, Orgueur P and ValletJC. (1993). Training manual for artificial insemination in sheep and goats. FAO. Rome (Italy) 231p.
- Bencheikh N. (1993). Effect of seed collection frequency on sperm and sperm characteristics collected in rabbits. Ann Zootech 44, 263-279
- Bencheikh N. (1995). Sperm production and fertility of the male rabbit. *Oryctolagus cuniculus*. Effects of collection frequency and genetic type. State thesis. National Agronomic School of Toulouse.

- Bodnar K, Torok I, Hejel P and Bodnar E. (1996) Preliminary study on the effect of ejaculation frequency on some characteristics of rabbit semen. 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2 : 41-44.
- Boiti C, Castellini C, Theau-Clément M, Besenfelder U, Liguori L, Renieri T and Pizzi F. (2005). Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Science*, 13 : 71-91.
- Boulbina and al. (2011). Characteristics of rabbit semen of local population (*Oryctolagus cuniculus*). Thesis of magisterium. National Veterinary School of Alger.
- Boussit D. (1989). Reproduction and artificial insemination in rabbit production. French Association of Cuniculture, Ed. Lempdes France, 234 p.
- Brun J M, Theau-Clément M, Esparbié J, Falières J, Saleil G and Larzul C. (2006). Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63-d body weight. *Theriogenology*, 66 : 2165- 2172.
- Brun J M, Theau-Clément M and Bolet G. (2002a). Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. *Anim. Res.*, 51 : 433-442.
- Brun J M, Theau-Clément M and Bolet G. (2002b). The relation ship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 70 : 139-149
- Brun J M, Sanchez A, Duzert R, Saleil G and Theau-Clément M. (2009). Genetic parameters of the characteristics of rabbit semen. 13th Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 November 2009, Le Mans (France), 4 p.
- Cabannes C R. (2008). Comparison of semen quality assessment methods in bovine, canine and human species. PhD thesis, National Veterinary School of Toulouse, 107 p.
- Cardoso J R and Bão S N. (2007). Effects of chronic exposure to soy meal containing diet or soy derived isoflavones supplement on semen production and reproductive system of male rabbits. *Animal Reproduction Science*, 97: 237-245.
- Carluccio, A., Robbe, D., De Amicis, I., Contri, A., Tosi, U., Russo, F., and Paoletti, M. (2004). Artificial insemination in rabbits: Laboratory and field trial with three different semen extenders. *World Rabbit Sci.* 12: 65–79.
- Castellini C, Boiti C, DalBosco A, Lattaioli P and Zampini D. (2003). Effect of supplementation with n-3 fatty acids and vitamin E on semen characteristics of rabbits of different ages. 10th Cunicole Research Days, INRA-ITAVI, Paris, p.77-80
- Castellini. (1996). Recent advances in rabbit artificial insemination. In: Proceeding of 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France, Vol. 2, pp. 13–26.
- El-Gaafary, M.N., 1994. Quality and fertility of cooled rabbit semen supplemented with cyclic-AMP stimulators. *Anim. Reprod. Sci.* 34, 307–313.
- Gacem M and Bolet G. (2005). Creation of a line resulting from the cross between a local population and a European strain. 11th Journées de la Recherche Cunicole, November 29-30, 2005, Paris, p.15-18.
- Garcia M L, Andrés I, Caselles P, Lavara R. (2004). Study of the age of rabbit males in artificial insemination. *Bulletin of Coalition*, No. 132. March-April, p. 17-25.
- Garcia-Tomas M, Sanchez J, Rafel O, Ramon J and Piles M. (2006a). Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. *Livestock Science*, 100 : 111-120.
- Garcia-Tomas M, Sánchez j, Rafel O, Ramon J and Piles M. (2006b). Reproductive performance of crossbred and purebred male rabbits. *Livestock Science*, 104 : 233-243.
- Gottardi L. (1993). Medium-long term preservation of rabbit seminal material. Dilution media and temperatures, *Rivista de Coniglicoltura* 5 (1993) 31-38.
- Johinke, D., de Graaf, S.P., and Bathgate, R. (2014). Investigation of in vitro parameters and in vivo fertility of rabbit spermatozoa after chilled storage. *Anim. Reprod. Sci.* 147: 135–

143.

- J. Roca, S. Mart'inez, J.M. Vázquez, X. Lucas, I. Parrilla, E.A. Mart'inez. (2000). Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15\_C Animal Reproduction Science 64 (2000) 103–112
- Khalil M H. (2002). The Baladi Rabbits (Egypt). Mediterranean Options, Series B "Studies and Research", N ° 38, p. 41-50.
- Lankri E, Boudour K, Aichouni A and Rechachou F. (2019). Effect of frequency of collecting sperm on the quality of the semen in the rabbit line ITELV 2006 Livestock Research for Rural Development 31 (5) 2019
- Lavara R, Vicente J S, Marco-Jiménez F and Baselga M .(2008). Correlation between CASA and ASMA parameters in rabbit semen. 9th World Rabbit Congress, juin 2008, Verona (Italy), p.10-13.
- López J, Alvarino J M R, Del Arco J A, Bueno A and Sanz C .(1996). Effect of male rabbit management on semen production. 6th World rabbit congress, Toulouse (France), 2 : 83-86.
- López, F.J. and Alvarino, J.M.R. (1998). Artificial insemination of rabbits with diluted semen stored up to 96 hours. World Rabbit Sci. 6: 251–253.
- Maertens, L., Luzi, F., 1995. Effect of diluent and storage time of rabbit semen on the fertility of does reared Under two different lighting schedules. World Rabbit Sci. 3, 27–34.
- Martinet L. (1974). Aspects of the physiology of reproduction in rabbits. Poultry News 212,13-155
- Mathur A.K., Srivastava R.S., Anil Joshi, Rawat P.S. (1992). Effect of pH and temperature on in vitro preservability of rabbit semen, Indian J. Animal Sci. 62 (1992) 144-146.
- Mocé, E. and Vicente, J.S. (2009). Rabbit sperm cryopreservation: a review. Anim. Reprod. Sci. 110: 1–24.
- Morrell, J.M. (1995). Artificial insemination in rabbits. Br. Vet. J. 151, 477–488.
- Nabi I. (2013). Reproductive performance of the white population rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): Sperm production of males and fertility of females conducted in artificial insemination. Memory of Magisterium, National Veterinary School El Harach Alger. 93p.
- Perrier G., Thau-Clement M., Poujardieu B., Delhomme G., Conservation test of rabbit semen for 72 h; Journées de la Recherche Cunicole in France, Lyon 13-14 May 1998, pp. 237-240.
- Petitjean. (1965). Research on estimating the fertilizing power of roosters. Thesis of State Engineer, Agriculture, France.
- Roca T, Casas J and De Gracia J. (1993). Effect of environmental factors on the characteristics of rabbit semen. Cuniculture Bulletin, No. 70, 4 p.
- Roca J, Martinez S, Orengo J, Parrilla I, Vazquez J M and Martinez E A. (2005). Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. Livestock Production Science, 94 (2005) : 169-177.
- Roca, J., Martínez, S., Vázquez, J.M., Lucas, X., Parrilla,I., and Martínez, E.A. (2000). Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15° C. Anim. Reprod. Sci. 64: 103–112.
- Safaa H M, Emarah M E and Saleh N F A. (2008) Seasonal effects on semen quality in Black Baladi and White New Zealand rabbit bucks. World Rabbit Science, 16 : 13- 20.
- Salcedo-Baca R, Pichardo-Reyes M and Echagaray-Torres J L. (2004). Buck semen characteristics from a Mexican population of the Californian, White New Zealand, and Chinchilla breeds. 8th World Rabbit Congress, 7-10 septembre 2004, Puebla (Mexico), p. 334-348.
- Santa Maria A., Gutierrez E., Lopez Martin J., Refrigeration (5 ° C for 24 hours), effect of additives and fertility of Angora rabbit semen. Agro-Science 5 (1989) 43-48.

- Theau-Clément M, Sanchez A, Duzert R, Saleil G and Brown JM (2009). Study of factors of variation of sperm production in rabbits. 13th Journées de la Recherche Cunicole, November 17-18, Le Mans (France), 4p.
- Theau-Clément M, Thébault RG, Bolet G and De Rochambeau H. (1991). Reproduction of Angora rabbit of French strain: ovulation in the female, production of semen in the male. *Reprod. Nutr. Dev.*, 31: 667-673.
- Theau-Clément M, Brun J M, Sabbioni E, Castellini C, Renieri T, Besenfelder U, Falières J, Esparbié J and Saleil G. (2003). Comparison of the sperm production of three strains of rabbits: average and variability. 10th Journées de la Recherche Cunicole, INRA-ITAVI 19-20 November 2003, Paris (France), p. 81-88.

## EFFET DU NIVEAU D'ALIMENTATION ET DU TAUX PROTEIQUE DE LA RATION SUR LA LIBIDO ET LES CARACTERISTIQUES DE LA SEMENCE DU LAPIN DE LA SOUCHE ITELV 2006.

Lankri E<sup>1\*</sup>, Boudour<sup>1</sup> K., Aichouni<sup>1</sup> A., Rechachou<sup>1</sup> F., Zerrouki N<sup>2</sup>

1. Université Hassiba Benbouali, Chlef, Algérie.
2. Laboratoire Ressources Naturelles. UMMTO. Tzi-Ouzou. Algérie

\*correspondant : [e.lankri@univ-chlef.dz](mailto:e.lankri@univ-chlef.dz)

**Résumé** – 27 lapins mâles de la souche synthétique « ITELV 2006 », âgés de 7,5 à 8 mois ont été repartis en trois lots expérimentaux afin d'étudier l'effet d'une augmentation du taux protéique via l'alimentation sur l'ardeur sexuelle et les caractéristiques de leur semence. Le 1<sup>er</sup> lot (A) reçoit *ad libitum* un aliment standard du type granulé contenant 14,5% de protéines, le 2<sup>ème</sup> lot (B) reçoit uniquement 120 g/jour du même aliment standard, sans aucune supplémentation. Le 3<sup>ème</sup> lot (C) reçoit une ration de 120g/j du même aliment standard dont la teneur en protéines est augmentée à 19,7 % par une supplémentation avec 41,6g de peptone de viande. Des pesées journalières des quantités ingérées, ainsi que des mesures hebdomadaires du poids corporel et de la libido des mâles, ont été effectuées. Pour chaque mâle, deux éjaculats successifs à intervalle de 10 mn, ont été récoltés et évalués une fois par semaine. Les résultats montrent que la consommation alimentaire journalière moyenne des lapins était de 131,7g/j, 115,2g/j et 112g/j respectivement pour les mâles des lots A, B et C. L'effet de l'alimentation n'était pas accentué car peu de variations ont été observées. En effet, les lapins ont bien réagi aux sollicitations avec un taux de récolte utile très élevé (100%). Il a été enregistré, par ailleurs, un volume moyen de 0,48±0,10ml, une concentration moyenne de 444,58±54,83×10<sup>6</sup> spermatozoïdes par ml (spz/ml) et des valeurs moyennes de 4,76±0,74 et 3,15±0,56 respectivement pour la motilité massale et la motilité individuelle. De même, peu de variations significatives étaient observées, mis à part la vitalité et les anomalies, aucune différence n'a été révélée pour les caractéristiques des éjaculats entre les trois lots, par contre la vitalité et le pourcentage des spz anormaux sont affectés lorsque les mâles sont rationnés et sans supplémentation. On peut conclure que la supplémentation corrige la carence liée au rationnement des mâles à raison de 120g/j d'aliment standard.

