

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE SECIENCE AGRONOMIQUE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/2020

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences agronomiques  
Spécialité : Production et Nutrition Animale

Présenté par :

*AIDAOUI Soumia & TALI Sara*

*Thème*

**le stress oxydatif durant la conservation de la semence du  
Bélier : étude bibliographique**

Soutenu le : 29/09/2020

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mohhamdi Saliha</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Benhenia Karim</i>	<i>MCB</i>	<i>CRBt- Constantine</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Ben fodil Karima</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2019/2020

# *Remerciements*

Alhamdo li allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la Connaissance et qui nous a aidé à compléter cette recherche modeste.

S'adresse a

Monsieur ***BENHENIA, K*** pour avoir accepté de nous encadrer et de nos diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'elle nous a accordé en réalisant ce travail.

Nous remercions :

**Mme. Mouhamdi S** de nous avoir fait l'honneur de présider notre travail

**Mme. Benfoudil Karima** d'avoir accepté d'évaluer et examiner notre projet.

Nous saisisons cette occasion pour exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de département d'agronomie.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui participé de prés ou de loin dans la réalisation de ce travail.

# *Dédicace :*

*Je dédié ce modeste travail à :*

*A celui qui a toujours été la source, et qui c'est toujours de mon courage, de ma détermination et de mon espoir dans la vie :*

*Merci Papa*

*A celle qui a inséré le goût de la vie en moi le sens de la responsabilité celle qui a sacrifié toute sa vie pour mes sœurs et mon frère et moi*

*Merci Mama*

*A mes sœurs et mon frère*

*Mon neveu et mes nièces*

*A toute la famille*

*A tous mes amis*

*A mon binôme :Tali Sara*

*A toutes les personnes que j'ai connues, et à ma promotion de*

*Production Animale*

*SOUMLA*

## *Dédicaces*

*Je dédié ce modeste travail*

*A mes très chers parents Khaled et Elakri Pour leur soutien moral et matériel que dieu tout puissant me les garde.*

*A mes chères frères : Amine, Mohamed, Aziz, Kamel*

*Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Merci beaucoup pour votre soutien moral et matériel pendant toute ma vie et surtout durant mes études.*

*A mes cousines : Salima, Bouchra, Yasmine, Ikram, Chaima*

*Ames tantes : Hamida, Yamina, Hasina, Cherifa, fatima*

*A mes amies : Nabila, Samira, Fatma, Soria, Hassiba*

*A mon marié : Hamza*

*A ma binôme Soumia pour son soutien*

*A tous mes amis, A toute la promotion de production animale exception.*

*Sara*

## Liste d'abréviation

**µm** : micro mètre

**2n** : cellule diploïde

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AG** : acides gras

**AGPI** : acides gras polyinsaturés

**AGS** : acides gras Saturés

**ATP** : acide tri phosphate

**C°** : Degré Celsius

**CASA** : Computer assiste semen analyse

**CAT** : catalase

**CL** : cardiolipine

**Cm** : centimètre

**CPE** : corona pénétration enzyme

**CRBt** : centre de recherche de biotechnologie

**Cu** : cuivre

**%** : Pourcentage

**DPG** : diphosphatidylglycérol

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène

**GPx** : Glutathion

**GPxs** : glutathion peroxydase

**GR** : glutathion réductase

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**IA** : insémination artificielle

**m** : mètre

**ml** : millilitre

**n** : cellule haploïde

**N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>** : Tetroxyde de diazote

**NADH** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène oxydase

**NADPH** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène oxydase

**ng** : nano gramme

**O<sub>2</sub>** : Anion superoxyde

**O<sub>3</sub>** : Ozone

**OH** : hydroxyle

**PC** : Phosphatidylcholine nano gramme

**PE** : phosphatidyléthanolamine

**PG** : phosphatidylglycérol

**PH** : potentiel hydrogène

**PI** : phosphatidylinositol

**PNN** : les neutrophiles polynucléaires

**PS** : phosphatidylsérine

**RL** : radicaux libres

**RNS** : **reactive** netrogene spicise

**ROO-** : Radical peroxyde

**ROS** : réactive oxygène specise

**SOD** : superoxydedismutase

**SPZ** : spermatozoïde

**TRIS** : tri-hydroxy-méthyl-aminométhane

**UV** : ultra-violet

**Zn** : zinc

# Liste des Figures

---

<b>Figure01</b> : Anses des tubes séminifères, rete testis, épидидyme et canal déférent .....	<b>02</b>
<b>Figure02</b> : l'appareil reproducteur du bélier.....	<b>03</b>
<b>Figure03</b> : Structure d'un spermatozoïde. A) Schéma d'un spermatozoïde. B) Schéma de la tête d'un spermatozoïde.....	<b>04</b>
<b>Figure 04</b> : Mouvement latéral et rotation des phospholipides.....	<b>06</b>
<b>Figure 05</b> :Architecture de la membrane plasmique, modèle mosaïque et fluide selon le modèle de Singer et Nicolson (1992) .....	<b>07</b>
<b>Figure06</b> :Principaux composants lipidiques de la membrane cellulaire.....	<b>09</b>
<b>Figure07</b> : Insertion de cholestérol dans la bicouche phospholipidique.....	<b>11</b>
<b>Figure08</b> : Schéma d'illustration de la tête du spermatozoïde chez les mammifères.....	<b>12</b>
<b>Figure09</b> :Schéma d'illustration du Col du spermatozoïde chez les mammifères.....	<b>14</b>
<b>Figure10</b> : Schéma d'illustration du flagelle (pièces intermédiaire, principale et terminale) du spermatozoïde chez les mammifères.....	<b>15</b>
<b>Figure 1</b> :Structure de l'axonème.....	<b>16</b>
<b>Figure13</b> : Etat de déséquilibre oxydatif.....	<b>27</b>
<b>Figure 14</b> : Les sources des espèces réactives de l'oxygène.....	<b>28</b>
<b>Figure 15</b> : Système antioxydant enzymatique .....	<b>30</b>
<b>Figure 12</b> : collecte de semence avec la méthode « retrograde-flushing ».....	<b>21</b>



## Liste des tableaux

---

<b>Tableau01</b> : Taille des différentes parties du spermatozoïde du bélier ( $\mu\text{m}$ ).....	<b>05</b>
<b>Tableau02</b> : Composition biochimique de quelques éléments du plasma séminal de bélier .....	<b>19</b>
<b>Tableau03</b> : Détermination la note de motilité massale de la semence.....	<b>23</b>
<b>Tableau04</b> : Détermination de la note de motilité individuelle des Spermatozoïdes.....	<b>24</b>

## Sommaire :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction .....01**

## **Chapitre I : La reproduction chez les béliers**

**I. 1. Rappels anatomiques sur l'appareil génital du bélier.....02**

**I.1.1. Testicules .....02**

**I.1.2.LES voies génitales .....02**

**I-1. 2. 1. L'épididyme.....03**

**I-1. 2. 2. Le canal déférent .....03**

**I-2. Rappel physiologique sur l'appareil reproducteur du bélier .....04**

**I.2.1. La spermatogénèse .....04**

**I.2.1.1. Le sperme .....04**

**I.2.1.2. Les spermatozoïdes .....04**

**I-2.2.1 Anatomie des spermatozoïdes.....05**

**I.2.2.1.1. La membrane plasmique .....05**

**I-2.2.1.1.1. Composition lipidique des membranes cellulaires .....08**

**A. Lipides complexes.....08**

**B. Lipides simples.....09**

➤ Les acide gras.....09

➤ Les stérols le cholestérol .....10

**I.2.2.1.2. La tête .....11**

➤ **Le noyau .....12**

➤ **L'acrosome .....12**

**I.2.2.1.3. Le col .....13**

**I.2.2.1.4.Le flagelle .....14**

➤ **La pièce intermédiaire .....17**

➤ La pièce principale .....	17
➤ La pièce terminale .....	17
I-2.2.2. Production de spermatozoïde.....	18
I-2.2.3 Le transit épидидymaire .....	18
I-2.2.4 Les glandes annexes et leurs sécrétions .....	18
➤ Le plasma séminal .....	18
I-2.2.5 Variation de la production spermatique chez le bélier .....	19