**Abstract: Effect of feeding level and rate of protein intake on libido and characteristics of the seed of the male rabbit.**

**Summary** - 27 male rabbits of the synthetic strain "ITELV 2006", aged from 7.5 to 8 months, were divided into three experimental plots to study the effect of an increase in protein content via diet on the sexual ardor and the characteristics of semen. The 1st lot (A) received *ad libitum* a standard feed of the granular type with 14.5% protein, the 2nd lot (B) only received 120 g/day of the same standard feed, without any supplementation. The 3rd lot (C) received a 120g/day intake of the same standard feed with an increase in the protein level to 19.7% by supplementation with 41.6g meat peptone. Daily measurements of intake quantities, as well as weekly measurements of body weight and male libido, were carried out. For each male, two successive ejaculats at 10-minute intervals were collected and evaluated once a week. The data show that the average daily intake was 131.7g/d, 115.2g/d and 112g/d for the males in lots A, B and C respectively. The effect of diet was not pronounced as few variations were noted. In fact, Rabbits responded well to solicitations and had a very high useful collection rate (100%). In addition, an mean volume of 0.48±0.10 ml, mean concentration of 444.58±54.83×10<sup>6</sup> spermatozoa per ml (spz/ml) and mean values of 4.76±0.74 and 3.15±0.56 respectively for mass and individual motility were recorded. In the same way, few significant variations have been observed, apart from vitality and abnormalities, no difference has been revealed for the ejaculate characteristics between the three groups, however, vitality and percentage of abnormal spz are affected when the males are rationed and without supplementation. It can be deduced from these results that the supplementation corrected the deficit associated with male feeding at 120g/day of standard diet.

### Introduction

Une alimentation appropriée, permettant aux lapins de satisfaire tous leurs besoins nutritionnels, assure non seulement un bon développement du sujet mais aussi une reproduction régulière. La nutrition azotée du lapin doit lui permettre à la fois d'assurer le renouvellement de ses tissus et la synthèse à l'exportation mais aussi d'assurer ses différentes fonctions physiologiques en particulier la

reproduction. Pour les lapins mâles en reproduction, les travaux expérimentaux sont peu nombreux que pour les femelles et les jeunes mâles en croissance, mais depuis qu'on s'intéresse à la pratique de l'insémination artificielle, on cherche à améliorer les performances chez le mâle soit par l'amélioration génétique soit par l'amélioration des paramètres liés à son environnement tels que l'utilisation d'un régime alimentaire spécialement conçu pour les mâles afin

d'optimiser la libido et la qualité du sperme (Nizza *et al.*, 2000a).

Notre travail s'inscrit dans ce cadre, il a pour objectif de déterminer l'effet du niveau d'alimentation et de la teneur protéique de la ration sur la libido et les caractéristiques de la semence du lapin.

### 1. Matériel et méthodes

Dans un bâtiment d'élevage disposant d'un système de refroidissement et dans les mêmes conditions, 27 lapins mâles de la souche synthétique ITELV 2006 âgés de 7,5 à 8 mois et ayant un poids moyen de  $3750 \pm 124$  g ont été répartis en trois lots. Durant la période expérimentale tous les animaux reçoivent un aliment commercial sous forme de granulé, contenant du maïs, tourteaux de soja, issues de meunerie, calcium, phosphates, acides aminés, oligoéléments, poly vitamines, antioxydant, acide folique, huile de soja et luzerne. La composition chimique de l'aliment est donnée dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Composition chimique de l'aliment standard**

Composant	Teneur. (% tel quel)	Référence de la méthode d'analyse
Matière sèche	91,42	NA 1291-1994
Matière minérales	7,51	NA 650- 1994
Protéines brutes	14,5	NA 652-1992
Cellulose brute	9,49	NA 6138-1991
Matière grasse	3,38	NA 654-1992
Calcium	0,89	NA 653- 1992
Phosphore	0,60	NA 657-1992

Les 27 mâles utilisés dans l'étude ont été répartis en 3 lots homogènes (n=9), en fonction du régime alimentaire. Le lot témoin (A), recevait, à volonté, un aliment standard commercial granulé avec un niveau protéique de 14,5% (tableau 1). Le lot (B) recevait 120 g/lapin/j du même aliment standard. Le lot (C) recevait une ration de 120g de l'aliment standard supplémentée par l'ajout quotidien de 6,6 g de peptone de viande, de manière à obtenir un aliment à 19,7% de protéines brutes. Pour le lot C, l'aliment granulé a été humidifié pour permettre une solubilisation de la peptone de viande qui est saupoudrée et mêlée à l'aliment afin d'obtenir un mélange homogène prêt à être distribué aux animaux. Le choix de la peptone de viande comme source pour augmenter la teneur en protéines de l'aliment standard est justifié par l'absence, au niveau des unités de fabrication locales d'un aliment pour lapin de formule alimentaire contenant le taux protéique nécessaire pour l'expérimentation, les autres farines d'origine animale étant absentes dans l'alimentation en Algérie, depuis la crise de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) en. La peptone utilisée était une "*Peptone from meat, peptic digest for microbiology*" de marque Sigma-Aldrich (lot N° BCBM5829V). Selon le fournisseur, cette peptone contenait 93,8% de protéines brutes (N x 6.25) et 6% de cendres.

Les quantités d'aliment consommées et refusées ont été pesées quotidiennement. L'évolution du poids individuel a été suivie par pesée hebdomadaire des

animaux la matinée, avant la distribution des aliments. La libido des lapins définie par le temps écoulé en seconde entre l'introduction de la femelle, boute-en-train utilisée pour solliciter le mâle à éjaculer, et le premier chevauchement (T1), et celui entre l'introduction de la femelle et l'éjaculation effective (T2), a été mesuré à l'aide d'un chronomètre.

Sur une période de 2 mois (août et septembre), les lapins des 3 lots étaient prélevés une fois par semaine (tous les dimanches pour le lot A, les lundis pour le lot B et les mardis pour le lot C), à l'aide d'un vagin artificiel et en présence de la femelle boute-en-train avec deux éjaculats successifs séparés de 10 minutes.

L'évaluation de la qualité de l'éjaculat a été faite Immédiatement après la récolte, avec un délai ne dépassant pas 15 min. Pendant ce temps, le sperme est placé dans un bain marie à 37°C, à l'aide d'un portoir isolant, afin de le protéger de la lumière et des chocs thermiques.

Le volume total de l'éjaculat recueilli est mesuré par lecture directe sur le tube gradué servant à la collecte. Une élimination du gel est effectuée en cas de présence de celui-ci dans le tube de collecte.

La couleur est déterminée selon Boussit (1989), par observation du sperme dans le tube de collecte transparent. La motilité massale des spermatozoïdes (spz), évaluée sous microscope optique a été déterminée selon la grille de Petitjean (1965) (Boussit 1989) allant de 0 à 9. De la même manière, la motilité individuelle a été appréciée après dilution du sperme dans du sérum physiologique, le type du mouvement individuel du spz a été noté en utilisant l'échelle d'Andrieu (1974) (Boussit 1989).

Le pourcentage de spz morts a été déterminé par la coloration vitale éosine-nigrosine (Baril *et al.* 1993). Ainsi, le nombre de spz vivants correspond aux spz incolores à membranes fonctionnelles ne laissant pas diffuser le colorant (Boussit 1989). Le pourcentage de spz anormaux et la concentration en spz (en millions/ml) ont été déterminés en suivant la technique de Boussit (1989). Dans l'expérience, toutes les mesures ont été faites au cours des 8 semaines directement après la récolte.

#### 1.2. Analyses statistiques

Pour l'étude statistique des données obtenues a été traitée par le logiciel XLstat 2016 pour les calculs concernant d'abord les analyses descriptives. Les caractéristiques de l'éjaculat ont été étudiées au moyen d'un modèle d'analyse de variance à effets fixes incluant les effets du régime alimentaire.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. La consommation alimentaire

Les quantités moyennes ingérées durant la période expérimentale varient en fonction des lots et des individus, les lapins du lot C où la ration est supplémentée par les peptones de viande consomment la quantité d'aliment la plus faible ( $112,1 \pm 7,8$ g), suivi par les animaux du lot rationné B ( $115,2 \pm 6,6$ g), alors

que les lapins du lot témoin (A) ingèrent la plus grande quantité d'aliment (131,7±10,9g) (tableau 2).

**Tableau 2 : La consommation alimentaire moyenne des mâles des trois lots expérimentaux.**

	lot A	lot B	lot C
Nb. d'observations	600	600	600
Min – Max (g)	85-174	78-120	80-120
Moyenne (g/j)	132 (±11)	115 (±7)	112(±8)

### 2.2. Evolution du poids corporel

Nos résultats indiquent une variation du poids vif relativement faible en fonction des lots et d'individus. On s'attendait à un gain de poids plus important pour les mâles du 3<sup>ème</sup> lot, supplémentés en protéines. Par contre, les résultats montrent des valeurs significativement plus élevées en faveur des animaux du lot témoin A, comparativement aux deux autres lots. ( $P < 0,05$ ) (tableau 3), (Figure 1).

**Tableau 3 Poids corporel moyen et gain de poids moyen pour les trois lots expérimentaux.**

	lot A	lot B	lot C
Nb. d'observations	72	72	72
Poids initial (g)	3671 <sup>b</sup>	3775 <sup>a</sup>	3690 <sup>ab</sup>
Poids final (g)	3900 <sup>a</sup>	3641 <sup>c</sup>	3749 <sup>b</sup>
Ecart moyen (g)	+229 <sup>a</sup>	- 134 <sup>c</sup>	+59 <sup>b</sup>

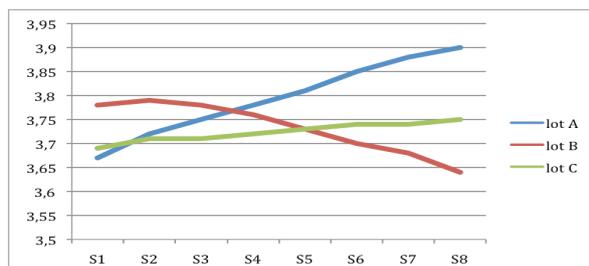
  

Comparaison	lot A vs C	lot A vs B	lot B vs C
ESM	5,12	4,50	0,62
Valeur critique	2,92	2,92	2,92
p.	<0,0001	<0,0001	0,810

(a, b, c) dans la même ligne, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ).

Valeur critique du d de Tukey : 3,41

De nombreux auteurs ont montré un effet dépressif du rationnement des mâles reproducteurs sur leurs poids. En effet, Luzi et al. (1996) ont rapporté que les mâles rationnés juste au besoin d'entretien, soit : 114 à 125 g/jour ou encore 75-80% de l'*ad libitum*, présentent un poids vif réduit (4,0 vs 4,8 kg). D'autres études ont noté que chez le lapin de la race Néo-Zélandaise, l'ingestion augmente moins rapidement que le poids vif car le lapin régule son ingestion selon son besoin énergétique (Lebas et Gidenne 2005). Dans notre étude, les conditions de l'expérimentation, étaient maîtrisées dans le bâtiment d'élevage afin de supprimer l'effet des températures élevées de la saison estivale (climatiseurs placés dans le bâtiment permettant de maintenir la température à 25°C).



**Figure 1 : l'évolution du poids moyen des 9 lapins de chaque lot au cours des 8 semaines d'essai**

### 2.3. Evaluation de la production spermatique chez les lapins

#### 2.3.1. Taux de récolte utile des lapins

En général, nous avons obtenu un taux global de récoltes utiles élevé 100%. Les éjaculations donnant lieu à des éjaculats avec du gel représentent 26,05% avec une prédominance significative pour le premier éjaculat comparé au second (18,88% vs 7,17%). Le refus de la collecte est nul au cours des 8 semaines d'expérimentation. Contrairement à Boulbina (2011), qui a signalé que le taux de refus était plus élevé dans un essai de 6 semaines par rapport à un essai de 16 semaines (3,6% vs 1,6%). Bencheikh (1993) a noté que quelque soit le rythme de collecte, les valeurs de refus restent faibles, et il indique que la réponse des mâles à la collecte, peut constituer une caractéristique de la souche. Le refus des mâles INRA A2066 et celui de mâles INRA 1077 était respectivement de 1,7% et 8,2% (Bencheikh, 1993).

Le pourcentage de présence d'urine, ou celui des éjaculats à volume réduit s'avère nul, contrairement aux résultats de Boulbina (2011) qui a rapporté un pourcentage de 4,8% pour la population locale algérienne. Bencheikh (1993) a trouvé un taux d'éjaculats avec urine de 13,4% et 6,5% respectivement chez les mâles des souches A2066 et A1077. Brun et al. (2006) ont trouvé un taux de 4,7 et 13,9% respectivement pour les lignées L et H.

Le refus de la collecte nul de notre expérimentation ne pourrait être expliqué par l'adaptation et l'entraînement des mâles avant l'expérimentation d'une part et d'autre part, à la bonne maîtrise de la technique de récolte.

#### 2.3.2. Evolution hebdomadaire de l'ardeur sexuelle et des caractéristiques de la semence

##### 2.3.2.1. Ardeur sexuelle ou libido

Le temps séparant la présentation de la femelle bout-en-train du chevauchement (T1) est en moyenne de 9,53; 11,85 et 9,53 secondes pour les lots A, B et C respectivement. Le temps séparant la présentation de la femelle et l'éjaculation (T2) est en moyenne de 15,71 secondes pour le lot A, 18,09 pour le lot B et 15,43 pour le lot C, avec un temps significativement prolongé des mâles de lot B avec une probabilité  $P < 0,05$ . Ainsi la moyenne de la libido sur toute la période d'essai est de 16,41± 3,4 sec. Il semblerait que le T1 et T2 se révèlent plus proche que celui étudié par Lankri (2019) pour la même souche synthétique (14,9 secondes) et Bencheikh (1993) pour les souches A 2066 et A 1077 (4 et 5,5 secondes), les moyennes de T2 de ces deux souches étant respectivement de 14 et 18 secondes. Boulbina (2011) signale chez les mâles de la population locale algérienne, une libido (T2) moyenne de 14,5 et une chute de 50,2 à 15 secondes entre 17 et 19 semaines

##### 2.3.2.2. Caractéristiques de la semence

###### - Caractéristiques macroscopiques

L'analyse macroscopique de la semence des mâles des trois lots ne révèle aucune différence apparente de couleur de la semence. Selon la grille déterminant la couleur du sperme de Roca et al. (1993), une note proche de 3 a été attribuée pour les trois lots expérimentaux avec le symbole BN pour blanc nacré. Les valeurs pH déterminés sur les spermatozoïdes des trois lots ne montrent aucune différence significative ; elles sont en moyenne de  $7,06 \pm 0,27$  ;  $7,06 \pm 0,23$  et  $7,03 \pm 0,25$  respectivement pour les lots A, B et C. Ces valeurs sont considérées comme normales et comparables à celle rapportée par Lankri et al. (2019) ; Brun et al. (2006).

Pour le volume des éjaculats des trois lots, les valeurs oscillent autour d'une moyenne de 0,48 ml (tableau 4). Nos résultats en termes de volume se rapprochent des valeurs décrites par Lankri et al. (2019) ; Boiti, (2005). Nous avons obtenu des valeurs plus faibles que celles enregistrées par Bencheikh (1993), Castellini et al. (2003), Brun et al. (2006) et Theau-Clément et al. (2009). Boulbina (2011) rapporte des valeurs moyennes supérieures, à savoir un volume de 0,86 ml.

#### - Caractéristiques microscopiques

Les caractéristiques microscopiques de la semence des mâles de la souche synthétique (concentration, les motilités massale et individuelle) sont relativement faibles et similaires à celles signalées par Nabi (2013),

**Tableau 4: Effet du type d'alimentation sur la libido et les caractéristiques de la semence :**

	T1 (sec)	T2 (sec)	Volume (ml)	Couleur	pH	Motilité massale	Motilité individ.	Concentra. $\times 10^6$ spz/ml	Morts %	Anormaux %
<b>Lot A</b>	9,53 <sup>b</sup> ( $\pm 3,10$ )	15,71 <sup>b</sup> ( $\pm 4,01$ )	0,48 <sup>a</sup> ( $\pm 0,10$ )	2,99 <sup>a</sup> ( $\pm 0,12$ )	7,06 <sup>a</sup> ( $\pm 0,27$ )	4,99 <sup>a</sup> ( $\pm 0,52$ )	3,21 <sup>a</sup> ( $\pm 0,50$ )	450 <sup>a</sup> ( $\pm 52$ )	27,9 <sup>b</sup> ( $\pm 2,3$ )	113 <sup>b</sup> ( $\pm 1,6$ )
<b>Lot B</b>	11,85 <sup>a</sup> ( $\pm 2,24$ )	18,09 <sup>a</sup> ( $\pm 2,40$ )	0,48 <sup>a</sup> ( $\pm 0,11$ )	2,84 <sup>b</sup> ( $\pm 0,37$ )	7,06 <sup>a</sup> ( $\pm 0,23$ )	4,28 <sup>b</sup> ( $\pm 0,87$ )	3,04 <sup>b</sup> ( $\pm 0,64$ )	438 <sup>a</sup> ( $\pm 57$ )	29,1 <sup>a</sup> ( $\pm 4,3$ )	13,0 <sup>a</sup> ( $\pm 3,0$ )
<b>Lot C</b>	9,53 <sup>b</sup> ( $\pm 3,08$ )	15,43 <sup>b</sup> ( $\pm 3,96$ )	0,48 <sup>a</sup> ( $\pm 0,10$ )	2,99 <sup>a</sup> ( $\pm 0,12$ )	7,03 <sup>a</sup> ( $\pm 0,25$ )	5,00 <sup>a</sup> ( $\pm 0,54$ )	3,19 <sup>ab</sup> ( $\pm 0,51$ )	446 <sup>a</sup> ( $\pm 55$ )	28,0 <sup>b</sup> ( $\pm 2,4$ )	11,5 <sup>b</sup> ( $\pm 2,0$ )

(a, b) dans la même colonne, les valeurs affectées de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ).

sur les lapins mâles de population blanche et élevés dans la région de Tizi-Ouzou, qui obtient une concentration moyenne de  $428,94 \times 10^6$  spz. Par contre, Boulbina (2011), sur les lapins de population locale enregistre des valeurs moyennes plus élevées pour les caractères de motilité massale (7,68), motilité individuelle (3,57), et de concentration ( $734,9 \times 10^6$  spz). Nos résultats sont également inférieurs à ceux signalés par plusieurs auteurs sur les souches INRA (Bencheikh (1993), Brun et al., 2006), Theau-Clément et al., 2009),

#### 2.4. Effet du niveau d'alimentation et de la supplémentation protéique sur la libido et les caractéristiques de la semence

Le plus bas niveau de protéines (14,5%) dans le régime B rationné de 120g/j a donné des temps de libido significativement plus longs et des taux de vitalité et des anomalies des spermatozoïdes plus faibles que dans les deux autres groupes. En ce qui concerne la quantité d'aliments à administrer à des mâles, Luzi et al. (1996) montrent qu'un protocole

diététique restreint réduit la libido et certains coups séminaux. Cependant, le plus important facteur n'est pas la quantité de diète fournie, mais ses caractéristiques chimiques.

Nos résultats montrent que le rationnement et la supplémentation ne semblent pas influencer les caractéristiques de la semence (mis à part la libido, les anomalies, le % de vitalité), car aucune différence significative n'a été révélée. cela pourrait être lié à la courte durée de l'expérimentation. En revanche, Luzi et al (1996) ont conclu que le rationnement réduit significativement le poids vif, la libido et diminue le volume des éjaculats ainsi que le nombre de spermatozoïdes par éjaculat. Par contre, dans cette même expérimentation, les auteurs n'observent aucune influence du taux protéique (14,5% ou 19,7%) sur les caractéristiques de la semence de ces mâles. Les différentes études relatives à l'effet de la teneur protéique de l'aliment sur les caractéristiques de la semence recommandent un taux optimal de 14,5% (Luzi et al. 1996).

En revanche, Castrovilli et al. (1995), ont trouvé une concentration (spz/ml) faible avec une augmentation du taux de protéines (13-17-21%) sans changement du volume de l'éjaculat.

Le contenu protéique du régime a, au contraire, considérablement influencé la qualité des semences et les paramètres de fertilité observés in vivo, soulignant, ainsi la nécessité de ne pas abaisser les teneurs en

protéines brutes de moins de 15% dans l'alimentation de l'Homme. (Nizza et al, 2000a).

Pour l'alimentation d'un lapin mâle reproducteur, la composition de l'aliment distribué a plus d'importance que le niveau d'alimentation lui-même (Lebas, 2014) (Nizza et al. 2000a). Par ailleurs, les taux de lysine et de méthionine dans l'alimentation des lapins mâles influencent peu la libido et la qualité de la semence (Nizza et al. 2000b).

D'après Nizza (2000a), l'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculat et de la concentration en spermatozoïdes. Les régimes contenant plus de 15% de protéines brutes sont recommandés pour assurer une production de sperme appropriée (Nizza et al. 2000a).

## Conclusion

Au terme de ce modeste travail, il en ressort que :

La consommation alimentaire journalière moyenne des lapins mâles de la souche synthétique est de  $120 \pm 8 \text{ g/j}$ . Néanmoins les lapins ont bien réagi aux sollicitations avec un taux de récolte utile de 100% et une moyenne de l'ardeur sexuelle de 16,4 secondes, avec un temps plus court pour le lot C.

L'analyse de la semence montre que les trois lots présentent une production spermatique moyenne; les lapins mâles produisent un volume moyen de 0,48 ml, avec une concentration moyenne de  $444,58 \pm 54,83 \times 10^6 \text{ spz/ml}$ . L'analyse de la motilité donne une note moyenne de  $\approx 5/9$  (bonne) et  $\approx 3/4$  (bonne) respectivement pour les motilités massale et individuelle.