## Chapitre II : Conservation du sperme

II.1. Evaluation et examen du sperme.....	20
II.1.1. Récolte du sperme.....	20
II.1.1.1. Récolte par vagin artificiel .....	20
II.1.1.2. Récolte par électrostimulation ou electroejaculateur.....	21
II.1.1.3. Récolte du sperme épидидymaire par la méthode « retrograde-flushing » .....	21
II.1.2. Contrôle et évaluation de la qualité de la semence.....	22
II.1.2.1. Analyse macroscopique du sperme .....	22
II.1.2.1.1. Volume de l'éjaculat.....	22
II.1.2.1.2. Couleur et consistance de sperme.....	22
II.1.2.1.3. Poids spécifique.....	22
II.1.2.1.4. Viscosité du sperme .....	23
II.1.2.2. Analyse microscopique.....	23
II.1.2.2.1. Motilité.....	23
➤ Motilité massale .....	23
➤ Mobilité individuelle.....	24
II.1.2.2.2. La concentration.....	24
II.2. conservations du sperme.....	25
II. 2.1. Dilution.....	25
II. 2.1.1. Composition des dilueurs.....	25
II. 2.1.2. Caractéristiques et rôles des dilueurs.....	25
II.2.2. Types de Conservation du sperme.....	26
II.2.2.1. Conservation à long terme : congélation.....	26
II.2.2.2. Conservation à court terme : Réfrigération.....	26
II. 2.3. Dommages causés par la conservation.....	26

## Chapitre III : Le stress oxydatif

III.1. Définition .....	27
III.2. Conséquences du stress oxydant.....	27
III.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	27
III.3.1. Les sources des EOR.....	28
III. 3.2. Principaux radicaux libres .....	28
III. 3.2.1. Origine des radicaux libres (RL) .....	28
III.3.3. Contrôle de la production des EOR .....	29
III.3.3.1. Le système antioxydant.....	29
III.3.3.1.1 Système antioxydant enzymatique.....	29
a. La superoxyde dismutase (SOD) .....	29
b. La catalase (CAT) .....	30
c. La glutathion peroxydase (GPx) .....	30
d. La glutathion réductase (GR) .....	30
III.3.3.1.2. Les antioxydants non enzymatiques .....	31
A. Antioxydants liposolubles.....	31
➤ La vitamine E .....	31
➤ Les caroténoïdes.....	31
B. Antioxydant hydrosoluble .....	31
➤ La vitamine C .....	31
➤ La vitamine A .....	32
III.4. Les ERO dans la fonction spermatique.....	32
III.4.1 Source des ERO au niveau du spermatozoïde .....	32
III.4.2. Les ERO et leurs effets délétères sur le spermatozoïde.....	33
A. Peroxydation lipidique .....	33
B. Dommages oxydatifs de l'ADN .....	33
III.5. Système de défense du spermatozoïde.....	33
Conclusion .....	34
Référence bibliographique	



# Introduction

---

## Introduction

En Algérie, le cheptel ovin est composé d'environ 23 millions de têtes. Il est réparti en 3 principales races : *OuledDjellal*, Rumbi et Hamra (Ministère de l'Agriculture et Développement Rural ; 2010, Chellig, 1992). Il représente la première source de viandes rouges pour la population Algérienne. Cependant, ce cheptel ne permet pas de couvrir la demande nationale, de plus en plus croissante (Chemmam, 2007), contraignant les autorités à recourir à son importation avec des factures colossales (170 millions de dollars pour le premier semestre de 2016, Ministère du commerce ; 2016). L'accroissement de l'effectif, l'amélioration génétique ainsi que le développement de la productivité de notre cheptel ovin, permettrait de diminuer les coûts d'importation de cette denrée et contribuera à l'autosuffisance. Ceci est rendu possible grâce à l'application de l'insémination artificielle au moyen d'une semence conservée (Manafi, 2011 ; Vishwanath, 2003).

En effet, la conservation de la semence, notamment la cryoconservation est la seule technologie permettant la diffusion du progrès génétique à grand échelle. Elle permet, aussi, de créer des banques de matériel génétique d'animaux menacés de disparition ou morts. En effet, il est possible de préserver la génétique des animaux morts ou abattus à partir du sperme épидидymaire (Ehling *et al.*, 2006 ; Fickelet *et al.*, 2007).

Cependant, malgré ses avantages, la cryoconservation du sperme chez le bélier octroie une fertilité insatisfaisante après l'insémination artificielle par rapport au sperme frais (Watson, 2000 ; Hammerstedt *et al.*, 1990). Les dommages des membranes plasmiques des spermatozoïdes durant la cryoconservation est la principale cause de la perte de la fertilité. Le stress oxydatif est considéré comme principale cause des dommages membranaires sévères et irréversibles (Agarwalet *et al.*, 2014 ; Aitken *et al.*, 1991 ; Darin-Bennett et White, 1977). De ce fait, la lutte contre le stress oxydatif durant la cryoconservation du sperme du bélier est une stratégie indéniable pour améliorer la qualité du sperme post conservation en vue d'augmenter sa fertilité après l'insémination. Afin de combattre le stress oxydatif, une stratégie basée sur la supplémentation des milieux de conservation par des antioxydants enzymatique (Catalase et glutathion) ou non enzymatique (vitamine E et C), est largement étudiée (Agarwalet *et al.*, 2014).

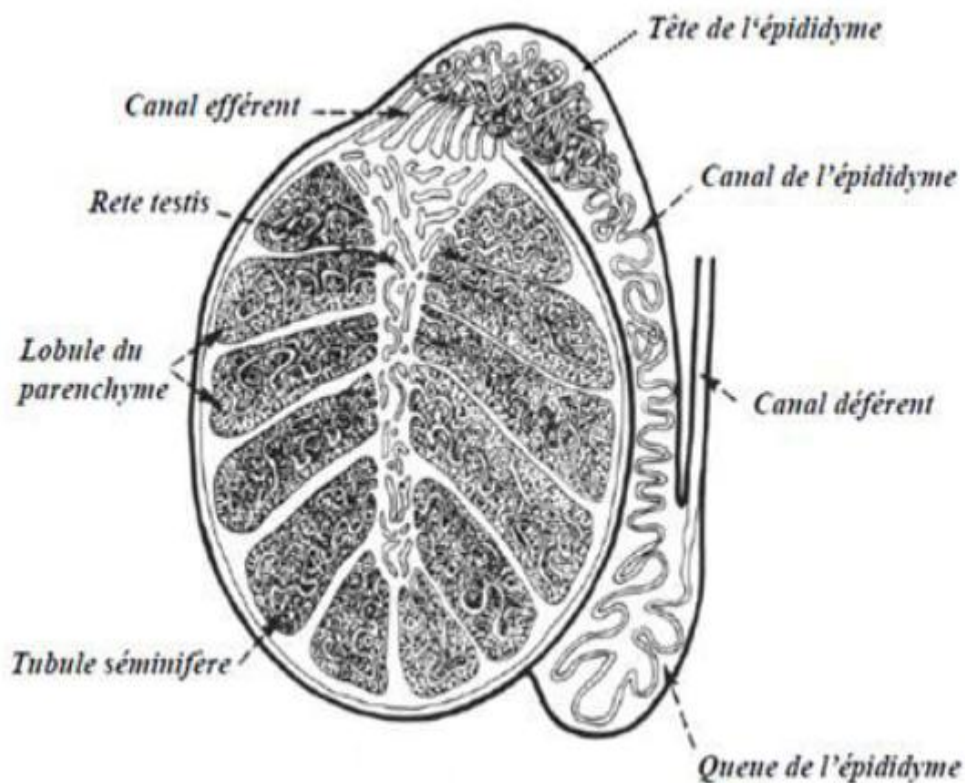
**CHAPITRE I : la reproduction  
chez le bélier**

## I. 1. Rappels anatomiques sur l'appareil génital du bélier

### I-1. 1. Les testicules

Les testicules ont une forme ovoïde ou sphéroïde, et sont assez volumineux par rapport au format de l'animal, ils pendent entre les cuisses de l'animal (**Regaudie et Reveleau, 1977 ; Vaissaire, 1977 ; Barone, 1990**), le poids des deux testicules rapportés au poids total du corps représente 1/1000 chez le bélier (**Barone, 1990**). Chez cette espèce, chaque testicule représente 0,4% du poids corporel soit 300g (**Setchell, 1991**). Il varie en fonction l'âge, de la race, de la saison et de l'état nutritionnel (**Baril et al., 1993**).

### I-1. 2. Les voies génitales :



**Figure01** : Anses des tubes séminifères, retetestis, épiddidyme et Canal déférent (Brice et al., 1995)

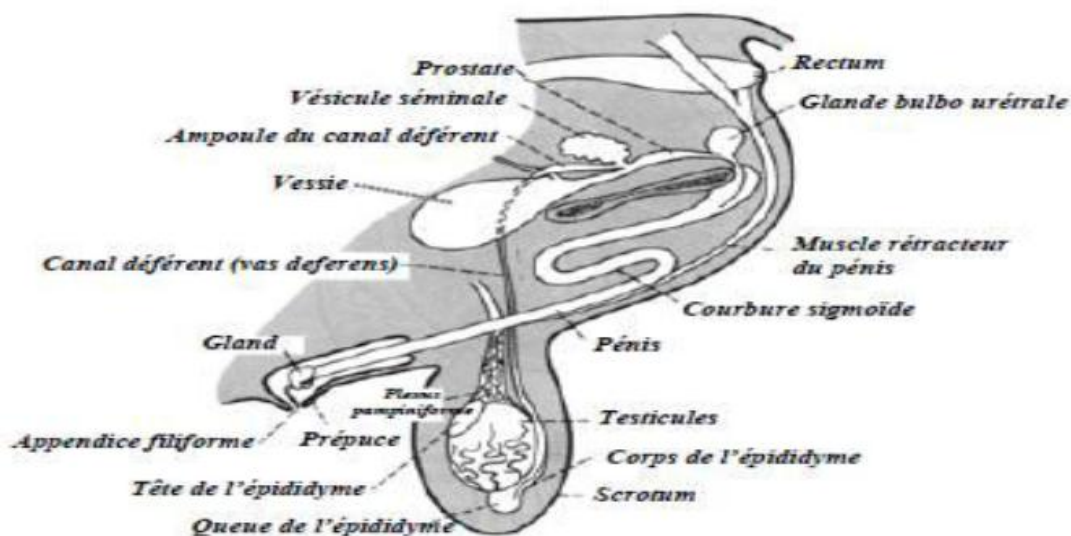


**I-1. 2. 1. L'pididyme :**

C'est un organe plaqué sur l'arrière du testicule, d'une longueur de 60 m, reliant les canaux efférents ( la sortie du testicule) au canal déférent. Il est divisé en trois parties : la tête, le corps et la queue. La paroi de ce tube est entourée d'une mince couche de fibres musculaires lisses dont les contractions permettent le transit des spermatozoides (**Dacheux et al., 2001 ; Bonnes et al., 2005**).

**I-1. 2. 2. Le canal déférent :**

Faisant suite au canal épididymaire, ce canal s'engage dans le trajet inguinal où il contribue à former le cordon testiculaire, il pénètre dans la cavité abdominale et atteint la face dorsale de la vessie formant un très léger renflement pelvien avant de se jeter dans l'urètre (**Barone, 1978 ; Bonnes et al., 2005**).



**Figure02** :l'appareil reproducteur du bélier (**EvansetMaxwell,1987**).

## I-2. Rappels physiologiques sur l'appareil reproducteur du bélier

### I-2.1. Spermatogenèse :

La spermatogenèse est un processus complexe et continu de multiplication, de différenciation cellulaire et d'apoptose, qui, à partir des cellules germinales souches diploïdes ( $2n$ ), les spermatogonies, aboutit à la formation des spermatozoïdes, cellules haploïdes ( $n$ ) hautement spécialisées chez le bélier, la spermatogenèse dure 49 jours. Chez le bélier sexuellement mature, la production de spermatozoïdes est de 21 millions par gramme de testicule et par jour (Thibault C. et al., 2001).

#### I-2.1.1. Le sperme

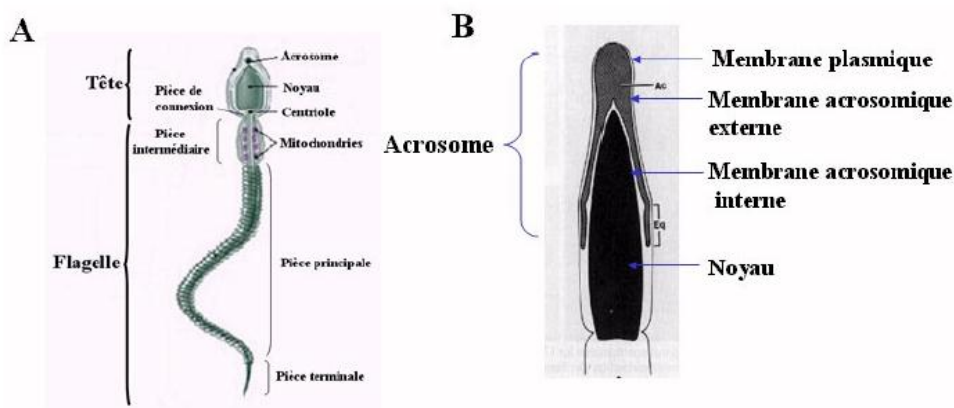
C'est un fluide organique expulsé du corps lors de l'éjaculation contenant les spermatozoïdes sécrétés par les organes sexuels mâles (Girod et Czyba, 1997).

Les spermatozoïdes représentent 20 % et le liquide séminal 80% du volume de l'éjaculat.

#### I-2.1.2. Les spermatozoïdes

Le spermatozoïde est une cellule hautement spécialisée, il comporte trois principales parties qui sont (Figure03) :

- la tête, partie essentielle qui contient le noyau surmonté de l'acrosome élaboré par l'appareil de Golgi.
- la pièce intermédiaire, qui est constituée de mitochondries et d'enzymes propres aux métabolismes des spermatozoïdes.
- le flagelle, ses mouvements favorisent le déplacement des spermatozoïdes.