Nous signalons que notre expérimentation a été menée sur un échantillon réduit de mâles et sur une période courte, Il serait donc nécessaire de compléter cette étude préliminaire par des essais portant sur un plus grand effectif et sur différentes modalités.

À ce propos, plusieurs paramètres importants seraient à développer.

- Pour distinguer les facteurs génétiques des facteurs phénotypiques, il est recommandé d'utiliser un échantillon beaucoup plus important, pour pouvoir calculer l'héritabilité de chaque caractère et voir l'influence de l'environnement sur les variations de ces paramètres. Un effectif élevé, en incluant de jeunes lapins serait intéressant à mettre en place pour confirmer l'effet de l'aliment sur les performances des lapins reproducteurs.

- Une bonne connaissance et une meilleure gestion des besoins nutritionnels, en tenant compte d'autres éléments nutritionnels (énergétique,...).

- Une bonne maîtrise de la collecte de la semence du lapin par le préleveur car la relation entre celui-ci et l'animal occupe une place prépondérante dans la réussite de la collecte.

## Références

Baril G, Chemineau P, Cogniez Y, Guerin Y, Leboeuf B, Orgueur P et Vallet JC 1993 Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO. Rome (Italie) 231p.

Belbedj, R. 2008. Dynamisme de croissance des organes chez le lapin local. Mémoire de magistère Université Hadj Lakhdar Batna 86p.

Bencheick N., 1993. Production de sperme et fertilité du lapin mâle. *Oryctolagus cuniculus*. Effets de la fréquence de collecte et du type génétique. Thèse d'état. Ecole nationale Agronomique de Toulouse.

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

Boulbina, I; 2011. Caractérisation de la semence du lapin de population locale. Mémoire de magistère Ecole nationale supérieur vétérinaire El Harach Alger 98p.

Boussit, D. 1989. Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. Association Française de Cuniculture, Ed. Lempdes France, 234 p.

Brun J.M., Theau-clement M., Esparbie J., Falieres J., Saleil G. et Larzu, C., 2006. Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63-d body weight. *Theriogenology*, 66: 2165- 2172.

Castellini, C., Boiti, C., Dal Bosco, A., Lattaioli P. et Zampini D., 2003. Effet de la supplémentation en acides gras n-3 et vitamine E sur les caractéristiques de la semence de lapins d'âges différents. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*, INRAITAVI, Paris, p. 77-80.

Castrovilli C., Tamburini A., Carrara C., 1995. Livelli proteici della dieta, linee genetiche e caratteristiche del materiale seminale nel coniglio. 49° Conv. SISVet., 1037-1038.

Gidenne T., Lebas F., 2005. Le comportement alimentaire du lapin. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 29-30 novembre 2009, Paris, 184-196.

Lankri E., Boudour K., Aichouni A., Rechachou F., 2019. Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006. *Livestock Research for Rural Development* 31 (5) 2019.

Lebas F., 2014. Rationner les lapins en élevage commercial : Lesquels ? – Pourquoi ? – Comment ? - *Journée Alimentation du Lapin, Tunis, 26 Février 2014 - Présentation orale, 44 diap.* <http://www.cuniculture.info>

Luzi, F., Maertens, L., Mijten P. et Pizzi F., 1996. Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. *6th World Rabbit Congress*, Toulouse (France), 2: 87-92.

Nabi, I. 2013. Performances de reproduction du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) de population blanche : Production spermatique des mâles et fertilité des femelles Conduites en insémination artificielle. Mémoire de magistère Ecole nationale supérieur vétérinaire EL HARACH Alger. 93p

Nizza A., Di Meo, C. et Taranto, S., 2000a. Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics bucks. *7th World Rabbit Congress*, 4-7 Juillet, Valencia (Spain), 7 p.

Nizza A., Di Meo, C. et Taranto, S., 2000b. Effect of lysine and methionine on libido and semen characteristics of bucks. *World Rabbit Science*, 8 (4) : 181-184

Petitjean 1965 Recherche sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. Thèse d'ingénieur d'état, Agriculture, France.

Roca, T., Casas, J. et De Gracia, J., 1993. Efecto de los factores ambientales sobre las características del semen de conejo. *Boletín de cunicultura*, N° 70, 4 p.

Theau-clement, M., Sanchez, A., Duzert, R., Saleil, G. et Brun J.M., 2009. Etude de facteur de variation de la production spermatique chez le lapin. *13èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 17-18 novembre, Le Mans (France), 4p

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams CE. (1972).** Induction of ovulation and AI techniques in the rabbit. *Vet Rec* 91, 194-197.
- Abdel-Ghaffar A.E. El-Azab, A.I. Benha. El-Dawy, K.H. (1994).** Rabbit semen metabolism *Options Méditerranéennes, série A "Séminaires méditerranéens"*, N° 8, p. 305-312.
- Adams C.E. et Sinch M.M. (1981).** Semen characteristics and fertility of rabbits subjected to exhaustive use. *Lab. Anim.* 15 : 157-161.
- Alvarino M.R. (1993).** Control de la reproducción en el conejo. 1ère éd., IRYDA, Mundi-Prensa, 137 p.
- Alvarino J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In : *Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., 2000, vol. A : 13-35.*
- Amann R.P. (1966).** Effect of éjaculation frequency and breed on semen characteristics and sperm output of rabbits. Dairy Breeding Research Center, Department of Dairy Science, The Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, U.S.A. *f. Repro. Fert.* (1966) 11 : 291-293
- Amann R.P. et Lambise J.T. (1967).** The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. *J. Reprod. Fert.*, 14 : 329-332.
- Amann R.P. et Lambise J.T. (1969).** The male rabbit. III. Determination of daily sperm production by means of testicular homogenates. *J. Anim. Sci.*, 28 : 369-374.
- Amann RP. (1981).** A critical review of methods for évaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *J Androl* 2, 37-58
- Amann RP. (1989).** Can the Fertility Potential of a Seminal Sample Be Predicted Accurately? *Journal of Andrology, Vol. 10, No. 2, March/April 1989 Copyright C American Society of Andrology*
- Amorim E.A.M., Torres C.A.A., Graham J.K., Amorim L.S., Santos L.V.L., 2009.** The hypoosmotic swelling test in fresh rabbit spermatozoa (*Short communication*). *Animal Reproduction Science*, 111 : 338-343.
- Andrieu R. (1974).** Physiologie de la reproduction chez le lapin domestique. Conservation du sperme de lapin sous forme liquide. Mémoire de fin d'études, ENSA de Montpellier, Station de Physiologie de la reproduction, INRA, France.
- Andrieu R., et Courot M. (1976).** Congélation du sperme de lapin en vue de l'insémination artificielle. *1<sup>er</sup> Congrès International de Cuniculture, Dijon, Comm. N. 67.*

- Arencibia Arrebola D F. et Rosario Fernandez L A. (2009).** Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de Conejos aplicado en estidiuos de toxicologia de la fertilidad. *Redvet Revista Electonica Veterinaria*, 8 (10) : 1-18.
- Arroita Z, Falceto M V, Martin Rillo S, De Alba C, Moreno C, Ciudad M J and Rafel O. (2000).** Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen. In *Proc.7th World Rabbit Congress, 4-7 July, Valencia (Spain). Vol. A : 81-87(6 p.)*. In *Journal of the World rabbit science association, vol. 8, supplément 1*
- Bagliaca, M. y cols. (1987).** Temperatura y performance di conigli maschi riproduttori. *Rivista di Coniglicoltura*, 24(10), 61-65.
- Bamba K et Cran. (1988).** Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by Bright field microscopy using an eosin-nigrosin strain. *Theriogenol.* 29 : 1245- 1251.
- Barone R. (1978).** Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie 2 : Appareil uro-génital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. *Vigot. Paris*, 896p.
- Barone R. 2001.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition VIGOT FRÈRES. P 241-516.
- Battaglini M, Castellini C. et Lattaioli, P. (1992).** Variability of the main characteristics of rabbit semen. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15 : 439- 446.
- Bencheick N. (1993).** Production de sperme et fertilité du lapin mâle. *Oryctolagus cuniculus* .Effets de la fréquence de collecte et du type génétique. *Thèse d'état. Ecole nationale Agronomique de Toulouse.*
- Bencheikh N. (1995).** Effets de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. *Ann. Zootech.* 44 : 263-279.
- Berchiche M., Zerrouki N., Lebas F. (2000a).** Reproduction performances of local Algerian does raised in rational conditions. *7th World Rabbit Congress, Valencia Spain, 2000 Volume B, 43-49.*
- Berchiche M., Kadi SA., Lebas F. (2000b).** Valorisation of wheat by-products by growing rabbits of local Algerian population. *7th World Rabbit Congress, Valencia Spain, 2000 Vol. C, 119- 124.*
- Berger M , Jean-Faucher C.H, De-Turckheim M., Veyssièrè G, Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. (1982).** Testostérone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* 99 : 459-465.
- Biwejnis-Klosowska, D. Klosowski, B. (1972)** Historique des faits Waminzu histaminowego na jakosc nasienia krolikow *Zeszyty Problème Postepow Nauk Roln (1972) 124 : 145- 149.*

- Bodnar K, Torok I, Hejel P et Bodnar E. (1996).** Preliminary study on the effect of ejaculation frequency on some characteristics of rabbit semen. *6th World Rabbit Congress, Toulouse (France)*, 2 : 41-44.
- Boiti C, Castellini C, Theau-Clément M, Besenfelder U, Liguori L, Renieri T et Pizzi F. (2005).** Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Science*, 13 : 71-91.
- Bonnes G, Desclaude J, Drogoul C, Gadoud R, Jussiau R, Leloc'h A, Montmeas L. et Robin G. (1988).** Reproduction des mammifères d'élevage. : Ed. FOUCHER. Paris, 237p. (Collection INRAP).
- Bonnes G., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Le Loc'h A., Montémas L., et Robin G. (2005).** Reproduction des animaux d'élevage. 2<sup>ème</sup> Ed. Educagri : 407p.
- Boulbina I. (2011).** Caractérisation de la semence du lapin de population locale. *Mémoire de magistère Ecole nationale supérieur vétérinaire EL HARACH Alger* 98p.
- Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. *Association Française de Cuniculture, Ed. Lempdes France*, 234 p.
- Breddermann, P.J. and Foote, R.H. (1971).** Factors stabilizing bull sperm cell volume and prolonging motility at high dilution. *Expl Cell Res.* 66 : 458-464.
- Bresse G. (1968).** Morphologie et physiologie animales. *Larousse. Paris*, 1968.
- Briffaut A.S., (2007).** Congélation de la semence canine : Détermination de la combinaison optimale de quatre facteurs différents. *Thèse de Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon*, 128 p.
- Bronskaya et al., (1972).** A new protectant for Storage of rabbit semen without cooling. *Tekhnol. Iskusstv. Osemenen. i Biol. Vosproisved. Sel'.-khoz . Zhivot ;Moscow*, 231-233.
- Brun J.M., Theau-clement M. et Bolet G. (2002a).** Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. *Anim. Res.*, 51 : 433-442.
- Brun J M, Theau-Clément M et Bolet G. (2002b).** The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 70 : 139-149
- Brun J.M., Theau-clement M., Esparbie J., Falières J., Saleil G. et Larzul, C. (2006).** Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63-d body weight. *Theriogenology*, 66: 2165- 2172.
- Brun J M, Sanchez A, Duzert R, Saleil G et Theau-Clément M. (2009).** Paramètres génétiques des caractéristiques de la semence de lapin. *13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 Novembre 2009, Le Mans (France)*, 4 p.