**Figure03** : Structure d'un spermatozoïde. A) Schéma d'un spermatozoïde.

B) Schéma de la tête d'un spermatozoïde

### I-2.2.1 Anatomie des spermatozoïdes

- **La forme** : sont général de forme allongé ils ont une partie renflée, dite corps ou tête, suivie d'une partie plus longue et effilée, appelée la queue
- **Dimension** : leurs dimensions varient

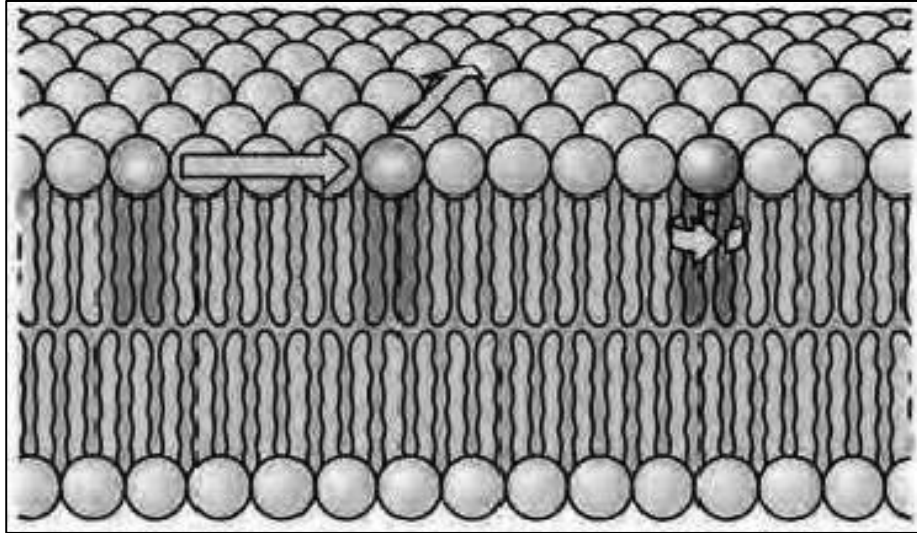
**Tableau01** : Taille des différentes parties du spermatozoïde du bélier ( $\mu\text{m}$ ).

	Tête		Pièce intermédiaire		Pièce principale de la Queue	
	Longueur	Largeur	Langueur	Largeur	Langueur	Largeur
Bélier	8,2	4,25	14	0,80	40 à 45	0,50

*Source* : Setchell, 1977.

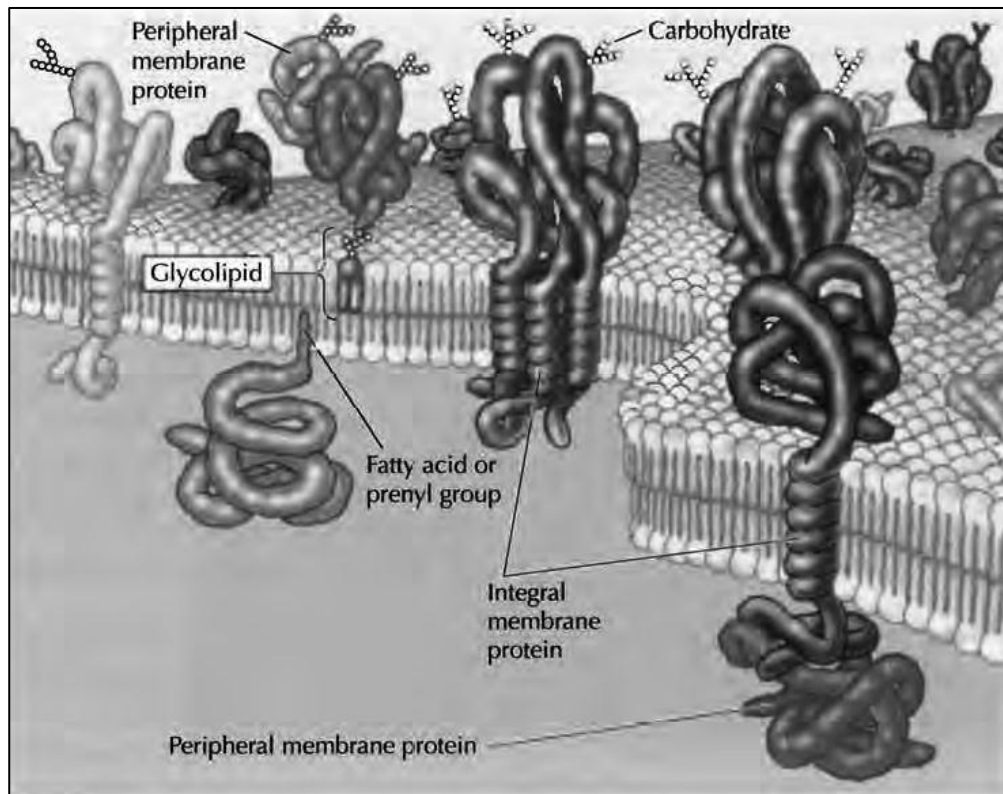
#### I-2.2.1.1 La membrane plasmique

La membrane plasmique du spermatozoïde est une structure primordiale qui sépare le milieu intérieur de la cellule du celui extérieur. Elle délimite le compartiment intérieur de la cellule notamment le noyau et les organites cytoplasmiques. Il sert pour protéger la cellule du milieu extérieur et pour assurer les différentes fonctions physiologiques de la cellule (**Apel-Paz,2003**). La membrane plasmique du spermatozoïde possède une particularité structurale représentée par différentes parties hétérogènes assurant différentes fonctions requises pour la fécondation. En effet, la membrane au niveau de l'acrosome de la tête du spermatozoïde est le lieu de capacitation, réaction acrosomiale et de la fusion avec la membrane de l'ovocyte. Malgré ces particularités, la membrane plasmique du spermatozoïde, comme toutes les membranes cellulaires, conforme au modèle mosaïque fluide (**Singer et Nicolson, 1972**); mosaïque, car la composition de la membrane est hétérogène ; lipides, protéines et glycocalyx (les glycolipides et les glycoprotéines), fluide, car le noyau hydrophobe de la bicouche lipidique est désordonné permettant aux phospholipides différents mode de mobilité notamment un mouvement latéral dans le plan de la bicouche lipidique et des mouvements de rotation autour de l'axe de la bicouche lipidique (**Flesch,Gadela,2000**) (Figure n°4).



**Figure04 :** Mouvement latéral et rotation des phospholipides (**Cooper et Haussman, 2007**)

Les composants de la membrane plasmique sont organisés pour donner la structure suivante : une double couche phospholipidique constitue une matrice de base fluide, des protéines membranaires, soit complètement intégrées, dans (protéines intégrales) ou faiblement attachés à (protéines périphériques) la bicouche lipidique, des oligosaccharides, à la surface de la membrane, peuvent s'associer à des molécules lipidiques ou protéiques formant les glycolipides et les glycoprotéines (**Singer et Nicolson, 1972**) (Figure n°05 ).



**Figure 05 :** Architecture de la membrane plasmique, modèle mosaïque et fluide selon le modèle de Singer et Nicolson (1992) (Cooper et Haussman, 2007)

Durant la cryoconservation, la membrane cellulaire du spermatozoïde subit des altérations au niveau des composants lipidiques. Ces altérations sont issues des modifications de sa structure architecturale due au choc au froid et des attaques des espèces réactives de l'oxygène générées. La perte du cholestérol, stabilisateur de la membrane, est la principale modification survient au niveau de la membrane. La peroxydation des lipides est la lésion principale causée par les ERO. Au niveau de la membrane, la déplétion du cholestérol et la peroxydation des lipides pourraient conduire à la mort cellulaire ou à la perte de différentes fonctions du spermatozoïde nécessaire pour la fécondation (Agarwal et al., 2014 ; Aitken et al., 1991 ; Darin-Bennett et White, 1977).

#### **I-2.2.1.1.1. Composition lipidique des membranes cellulaires : particularités des membranes plasmiques des spermatozoïdes.**

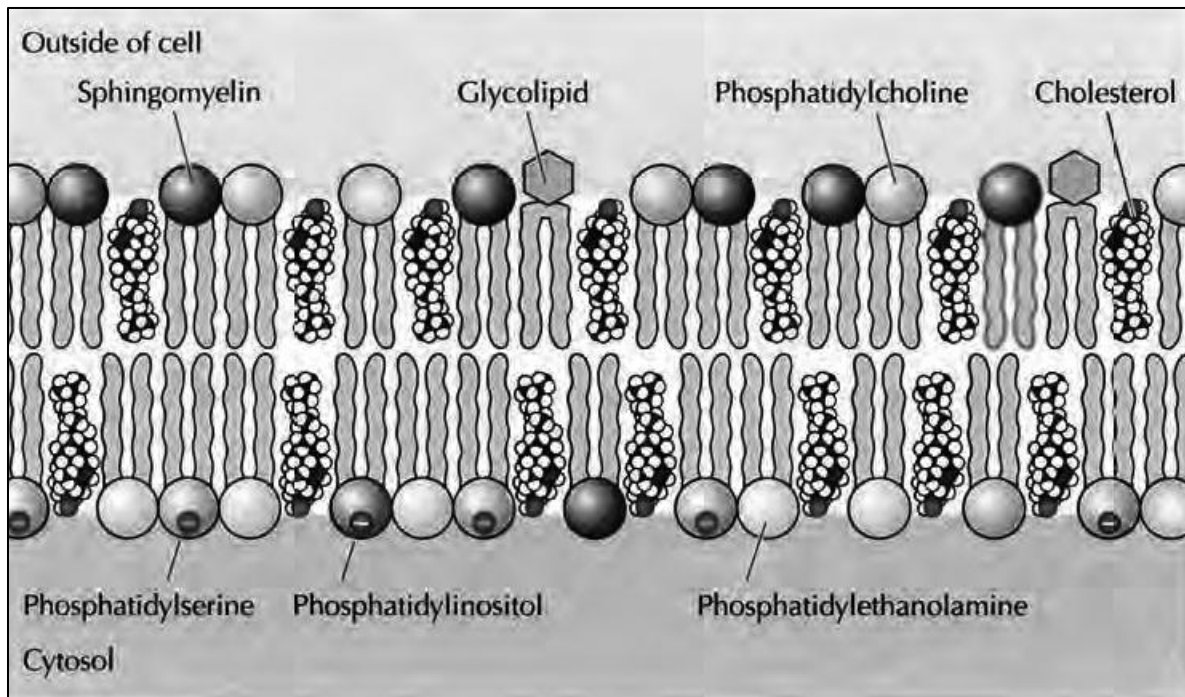
On distingue trois grands groupes de lipides entrants dans la composition des membranes plasmiques : (i) les lipides complexes composés d'au moins trois éléments de nature différente. Ils comprennent les phosphoglycérides (phospholipides et plasmalogènes) et les glycolipides ; (ii) les lipides simples. Ils englobent principalement les acylglycérols ou

glycérides (mono-, di- et triglycérides), les acides gras (AG) et les stérols ; (iii) les protéolipides, constitués d'une protéine et d'une ancre lipidique permettant le fichage de la protéine dans la bicouche lipidique de la membrane plasmique. L'essentiel de notre propos va concerner les lipides complexes, notamment les phosphoglycérides, et les lipides simples, notamment, les acides gras et le cholestérol. Les autres composants lipidiques, dont l'importance pour le gamète n'est pas à négliger, ne seront pas traités ici (**Rejraji et al., 2009 ; Darin-Bennet et White, 1977 ; Darin-Bennet et al., 1974, 1973**).

#### **A- Les lipides complexes :**

Les phosphoglycérides sont composés du glycérol à 3 carbones, chacun des deux premiers carbones est lié à un acide gras, le troisième est lié à l'acide phosphorique. Les acides gras sont liés au glycérol soit par une liaison ester formant un phospholipide, soit par une liaison éther formant un plasmalogène. Les phosphoglycérides forment la structure primordiale de la membrane cellulaire : la bicouche phospholipidique. Le phospholipide est une molécule amphipatique, composée de deux groupes hydrophobes formés de 2 acides gras, et un autre groupe polaire hydrophile formé de l'acide phosphorique. Dans les milieux aqueux, les phospholipides forment spontanément deux couches dont les acides gras de chaque phospholipide sont tournés vers le cœur de la membrane et le groupe polaire exposé sur l'un ou l'autre de la surface membranaire. La nature du substituant fixé sur l'acide phosphorique permet de définir différentes catégories de phospholipides. Les phospholipides les plus fréquemment rencontrés dans les membranes des cellules animales sont la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS), le phosphatidylinositol (PI), le phosphatidylglycérol (PG) et la diphosphatidylglycérol (Fig.n° 7). Chez le bélier, PE et PI représentent à elles seules 70 à 80 % des phospholipides de la membrane plasmique du spermatozoïde. Le PS et le PI représentent respectivement 4 et 3 % des phospholipides totaux des spermatozoïdes. Les plasmalogènes sont les « lipides éther » les plus fréquents dans les cellules animales, y compris dans la membrane spermatique. Ils représentent entre 30 et 50 % des phospholipides membranaires suivant les espèces. Ils interviennent également dans les phénomènes de fusion membranaire, de transports ioniques, de flux de cholestérol et agissent parfois comme antioxydants (**Rejraji et al., 2009**).