- Brun J.M., Ailloud E., Balmisse E., Sanchez A., Bolet G., Theau-Clement M., (2013).** Héritabilité de la fécondance de la semence de lapin utilisée en insémination artificielle. *15èmes Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre 2013, Le Mans, France.*
- Bunaciu P, Cimpeanu I et Bunaciu M. (1996).** Mating frequency effect on spermatogenesis and performance of breeding rabbits. *6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2 : 51-54.*
- Cabannes C R. (2008).** Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine. *Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 107 p.*
- Cardoso J R et Bão S N. (2007).** Effects of chronic exposure to soy meal containing diet or soy derived isoflavones supplement on semen production and reproductive system of male rabbits. *Animal Reproduction Science, 97: 237-245.*
- Castellini C. (1996).** Recent advances in rabbit artificial insemination. *6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), 2: 13-26*
- Castellini C., Boiti C., Dal Bosco A., Lattaioli P. et Zampini, D. (2003).** Effet de la supplémentation en acides gras n-3 et vitamine E sur les caractéristiques de la semence de lapins d'âges différents. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole, INRA-ITAVI, Paris, p. 77-80.*
- Castellini C., Dal Bosco A. et Cardinali R. (2004).** Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid on the semen characteristics of rabbit bucks. *8th World Rabbit Congress, 7-10 Septembre 2004, Puebla (Mexico), p. 245-250.*
- Castellini C., Besenfelder U., Pizzi F., Theau-Clément M., Vicente J., Renieri T., (2006).** Developments in the investigation of rabbit semen and buck management. *In : Recent advances in rabbit sciences. Édité par Maertens L. et Coudert P., p. 53-67.*
- Castellini C., Lattaioli P., Cardinali R., Dal Bosco A., Mourvaki E., (2007).** Validation of a spectrophotometric method used for the measurement of spermatozoa concentration in rabbit semen. *World Rabbit Science, 15 : 115-119.*
- Castellini C. (2008).** Semen production and management of rabbit bucks. *9th World Rabbit Congress, 10-13 Juin 2008, Verona (Italy), p. 265-277.*
- Castrovilli C., Tamburini A., Carrara C. (1995).** Livelli proteici della dieta, linee genetiche e caratteristiche del materiale seminale nel coniglio. *49° Conv. SISVet., 1037-1038.*
- Chapel TA, Burns RE. (1971).** Oral contraceptives and exacerbation of lupus erythematosus. *Am J Obstet Gynecol. 1971 Jun 1;110 (3):366–369.*
- Cherfaoui DJ., Theau-Clement M., Zerrouki N., Berchiche M. (2013).** Reproductive performance of male rabbits of Algerian local population. *World Rabbit Sci. 2013, 21: 91-99. doi:10.4995/wrs.2013.1173*

- Chen Y. ; Yang X. ; Foote R.H, (1989).** Timed breeding of rabbits with fresh and frozen-thawed semen and evidence of acrosome alteration following freezing and thawing. *Anim. Reprod. Sci.*, 18, 35-41.
- Chevrel, M.L, Cormier,M. (1948).** Effets de la carence en vitamine A sur le système génital male du lapin. *Compte Rendu de l'Academie des Sciences 1948 Vol.206 pp.1854-1855*
- Christian Meyer.(2009).** Document interne, L'insémination artificielle de la lapine. Note bibliographique, UR18 Systèmes d'élevage et produits animaux, Dep. Environnement et Société, Cirad, TA C18/A, BP 5035, 34 398 Montpellier Cedex 5, France
- Chury, J. ; Crha, J. ; PáNek, K. (1970).** Effect of feeding lucerne to male rabbits on fertilization and development of the ova in the females. *Veterinary Medicine 1970 Vol.15 pp.489-495*
- Cooksey et Lasley (1963).** Seasonal rhythm in the fertility of the male domestic rabbit. *Small stook mag.*,47-10.
- Costantini (1988).** Cité par PRIGENT AY(1989).
- Coutelet, G. (2014).** Réseau de fermes de références cunicoles. Programme Cunimieux. Résultats de la campagne 2012-2013. *Rapport d'études. 54 pp.*
- Crimella C., Luxi F. et Grilli G. (1992).** The reproductive efficiency of bucks in different génotypes. *J. App. Rabbit Res. 15* : 480-488.
- Davaoust C. (2010).** Quelles sont les phases critiques d'un cycle de production?.*Association Scientifique Française de Cuniculture.*
- Davis, R.O ; Gravance, C.G ; Overstreet, JW. (1995).** A standardized test for visual analysis of human sperm morphology. *Fertility and Sterility*, 1995, 63, 1058-1063.
- Derivaux J. (1971).** Reproduction chez les animaux domestiques II. Le mâle, insémination artificielle *Ed Derouaux. Liège 1971, 195 p.*
- Desjardins C. Hafsjavascript H.D. (1968).** Niveaux de FSH et de LH hypophysaires chez les génisses de la naissance à la puberté *Journal of Animal Science, volume 27, numéro 2, mars 1968, pages 472 à 477, <https://doi.org/10.2527/jas1968.272472x>*
- Di lorio M. (2014).** Cryopreservation of rabbit semen: effectiveness of different permeable and non-permeable cryoprotectants on post-thaw sperm quality and reproductive performances. PhD thesis, Université of Molise, 2014.
- Djago A.Y et Kpodekon M. (2007).** Méthodes et Techniques d'Élevage du Lapin : Élevage en Milieu tropical. *Editeur : Association "Cuniculture" 31450 Corronsac – France.*
- El-Gaafary M.N. et Marai F.M. (1994).** Artificial insémination in rabbits. *Options méditerranéennes. Série A.*
- Facchin E. (1988).** La maladie X des lapins. *Cuniculture, 8 4 (15), 275-276.*

- Fengyaun L. et al (1987).** Effects of cottonseed cake containing gossypol on antispermatogenesis of male rabbit. *Acta Vet Zootech.Sinica*,18(1),18-22
- Finzi A. (1990).** Recherches pour la sélection de souches de lapins thermotolerants. *Options Méditerranéennes (Série Séminaires)*. 8: 41-45.
- Finzi A., Valentini A, Filippi Balestra G. (1994).** Approche de quelques indicateurs du stress chez le lapin. *Cuniculture*, 118 : 189-193.
- Finzi A., Morera P., Kuzminsky G. (1995).** Sperm abnormalities as possible indicators of rabbit chronic heat stress. *World Rabbit Sci.*, 3 : 157–161.
- Florin H. (1988).** La conduite de l'élevage du lapin : le male Doc eleveur,juillet-aout.
- Fortun-Lamothe L., Theau-Clément M., Combes S., Allain D., Lebas F., Le-Normand B., Gidenne T. (2015).** Physiologie. In : Quae (Ed.) : Le Lapin, de la biologie à l'élevage, Gidenne T & Huyghe C, 2015, 33-76.
- Fromont A et Tangay M. (2001).** L'élevage de lapins. *Educagri éditions. Dijon*,
- Gacem M et al. (2009).** Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie. *13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 novembre 2009. Le Mans, France.*
- García M.L., Andres I., Caselles P. et Lavara R. (2004).** Estudio de la edad de los machos de conejo en la inseminacion artificial. *Boletin de cunicultura*, N° 132. Mars-Avril, p. 17-25.
- Garcia-Tomas M., Sanchez J., Rafel O., Ramon J., Piles. M. , (2005).** Variabilité et relations phénotypiques de plusieurs caractéristiques de production et de qualité du sperme chez le lapin. 11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris.
- Garcia-Tomas M, Sanchez J, Rafel O, Ramon J and Piles M. (2006a).** Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. *Livestock Science*, 100 : 111-120.
- Garcia-Tomas M, Sànchez j, Rafel O, Ramon J et Piles M. (2006b).** Reproductive performance of crossbred and purebred male rabbits. *Livestock Science*, 104 : 233-243.
- Garner et Johnson, (1995).** Viability Assessment of Mammalian Sperm Using SYBR-14 and Propidium Iodide. *Biology of Reproduction*, Volume 53, Issue 2, 1 August 1995, Pages 276 284,<https://doi.org/10.1095/biolreprod53.2.276>
- Garreau H., Theau-Clément M., Gidenne T. (2015).**: Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication. In : Quae (Ed.) : Le Lapin, de la biologie à l'élevage, Gidenne T & Huyghe C, 2015, 13-32.
- Gayard V. (2007).** Physiologie de la reproduction des mammifères. *Cours, école nationale vétérinaire, Toulouse, France.*

- Gogol P., Bochenek M., Smorag Z. (2002).** Effect of rabbit age on spermatozoa chromatin structure. *Reprod. Dom. Anim.*, 37: 92-95
- Grégoire A T, Bratton R W et Foote R H. (1958).** Sperm output and fertility of rabbits ejaculated either once a week or once a day for 43 weeks. *J Anim Sci* 17, 243-248
- Hahn J., Remmers D. (1974).** Dilution and preservation of rabbit semen. *Zuchtungskunde*, 309-314.
- Hanzen Ch., (2009).** La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants. *Année : 2008-2009, 21 p.*
- Haskouri H., (2001).** Insémination artificielle et détection des chaleurs chez la vache, institut agronomique et vétérinaire HASSENE II, département de la reproduction animale et de l'insémination artificielle, p1.
- Hassanien H.H.M., Baiomy A.A. (2011).** Effect of breed and parity on growth performance, litter size, litter weight, conception rate and semen characteristics of medium size rabbits in hot climates. *EPSA, V 31, N°1. 2011.*
- Holtz W et Foote R H. (1978).** Composition of rabbit semen and the origin of several constituents. *Biology of Reproduction*, 18 : 286-292.
- Ingrid D. (2008).** Analyse génétique et modélisation de la production de semence et de la réussite de l'insémination artificielle en ovin, *Thèse Pour obtenir le grade de Docteur d'Agroparistech Discipline : Génétique animale*, p16-28.
- Joly T. et Theau-Clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture. *A.S.F.C. Journée du 5 Décembre 2000, Valencia 2000 "Ombres et lumières", thème "Reproduction", p. 19-24.*
- Juscenko, N.P. (1960).** Morfologiceskie izmenenija zivcikov pri razlicnyh uslovijah hranenija semeni zivotnyh. *Vestnik sel'sko-khozjaistvennoi Nauki, VASHNIL 1960 Vol.5 No.8 pp.134-136*
- Kadi, S.A., Guermah, H., Bannelier, C., Berchiche, M., Gidenne, T. (2011).** Nutritive value of sun-dried Sulla (*Hedysarum flexuosum*), and its effect on performance and carcass characteristics of the growing rabbit. *World Rabbit Science, Vol. 19, P.151-159.*
- Kasa I.W et Thwaites C.J. (1992).** Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8 hours or either 1 or 5 days. *J. Appl. Rabbit. Res.*, 15 : 560-586.
- Khalil M H. (2002a).** The Baladi Rabbits (Egypt). *In rabbits genetic resources in mediterranean countries. Options Méditerranéennes, série B "Etudes et Recherches", CIHEAM, Zaragoza. N° 38, p. 37-50.*
- Khalil M H. (2002b).** The Giza White rabbits (Egypt). *In rabbits genetic resources in mediterranean countries. Options Méditerranéennes, série, CIHEAM, Zaragoza. N° 38, p. 23-36.*