**Figure06** : principaux composants lipidiques de la membrane cellulaire (**Cooper et Haussman, 2007**).

## B- Les lipides simples

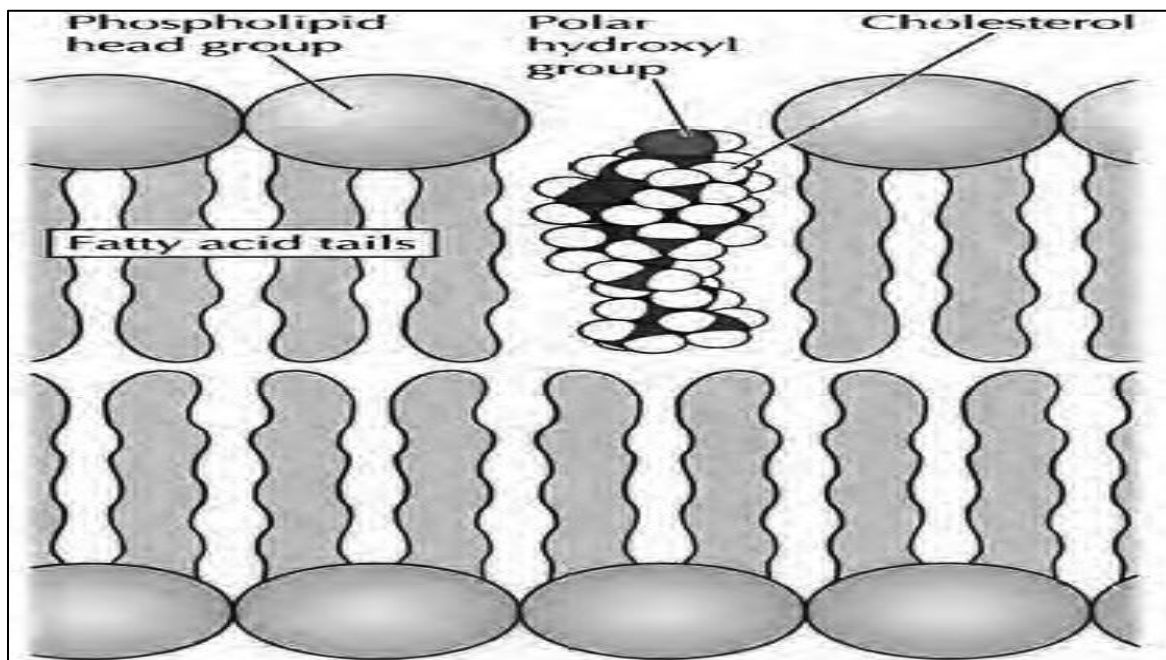
### ➤ Les acides gras

Les acides gras sous forme libre sont des constituants mineurs des membranes. Ils sont généralement sous forme d'esters associés à la partie polaire des lipides. Comparativement aux cellules somatiques, le spermatozoïde chez toutes espèces confondues contiennent une proportion élevée en acides gras polyinsaturés (AGPI). Chez le bélier et le taureau, le ratio acide gras insaturé/acides gras saturé est approximativement 3/1 (**Holt et North, 1985**). Les AGPI les plus rencontrés sont les acides arachidonique (20 : 4n-6), docosapentanoïque (22 : 5n-3) et docosahexaénoïque. Chez le bélier, on retrouve une forte concentration de docosahexaénoïque mais pas du tout de docosapentanoïque. Les AGPI, particulièrement, docosapentanoïque, donnent une grande fluidité pour la membrane, par conséquent, une élasticité élevée octroyant au spermatozoïde une résistance à la variation du volume (**Rejraji et al., 2009**). Cependant, les AGPI rendent le spermatozoïde plus vulnérable aux attaques des ERO engendrant la peroxydation des lipides, le mécanisme de peroxydation des AGPI est détaillé dans la section, lésions de cryoconservation (**Agarwal et al., 2014**).

➤ **Les stérols, le cholestérol**

Les stérols sont des molécules plus compactes et plus apolaires que les phosphoglycérides. Ils sont des éléments essentiels des membranes cellulaires, ils représentent le deuxième constituant lipidique majeur des membranes spermatisées après les phospholipides. Le Cholestérol est le stérol le plus répandu dans les membranes plasmiques, lysosomiales, endosomiales et golgiennes. Il constitue 30 % des lipides totaux des membranes plasmiques. Le cholestérol est composé d'une queue hydrophile composée de 4 cycles hydrocarbonés et une tête polaire hydrophobe composée de groupe bêta-hydroxyle (**Flesch and Gadella,2000,Visconti et al ;1995**) . Le cholestérol s'insère dans la bicouche phospholipidique dont le groupe hydroxyle de sa tête est placé à la hauteur des groupes polaires hydrophiles des phospholipides, tandis que la queue hydrocarbonée du cholestérol interagit avec les chaînes hydrocarbonées des acides gras voisins de la tête du cholestérol (Figure n°05). Grâce à cette propriété d'insertion dans la membrane cellulaire, le cholestérol est, par excellence, un stabilisateur de la membrane. Le cholestérol augmente l'ordre membranaire, et sa perte est une étape obligatoire dans la capacitation du spermatozoïde. La fluidité de la membrane plasmique est nécessaire pour les différentes fonctions du spermatozoïde et est tributaire à la quantité du cholestérol. La quantité de cholestérol dans la membrane est toujours à comparer à celle des phospholipides (**Rejraji et al., 2009 ; Cooper et Haussman, 2006**). Le rapport cholestérol/phospholipides est indicateur principal de la fluidité membranaire et est déterminant dans les phénomènes de capacitation et de réaction acrosomiale (**Cross, 1998**). Durant la cryoconservation, le refroidissement de la semence pourrait altérer les composants lipidiques de la membrane modifiant sa fluidité, c'est le choc au froid, le mécanisme de choc au froid est détaillé dans la section, lésion de la cryoconservation. Chez les espèces ayant un rapport cholestérol/phospholipides élevé, tel que l'homme (0.99), résiste mieux au choc au froid. Cependant, certaines espèces telles que le bélier (0.38), possédant un rapport cholestérol/phospholipides faible rendent le spermatozoïde plus sensible au choc au froid (**Darin-Bennett et White, 1977**).

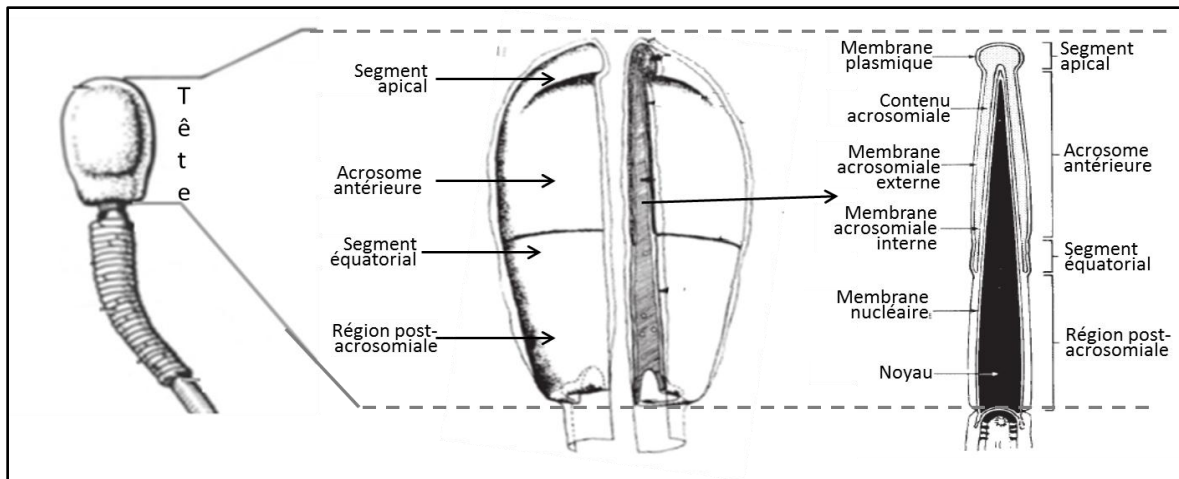




**Figure07 :** Insertion de cholestérol dans la bicouche phospholipidique (Cooper et Haussman, 2007).

#### I.2.2.1.2. La tête

La tête du spermatozoïde (SPZ) du bélier ou du taureau est en forme ovale et aplatie. Elle est divisée en deux segments : (i) l'acrosome antérieur et la région post-acrosomiale, la jonction entre les 2 régions antérieure et postérieure est appelée l'anneau nucléaire ou segment équatorial. Sous-jacent de l'acrosome antérieur et continu jusqu'à la base de la tête c'est le noyau (Figure n°8).



**Figure08 :** Schéma d'illustration de la tête du spermatozoïde chez les mammifères (Saake etAlmquist, 1964a; Garner etHafez, 2000).

- **Le noyau :** c'est un composant large de la tête du SPZ, il contient un ADN haploïde très condensé résultant de l'implication des protéines spécifiques appelées les protamines. Cet ADN condensé caractérise la cellule qui ne se divise pas, toutes les activités de transcription sont inactivées. Le noyau est entouré par un complexe de cytosquelette spécial de la thèque périnucléaire appelé la feuille post-acrosomiale (Guraya, 1987).
- **L'acrosome :** c'est un organe unique développée de l'appareil de Golgi apparait durant les premiers stades de spermatogénèse. Il est composé de la membrane acrosomiale interne et la membrane acrosomiale externe et une matrice remplie de protéase. Chez les mammifères, la superposition de l'acrosome est de manière semblable à un capuchon. Il représente 60 % de la région apicale de la tête (Guraya, 1987).

La membrane acrosomiale externe est juste sous la membrane plasmique, tandis que la membrane acrosomiale interne superpose sur le noyau et continue avec la membrane acrosomiale externe (Guraya, 1987).