- Kirton K.T., Claude Desiardins., Harold D., Hafs. (1966).** Levels of Some Normal Constituents of Rabbit Semen During Repetitive Ejaculation. *Fertility and Sterility Volume 17, Issue 2, March–April 1966, Pages 204-211* [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)35886-1](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)35886-1) Get rights and content
- Koefoed-Johnsen HH. et Fulka J. (1966).** Some observations on infertility in rabbits. I. effect of season on ovulation rate. II. Fertilising capacity of rabbit semen after Storage in vitro. *Aarsberetn. Inst. Sterilitetsforsk. K. Vet.-og Landbohojsk., 205-212*
- Kolb E, 1975** *Physiologie des animaux domestiques. Éditions Vigot Frères, Paris*
- Kouthinhouin B. (2010).** Cours de biotechnologie de la reproduction des monogastrique *uac, epac, abomey –calavi, bénin, 60 p.*
- Kuttner et al.,(1975).** Artificiel insémination of rabbits with particular attention to semen dilution and Storage. *Archiv für Tierzucht, 18 (4), 247- 254.*
- Kuzminsky G., Fausto A.M., Morera P., 1996.** Morphological abnormalities of rabbit spermatozoa studied by scanning electron microscope and quantified by light microscope. *Reprod. Nutr. Dev., 36 : 565-575.*
- Lakabi-Ioualitene D., Lounaouci-Ouyed G., Berchiche M., Lebas F., & Fortun-Lamothe L. (2008).** The effects of the complete replacement of barley and soybean meal with hard wheat by-products on diet digestibility, growth and slaughter traits of a local Algerian rabbit population. *World Rabbit Sci. 2008, 16: 99-106.*
- Laiblin et Rohloff,(1974).** Problems of deep-freezing rabbit semen. *Zuchthygiene. 9, 89.*
- Lankri E., Boudour K., Aichouni A. et Rechachou F. (2019).** Effet de la fréquence de récolte de sperme sur sa qualité chez des lapins de souche ITELV 2006. *Livestock Research for Rural Development 31 (5) 2019.*
- Lattaioli P, Castellini C. (1998).** Efficacité d'un système d'analyse d'images pour évaluer la semence de lapin : précision et répétabilité. *7emes Journées de la Recherche Cunicole; Lyon, 13-14 mai : 233-236.*
- Lavara R., Moce E., Andreu E., Pascual J.J., Cervera C., Viudes-de-castro M.P. et Vicente J.S. (2000).** Effects of environmental temperature and vitamin supplements on seminal parameters from a rabbit line selected by high growth rate. *7th World Rabbit Congress, 4-7 Juillet, Valencia (Spain), 5 p*
- Lavara R, Vicente J S, Marco-Jiménez F and Baselga M. (2008).** Correlation between CASA and ASMA parameters in rabbit semen. *9th World Rabbit Congress, juin 2008, Verona (Italy), p.10-13.*
- Lebas F. (1980).** Les recherches sur l'alimentation du lapin : évolution au cours des 20 dernières années et perspectives d'avenir. *2<sup>nd</sup> World Rabbit Congress, barcelone, vol. 2, 1 -18.*

- Lebas F., Coudert P., Rochambeau H. et Thebault R.G. (1996).** Le lapin : Elevage et pathologie. Rome. 227 p.
- Lebas F., Combes S. (2001).** Quel mode d'élevage pour un lapin de qualité ? *Journée scientifique CRITT Valicentre Chambray les Tours, France. 27 novembre*, pp:29-38.
- Lebas F. (2002).** Biologie du lapin. <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm>.
- Lebas F et Gidenne T. (2005).** Le comportement alimentaire du lapin. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole Paris France*.
- Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm>.
- Lebas F. (2014).** Rationner les lapins en élevage commercial : Lesquels ? – Pourquoi ? – Comment ? - *Journée Alimentation du Lapin, Tunis, 26 Fevrier 2014 - Présentation orale, 44 diap.* <http://www.cuniculture.info>
- Le Moigne A., Foucrier J. (2009).** Biologie du développement. 7<sup>em</sup> Edition. DUNOD Inc. Biologie du développement. 7<sup>ème</sup> Edition. DUNOD Inc. : 416p.
- Le Roux A., (2002).** La réforme de verrats de centres d'insémination artificielle pour baisse de qualité de semence : approche anatomopathologique et histologique. *Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale de Toulouse*, 141 p.
- López J, Alvarino J M R, Del Arco J A, Bueno A et Sanz C. (1996).** Effect of male rabbit management on semen production. 6<sup>th</sup> World rabbit congress, Toulouse (France), 2 : 83-86.
- Lopez F.J., Alvarino J.M.R. (1998).** Artificial insemination of rabbits with diluted semen stored up to 96 hours. *Department Production Animal E.T.S.I. Agronomy, 28040 Madrid, Spain.* p251.
- Lounaouci-Ouyed G, Berchiche M et Gidenne T. (2014).** Effects of substitution of soybean meal-alfalfa-maize by a combination of field bean or pea with hard wheat bran on digestion and growth performance in rabbits in Algeria. *World Rabbit Sci. 2014, 22: 137-146* <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/.../1487-8877-1-PB.pdf>
- Luzi F., Maertens L., Mijten P. et Pizzi F. (1996).** Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. *6th World Rabbit Congress, Toulouse (France)*, 2: 87-92.
- Macari M. et Machado C.R. (1978).** Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of the semen. *Lab . Anim .*, 12, 37-39.
- Mac Millan et Hafs, (1967).** Semen output of rabbit ejaculated after varying sexual préparation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 125 (4), 1278- 1281.

- Maertens L. Luzi F. (1995).** Effect of diluent and Storage time of rabbit semen on the fertility of does reared Under two different lighting schedule. *World Rabbit Science*, 3, 57-61.
- Marai I.F.M., Habeeb A.A.M., Gad A.E. (2002a).** Rabbits productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science*, 78: 71-90
- Martinet L. (1978).** Physiologie de la reproduction du lapin Journées d'étude CNRS-INRA, Orlens, France.
- Mazouzi-Hadid F., Abdelli-Larbi O., Lebas F., Berchiche M and Bolet G. (2014).** Influence of coat colour, season and physiological status on reproduction of rabbit does in an Algerian local population. *Animal Reproduction Science, Volume 150 (1-2), pp 30 34.* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432014002395>
- Mefti Korteby H., Kaidi R., Sid S., Daoudi O. (2010).** Growth and Reproduction Performance of the Algerian Endemic Rabbit. *European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X Vol.40 No.1 (2010), pp.132 -143* © EuroJournals Publishing, Inc. 2010 <http://www.eurojournals.com/ejsr.htm>
- Meunier et Coll., (1982).** Relation entre la sécrétion de LH et de FSH au moment de l'ovulation et les taux d'ovulation ou la mortalité embryonnaire précoce. 3<sup>ème</sup> Journées de la Recherche Cunicule, Parie, France,1.
- Mocé E., Lavara R., Lavara F., Vicente J.S. (2000a).** Effect of reproductiverhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. *In Proc.: 7th World Rabbit Congress, 4-7 July, 2000, Valencia, Spain. Vol. A: 197–201.*
- Mocé E., Aroca M., Lavar R et Pascual R. et Pascual J.J. (2000b).** Effect of dietary Zinc and vitamin supplementation on semen characteristics of high growth rate males during summer season. *7th World Rabbit Congress, 4-7 juillet, Valencia (Spain), 7 p.*
- Mocé E., Vicente JS., Lavara R. (2003)** Effect of freezing–thawing protocols on the performance of semen from three rabbit lines after artificial insemination *Volume 60, Issue 1, June 2003, Pages 115-123 Theriogenology, 2003 – Elsevier*
- Mocé E., Vicente J.S. (2009).** Rabbit sperm cryopreservation: A review. *Animal Reproduction Science 2009, 110, 1–24.*
- Montaillé, (1992).** L'insémination artificielle en élevage cunicole.
- Morrell J.M., (1995).** Artificial insemination in rabbits. *British Veterinary Journal*, 151 (5) : 477-488.
- Nabi I. (2013).** Performances de reproduction du lapin(*Oryctolagus cuniculus*) de population blanche : Production spermatique des mâles et fertilité des femelles conduites en insémination artificielle. *Mémoire de magistère, Ecole nationale supérieure vétérinaire El Harach Alger. 93p.*

- Nabi I., Fatmi S., Zerrouki-Daoudi N., Iguer-ouada. M., (2017).** Interest of vitamin E and cholesterol preloaded in cyclodextrins on motility of cryopreserved rabbit semen. *Revue Méd. Vét.*, 2017, 168, 4-6, 87-92.
- Nagase et Graham (1964).** *Prod. Vth. Inter. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem.*, 4, 378-391.
- Najjar et Ben Mrad, (2013).** Facteurs de variations de la qualité du spermogramme du lapin reproducteur. *Livestock Research for Rural Development* 25 (8) 2013.
- Nelson, (1985).** In « physiologie of fertilisation. » Academic Press, London, New York, volume II, 215-234.)
- Nizza A., Di meo C. et Taranto S. (2000a).** Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics bucks. *7th World Rabbit Congress*, 4-7 Juillet, Valencia (Spain), 7 p.
- Nizza A., Di meo C. et Taranto S. (2000b).** Effect of lysine and methionine on libido and semen characteristics of bucks. *World Rabbit Science*, 8 (4) : 181-184.
- Nizza A, Di Meo C, Taranto S and Stanco G. (2001).** Effect of collection frequency on rabbit semen production. *World Rabbit Science*, 10 (2) : 49-52
- Nizza A., Di meo C. et Taranto S. (2003).** Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. *Reprod. Dom. Anim.*, 38 : 436- 439.
- O'shea et Wales, (1966).** The metabolism of ram, bull, dog and rabbit spermatozoa after cooling to 5°C. *Aust. J. Biol. Sci.*, 20, 447-460.
- Oloufa et al. (1951)** Effect of Environmental Temperature and the Thyroid Gland on Fertility in the Male Rabbit *Statioi Technical Bulletin* 20 .October 1951, *Agricultural Experiment Station Oregon State College Corvallis*
- Oshio et coll (1987).** Caractéristiques de rabbit sperm by equilibrium sédimentation in Percoll during fréquent éjaculation. *Archives of Andrology*, 17 (3), 189-194.
- Panella F. et Castellini C. (1990).** Fattori ambientali e genitiche influiscono sulle caratteristiche del seme di coniglio. *Riv. Di. Coniglicolt.* 27(8) : 39-41
- Paufler et coll, (1979).** Post-partum insémination in rabbits following induction of ovulation by means of a synthétic LHRH. *Zuchthygiene* . 14 (1), 37-42.
- Pesch S., Bergmann M. (2006).** Structure of mammalian spermatozoa in respect to viability, fertility and cryopreservation. *Micron*, 37: 597-612.
- Petitjean. (1965).** Recherche sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. Thèse d'ingénieur d'état, Agriculture, France.
- Quiles A., Hevia M.L., (2000).** Bases fisiozootécnicas de la reproduccion en cunicultura. *Agricultura : Revista agropecuaria*. N° 814, p. 270-273.