Le segment équatorial est référé comme lysosome spécialisé. La région post acrosomiale subit des changements durant la maturation au niveau de l'épididyme, ces changements jouent un rôle significatif dans la fusion du SPZ avec la membrane plasmique de l'ovocyte. Cette dernière est une étape qui suit la pénétration du SPZ à travers la corona radiata et la zone pellucide (réaction acrosomiale). Les principales enzymes présentes dans l'acrosome sont Hyaluronidase, proacrosine, Acrosine, Estérase, Neuraminidase, Acide

Phosphatase, Phospholipase, collagénase,  $\beta$ -N-acétyl glucosaminidase et l'enzyme de pénétration de corona (CPE : corona pénétration enzyme). Les fonctions ces enzymes sont la digestion de la zone pellucide et la pénétration dans l'ovocyte facilitant ainsi la fécondation (**Guraya, 1987 ; Chenoweth et Lorton, 2014 ; Eddy, 2006 ; De Jonge et Barrat, 2006 ; Tulsani, 2003**).

### **I.2.2.1.3. Le col**

Le col (collet ou la pièce connectrice), est une région complexe, il correspondant à l'espace compris entre les centrioles proximal et distal, c'est un segment reliant entre la tête et la pièce intermédiaire (Figure n° 9). Le col est composé de la fossette d'implantation, la plaque basale et la pièce d'articulation ou de jonction. La fossette d'implantation est une dépression ou une cavité avec un aspect concave présente au pôle postérieur du noyau (**Barrat, 2006**). La plaque basale tapisse la fossette d'implantation, elle est doublée extérieurement par la membrane nucléaire. La pièce d'articulation est une structure en forme tronquée qui entoure le centriole proximal (**Guraya, 1987**). Elle s'étend de la fossette d'implantation jusqu'à le démarrage de la pièce intermédiaire. Elle se fixe solidement à la plaque basale par le capitulum. La pièce d'articulation résulte de l'union complexe de 9 colonnes longitudinales segmentées. Chaque deux colonnes latérales (2 à droite et 2 à gauche) se fusionnent pour former 2 colonnes latérales épaisses dites colonnes majeures. Ces dernières se soudent crânialement pour former le capitulum. Ce dernier s'articule avec la plaque basale. Les cinq autres colonnes longitudinales segmentées sont dites alors colonnes. Des colonnes segmentées prennent naissance 9 fibres denses entourant l'axonème (De Jonge et Barrat, **2006**). Le col et l'axonème sont formés d'une paire de centriole (un proximal et l'autre distal). Ces de centrioles sont présent dans les spermatides au moment de la formation du flagelle. Le centriole distal forme le col et l'axonème, tandis que le proximal est associé avec la formation du col. Le centriole proximal se trouve à l'intérieur de la pièce de l'articulation et immédiatement sous le capitulum. Cependant, le centriole distal disparaît chez le spermatozoïde mature (**Guraya, 1987 ; Chenoweth et Lorton, 2014 ; Eddy, 2006 ; De Jonge et Barrat, 2006 ; Tulsani, 2003**).

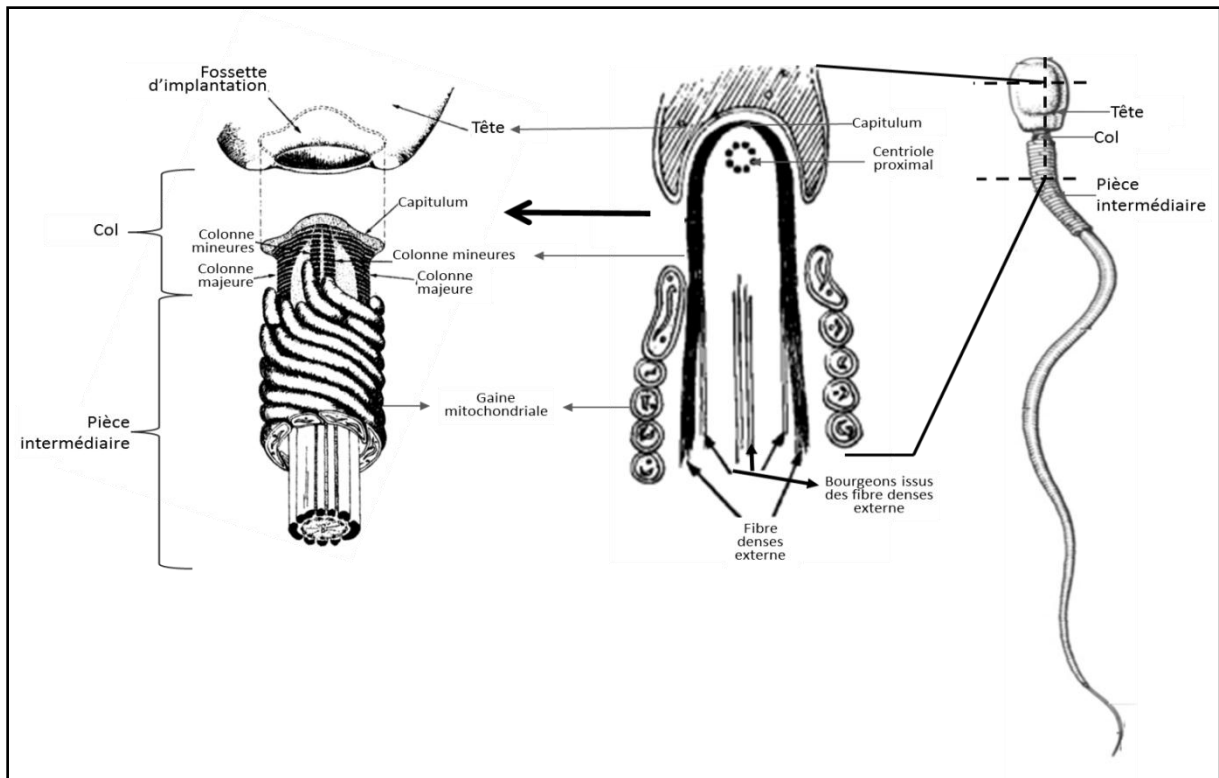
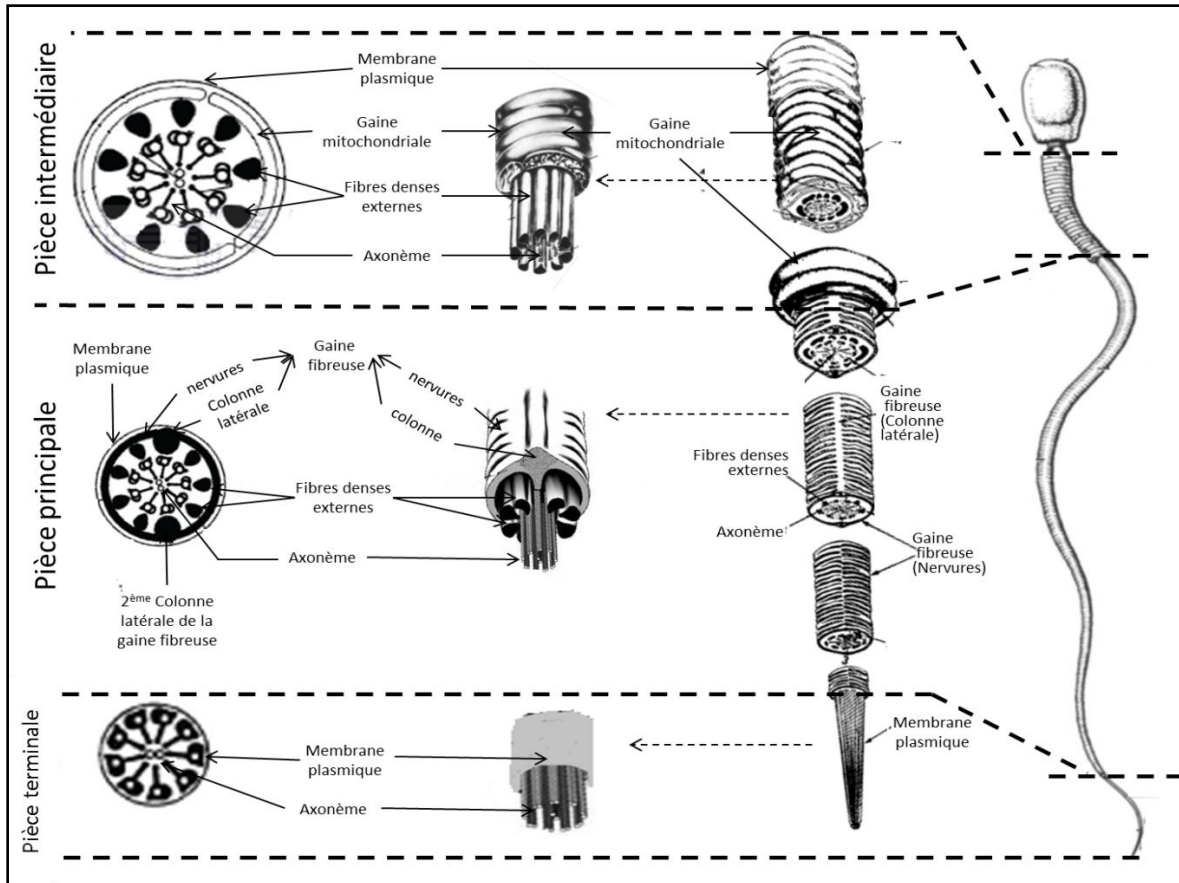