- Quintela L.A., Ana I.P., Vega M.D., Gullon J., Prieto M.C., Barrio M., Becerra J.J., Maseda F. et Herradon P.G., (2004).** Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial Insemination by adding buserelin to the seminal dose. *INRA, EDP Sciences, DOI: 10.1051/rnd: 2004015.* p79-88.
- Rizzi C., Brecchia G. et Chiericato G.M. (2004).** A study on the reproductive performance and physiological response of rabbit bucks fed on diets with two different mineral contents. *8th World Rabbit Congress, 7-10 septembre 2004, Puebla (Mexico), p. 336-342.*
- Roca T., Casas J. et De gracia J. (1993).** Efecto de los factores ambientales sobre las características del semen de conejo. *Boletín de cunicultura, N° 70, 4 p.*
- Roca T. Melero I. et Garcia I. (1995b).** Efecto de la iluminacion, la temperatura ambiental y la higrometria sobre la produccion de semen en un genotipo de conejo para carne. *Boletín de cunicultura, N° 78, p. 56-61.*
- Roca. J ., Martinez S., Vazquez J.M., Lucas X. et Martinez E. (2000).** Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in trisbuffer extenders and stored at 15 °C. *Anim.Reprod. Sci. 64 : 103-112.*
- Roca J., Martinez S., Orengo J., Parrilia I., Vazquez J.M. et Martinez E.A. (2005).** Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. *Livestock Production Science, 94: 169-177*
- Rodroguex-Chapeton et Pozzi (1964).** Modification of the testes of animals treated by the addition of raucid fat and vitamin C to the diet. *5th Int. Congr. anim. Reprod. AI., volume II, 326-334.*
- Rodriguez De-Lara R., Fallas-lopez M., Rangel-santos R., Mariscal-aguayo V., Martinez-hernandez P.A. et Garcia muniz J.G. (2008).** Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits. *9th World Rabbit Congress, 10-13 juin, Verona- Italy, p. 443-448.*
- Sabbagh M., (1983).** Thèse « Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevée en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et fonctionnement thyroïdien et surrénalien en Période d’adaptation au stress thermique ». Université de Dakar Ecole Inter-état des Science et Médecine Vétérinaires. p12-50.
- Safaa H.M., Emarah M.E. et Saleh N.F.A. (2008).** Seasonal effects on semen quality in Black Baladi and White New Zealand rabbit bucks. *World Rabbit Science, 16: 13- 20.*
- Salcedo-Baca R, Pichardo-Reyes M and Echagaray-Torres J L. (2004).** Buck semen characteristics from a Mexican population of the Californian, White New Zealand, and Chinchilla breeds. *8th World Rabbit Congress, 7-10 septembre 2004, Puebla (Mexico), p. 334-348.*

- Salvetti P. (2004).** Comparaison de deux méthodes de congélation de la semence de lapin. Mémoire de Fin d'Études. ISARA-Lyon, 97 p.
- Salvetti P., Baudot A., Joly T., (2005).** Congélation de la semence de lapin : approche calorimétrique. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris*
- Shannon P., Curson B. (1972).** Toxic effect and action of dead sperm on diluted bovine semen. *J Dairy Sci.* 1972;55: 614–620.
- Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.*, 14 : 151-154.
- Stranzinger et al. (1971).** Fertility of frozen rabbit semen. *J. Reprod. Fert.*, 24, 111-113.
- Tawfeek M.I., El-Gaafary M.N., Abdel-Hamid M.Y., (1994).** Effect of testosterone injection on pre- and post-sexual maturity in male rabbits. *Options Méditerranéennes, série A "Séminaires méditerranéens"*, Vol. 8, p. 367-373.
- Theau M, Roustan A. (1980).** L'insémination artificielle chez la lapine. Techniques utilisées, quelques résultats. *In: Proc. 2nd World Rabbit Congress, Barcelona (Spain), April 1980. Tome I, 333-342.*
- Theau M., Roustan A. (1982).** Etude des possibilités de dilution du sperme de lapin congelé pour l'insémination artificielle. *3<sup>ème</sup> Jour. Rech. Cunicole, Paris, Comm. 19*
- Theau-Clément M., Thebault RG., Bolet G., De Rochambeau H., (1991).** La reproduction du lapin Angora de souche Française : Ovulation chez la femelle, production de semence chez le mâle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 31 : 667-673.
- Theau-Clément M. et Lorvelec O. (1994).** Influence de la durée d'éclairément sur les performances de reproduction de lapines nullipares élevées en Guadeloupe. *World Rabbit Sciences*, 2(2), 53-60
- Theau-Clément M., Lattaioli P., Roustan A., Castellini C., (1996a).** A comparison between computerised semen image analyses and visual methods to evaluate various biological parameters in rabbit semen. *6th World rabbit congress, Toulouse (France), 2* : 133-137
- Theau-Clément M., Lattaioli P., Roustan A., Castellini C., 1996b.** Reliability and accuracy of a computerized semen image analyses to evaluate various biological parameters in rabbit semen. *6th World rabbit congress, Toulouse (France), 2* : 139-143.
- Theau-Clément M (2001).** Etude de quelques facteurs de contrôle de l'interaction entre la lactation et la reproduction chez la lapine conduite en insémination artificielle. *Thèse, Doctorat Institut National Polytechnique, Toulouse, 103p.*

- Theau-Clément M, Mercier P. (2003).** Comparaison de l'effet d'une séparation mère-jeunes de 24 heures et d'un traitement PMSG, sur la réceptivité sexuelle et la productivité des lapines allaitantes. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre. 2003, Paris, 65-68.*
- Theau-Clément M., Falieres J., (2005).** Evaluation de la concentration de semence de lapins selon 2 méthodes : Hématimètre et NucleoCounter SP100. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre, Paris (France), p. 95-98.*
- Theau-Clément M., Bolet G., Fortun-Lamothe L., Brecchia G., Boiti C. 2008.** High plasmatic progesterone levels at insemination depress reproductive performance of rabbit does. *9th World Rabbit Congress – June 10-13, 2008 – Verona – Italy.*
- Theau clément M., Sanchez A., Duzert R., Saleil G. et Brun J.M. (2009).** Etude de facteur de variation de la production spermatique chez le lapin. *13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 novembre, Le Mans (France), 4p.*
- Theau-Clément M., Tircazes A., Saleil G., Monniaux., Bodin L., Brun J.M. (2011).** Etude préliminaire de la variabilité du comportement d'oestrus de la lapine. *14ém journée de la recherche cunicole, Novembre 2011. Le Mans. France.*
- Thewis A. (2002).** Filière avicole et cunicole-N°4, *Belgique-België. P.P9/3341, 4400 Flemalle. p10-11.*
- Tremblay M. (2009).** Le lapin. Edition de l'Homme. Québec, 153p.
- Vaissaire. (1977).** Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Edition MALOINE S.A.
- Vicente J.S, Viudes De Castro M,P., Lavara R et Lavara F., (2000).** Effect if male line on prolificacy from does insémination with low sperm doses. *7<sup>th</sup> world Rabbit Congress, 4-7 juillet, Valencia. Spain.*
- Virag GY., Mézes M. et Bersényi A. (1992).** Effect of independent factors on semen characteristics in rabbits. *J. Appl. Rabbit. Res., 15: 499-504.*
- Viudes De Castro M.P., Vicente J.S. et Lavara R., (1999).** Effet du nombre de spermatozoïdes sur la fertilité de la semence conservée 24 heures chez le lapin. *Annales de zootechnie, 1999, 48 (5), pp.407-412. <hal-00889813>.*
- Walter M.R., Martinet L., Moret B. et Thibault C. (1968).** Régulation photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin, mâle et femelle. *Arch. Anat. Hist. Embryol., 51 : 773-780.*
- Wrobel K.H., 1990.** Male reproduction susem. In : Textbook of Veterinary Histology. 2<sup>ème</sup> Ed :226-243.
- Yan ZS. et al (1985).** Influence of hot summer neather on plasma testosterone concentration and semen quality in Angora rabbits .*Chinese Journal of Rabbit Farming, 3, 24-26*  
<http://bac-sc-rep.e-monsite.com/rubrique,chez-l-homme,15831.html>.

**Zerrouki N., Kadi SA., Berchiche M et Bolet G. (2005).** Evaluation de la productivité des lapines d'une population locale algérienne, en station expérimentale et dans des élevages. Proc. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole, novembre, Paris, France, n° 11 14.*

# ***ANNEXES***

**Notation de la motilité d'ensemble (avant dilution):**

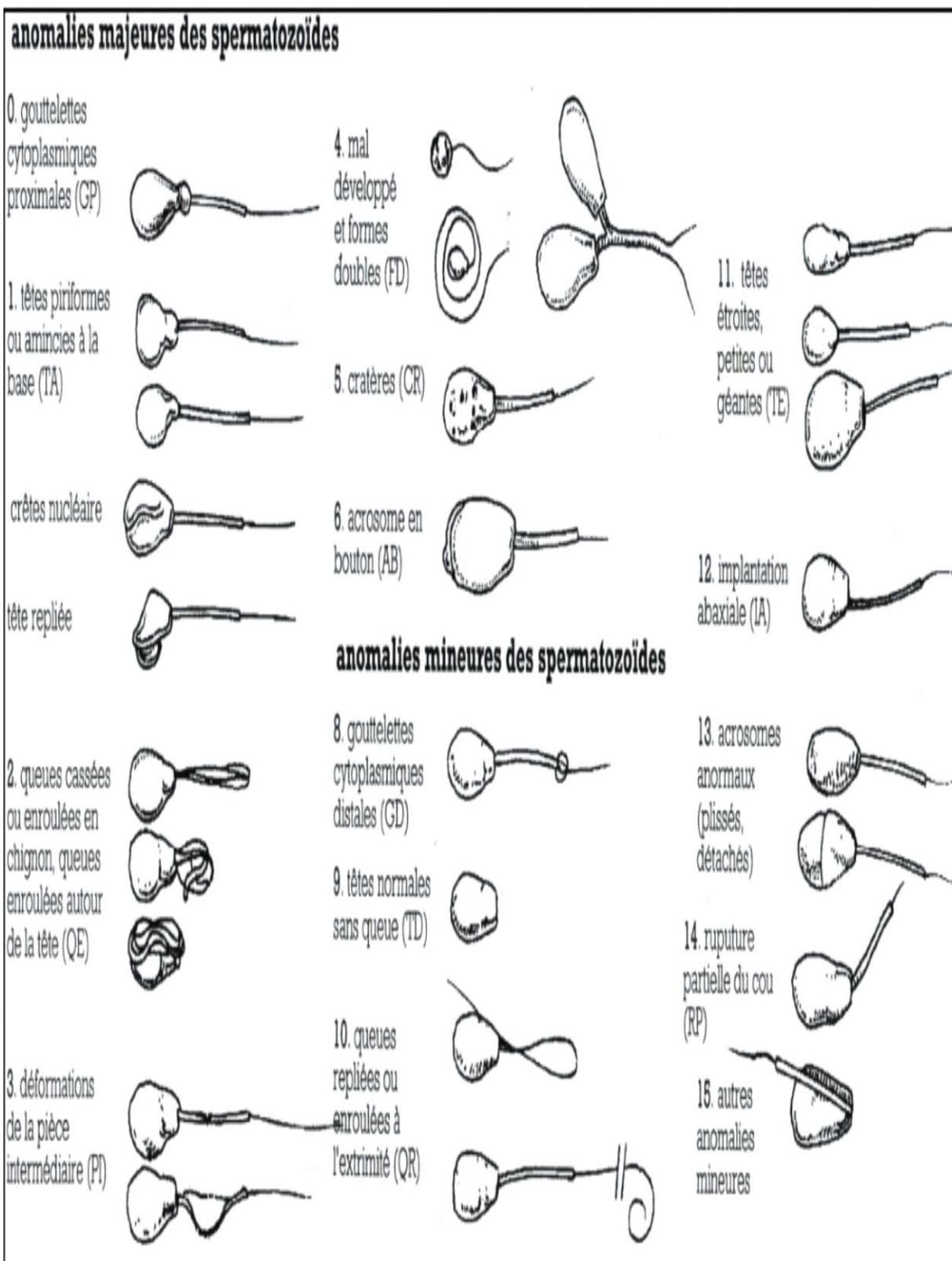
- 0 Pas de spermatozoïdes.
- 1 Spermatozoïde immobile.
- 2 Quelques spermatozoïdes agités, oscillant sur place.
- 3 Beaucoup de spermatozoïdes agités sans déplacement notable.
- 4 Quelques spermatozoïdes immobiles, quelques spermatozoïdes agités sur place, quelques spermatozoïdes mobiles.
- 5 Comme 4 mais plus de spermatozoïdes mobiles, motilité assez bonne mais pas homogène.
- 6 La quasi-totalité des spermatozoïdes se déplace. Motilité bonne et homogène.
- 7 Comme 6 avec amorce de mouvements de vagues.
- 8 Comme 7 avec mouvements de vagues lents.
- 9 Vagues énergiques. Aspect de tourbillons. Motilité excellente.

**Annexe 1 :** Echelle adaptée de **PETITJEAN (1965)** pour la notation de la motilité d'ensemble (**cité par Boussit, 1989**).

**Notation de la motilité individuelle (après dilution)**

- 0 Spermatozoïdes immobiles.
- 1 Les spermatozoïdes ont des mouvements de flagelle sans déplacement.
- 2 Les spermatozoïdes se déplacent lentement. Les mouvements circulaires dominant.
- 3 Les spermatozoïdes ont des mouvements heurtés. Leur déplacement s'effectue le long d'une hélice de diamètre sensiblement égal à leur longueur ou de cercles de larges diamètres (plusieurs fois la longueur des gamètes).
- 4 Les spermatozoïdes se déplacent rapidement le long d'une hélice de faible diamètre.

**Annexe 2 :** Echelle de **ANDRIEU (1974)** pour la notation de la motilité individuelle. (**cité par Boussit, 1989**).



**Annexe 3 : Anomalies majeures et mineures de spermatozoïdes dans l'espèce bovine (Dumont, 1997).**

 Unité SAGA UR 631 Génétique Animale	Mode Opérateur	Réf : MO-LAB-09 Version : 1 Date de création : 30/01/07
	<b>Estimation de la concentration de spermatozoïdes dans la semence de lapins</b>	

Page 1/2

### 1 - Objet :

Cette méthode permet d'estimer la concentration de spermatozoïdes dans la semence de lapins.

### 2 - Documents de référence :

**Theau-Clément M. et Falières J.** 2005. Evaluation de la concentration de semence de lapins selon 2 méthodes : hématimètre et NucleoCounter SP100. *11<sup>ème</sup> Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris, 95-98.*

### 3 - Liste de diffusion :

Intranet SAGA

### 4 - Hygiène et sécurité :

Le travail prolongé sur microscope peut provoquer une fatigue visuelle et des troubles posturaux (musculo- squelettique).

### 5 - Principe de la méthode :

Chez d'autres espèces, ce caractère est estimé par mesure de densité optique. Cependant, cette méthode manque de précision, car la semence de lapins contient des "granules" d'origine prostatique en quantité variable qui ont un grand pouvoir d'absorption de lumière.

Nous utilisons donc un hématimètre de THOMA (version Preciss) après dilution au 1/200<sup>ème</sup> dans une solution de citrate à 3.6g/l (20µl de semence pure prélevés à l'aide d'une micropipette réglable, par exemple pipetman Gilson, dans 3,98 ml d'une solution de citrate à 3.6g/l).

### 6 - Matériels nécessaires :

Microscope à contraste de phase (Zeiss axioplan), hématimètre de THOMA (version preciss), micropipette. Cônes.

### 7 - Réactifs :

Citrate de sodium (3,6g / l)

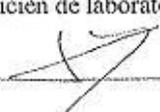
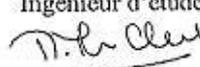
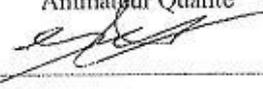
### 8 - Contraintes de la méthode :

- Attente (10min) avant d'observer la lame
- Méthode très chronophage (environ 10min par échantillons)

### 9 - Contenu du mode opératoire :

Après homogénéisation, une goutte de semence diluée (volume : environ 100µl prélevé au moyen d'une micropipette) est déposée sur la lame. Elle est ensuite écrasée entre lame et lamelle (22 mm x 22 mm planée optiquement). Un fort appui sur les supports de la lamelle permet de mettre en évidence une irisation témoin du bon remplissage de la cellule. En routine, nous préparons plusieurs cellules en même temps et respectons un temps d'attente d'environ 10 minutes avant chaque lecture. On observe au microscope à contraste de phase (grossissement x 400).

Cette cellule comporte 2 grilles (schéma ci dessous). Une étude préliminaire a montré qu'il était plus précis de compter les 2 colonnes centrales ou latérales sur chaque grille, plutôt que 4 colonnes d'une seule grille prise au hasard parmi les 2. Nous comptons le nombre de têtes de spermatozoïdes (face ou profil) à l'intérieur des carrés constituant la colonne, quand elles sont en contact avec les bords d'un petit carré en

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Falières Jacky	Michèle Theau-Clément	Roger Duzert
Fonction :	Technicien de laboratoire	Ingénieur d'études	Animateur Qualité
Visa :			

 Unité SAGA UR 631 Génétique Animale	Mode Opérateur	Réf. : MO-LAB-09 Version : 1
	<b>Estimation de la concentration de spermatozoïdes dans la semence de lapins</b>	Date de création : 30/01/07  Page 2/2

bordure de la colonne, nous ne comptons que celles qui touchent les côtés droit et inférieur. Les formes anormales sont prises en compte.

La numération d'un éjaculat est toujours appréciée par la lecture de deux hématimètres. Lorsque l'estimation dépasse 10 %, un troisième hématimètre est analysé.

Les 2 colonnes centrales d'une grille possèdent : 8 x 16 soient 128 petits carrés, sachant que le volume d'un petit carré est de 1/4000 mm<sup>3</sup>, le volume de 8 grands carrés est de 0,032 mm<sup>3</sup>.

La concentration en spermatozoïdes par ml de diluant, sera si on compte les 2 colonnes centrales des 2 grilles (haut et bas) :

$$C = \frac{X \times D \times 1000}{0,032 \times 2}$$

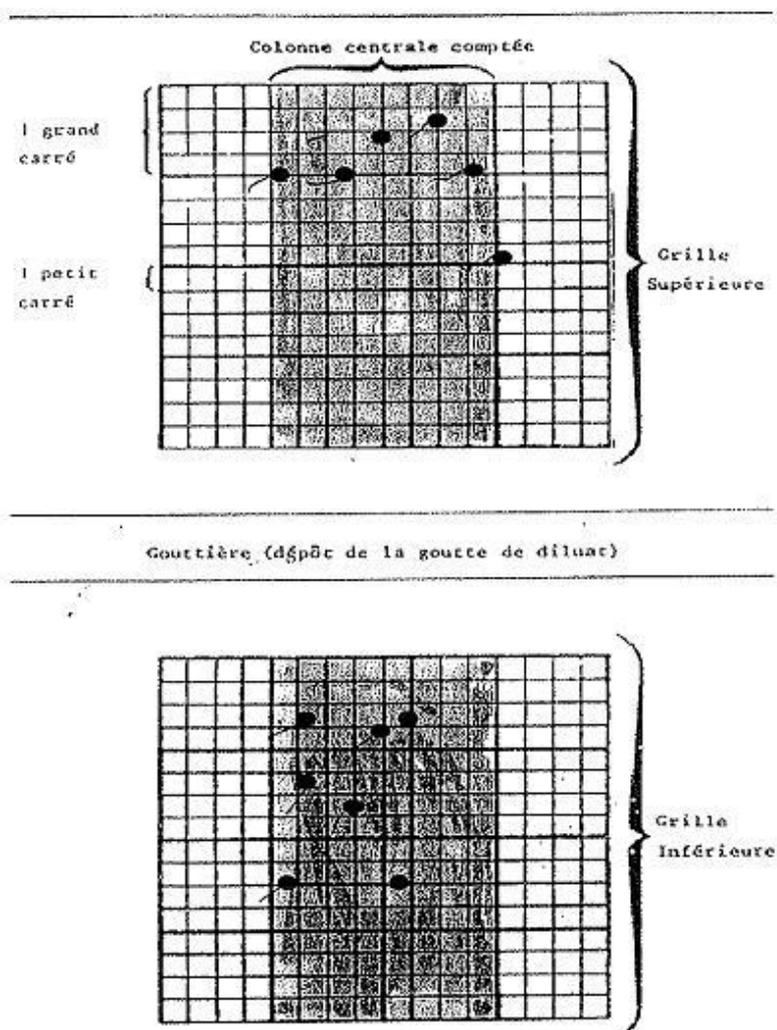
X = nombre de spermatozoïdes dans 8 grands carrés de la grille du haut et du bas

D = dilution du sperme

$$\text{Soit } C = \frac{X \times D}{64} 10^6$$

10 - Document associé:

CENTRE D'UNE CELLULE "THOMA"





A



B

**Annexe 5:** A : le vagin confectionné artisanalement utilisé dans nos études  
B : un vagin commercialisé

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE  وزارة الفلاحة و التنمية الريفية

ET DU DEVELOPPEMENT RURAL

INSTITUT TECHNIQUE DES ELEVAGES المعهد التقني لتربية الحيوانات

Baba Ali le 07/02/2017

CERTIFICAT DE BONNE SANTE

Je soussignée Abbad Hayat Docteur vétérinaire certifie avoir examiné les animaux dont le signalement suit :

- Espèce : Lapin
- Age : 05 ans
- Appartenant à : ITELV de BABA ALI
- Effectifs : 25 sujets (20 Femelles + 05 males)

Est déclare à ce jour ces animaux ne présentent aucun signe permettant de diagnostiquer une maladie infectieuse.

**ABBAD Hayat**  
Docteur Vétérinaire  
N° A.V.N: 05086

Annexe 6: Certificat de bonne santé des lapins