Figure09 :Schéma d'illustration du Col du spermatozoïde chez les mammifères (SaakeetAlmquist, 1964b)

#### I.2.2.1.4Le flagelle

Le flagelle du spermatozoïde est constitué de 3 segments, la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale (Figure n10). Les 3 segments sont entourés par une seule membrane plasmique commune.



**Figure 10** : Schéma d'illustration du flagelle (pièces intermédiaire, principale et terminale) du spermatozoïde chez les mammifères (Turner, 2003 ; Saake et Almquist, 1964b, Guraya, 1987; Eddy, 2006)

Les parties structurales primaires du flagelle sont l'axonème (filament axial) (Figure n° 11), la gaine mitochondriale, les fibres denses externes et la gaine fibreuse (Figure n° 12).

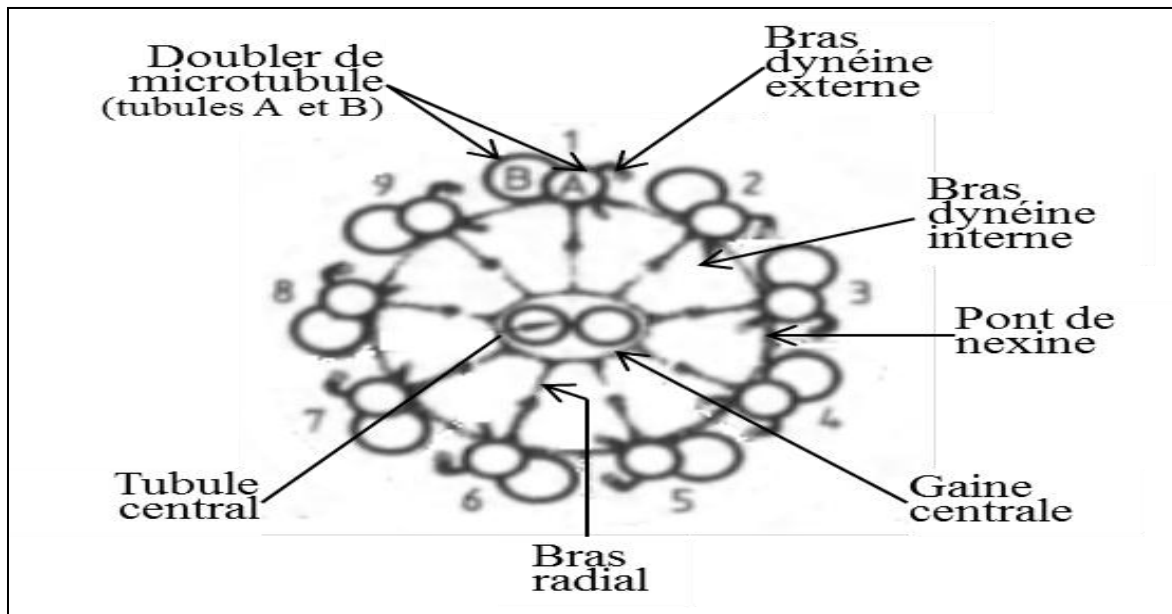


Figure 11 : Structure de l'axonème (**Guraya, 1987**)

L'axonème situé au centre s'étend sur toute la longueur du flagelle. Il est composé de 9 doublets de microtubules périphériques régulièrement espacés et une paire centrale de microtubules singlets (9+2). Chaque doublet de microtubules externes est lié au doublet adjacent par des liens de nexine. Chaque doublet de microtubules externes est composé de 2 tubules A et B. le tubule A est composé de 13 protofilaments, tandis que le tubule B est composé de 10 protofilaments. Les bras radiaux sont des structures protéiques de réticulation faisant relier chaque tubule A à la gaine centrale. La paire centrale de microtubules est composée de 2 tubules, C1 et C2. Ces deux tubules sont reliés entre eux par des ponts réguliers ressemblent à des barreaux d'une échelle. Chaque tubule central est constitué de 13 protofilaments. Chaque tubule A est attaché par un bras interne et externe de dynéine. Les bras dynéines s'étendent vers le tubule B du doublet adjacent.

Les dynéines sont des protéines motrices qui sont responsables de la génération de la force requise pour le mouvement du flagelle. Elles transforment l'énergie chimique contenue dans l'ATP en énergie mécanique en provoquant le glissement les microtubules les uns par les autres. Ces glissements se manifestent par des flexions du flagelle. Celles-ci sont grâce aux structures de réticulation entre les doublets de microtubules externes et la gaine centrale (**Guraya, 1987**).

Les fibres denses ont une structure cytosquelette très remarquable, composés de 9 fibres qui entoure l'axonème et s'étendent à travers le col, la pièce intermédiaire et la pièce



principale. La gaine mitochondriale est un ensemble de mitochondries disposées en forme d'hélice autour des fibres denses de la pièce intermédiaire, tandis que les fibres denses externes de la pièce principale sont entourées seulement par la gaine fibreuse. La pièce terminale est composée seulement de l'axonème (**Guraya, 1987 ; Chenoweth et Lorton, 2014 ; Eddy, 2006 ; De Jonge et Barrat, 2006 ; Tulsani, 2003**).

- **La pièce intermédiaire** : c'est le segment du flagelle situant entre le col et l'anneau. L'anneau est l'élément structural dense et filamenteux qui relie la pièce intermédiaire et la pièce principale. Dans la pièce intermédiaire, le complexe axonème-les fibres denses externes est entouré par une gaine de mitochondries. Le complexe axonème-les fibres denses externes- gaine mitochondriale est recouvert par la membrane plasmique. Les mitochondries de la pièce intermédiaire génèrent l'énergie sous forme d'ATP utilisé pour la locomotion du Spz. La membrane interne de la mitochondrie est le site de production d'énergie 80% dans la pièce intermédiaire. Le nombre et la taille des mitochondries varient d'une espèce à l'autre. (**Guraya, 1987 ; Chenoweth et Lorton, 2014 ; Eddy, 2006 ; De Jonge et Barrat, 2006 ; Tulsani, 2003**).
- **La pièce principale** : elle est le segment le plus long du flagelle qui s'étend de l'anneau jusqu'à la pièce terminale. En raison de l'absence de la gaine mitochondriale dans la pièce principale, le diamètre à ce niveau est réduit. La pièce principale est caractérisée par la présence d'une gaine fibreuse. Cette gaine est constituée de nervures semi-circulaires qui se regroupent pour former deux colonnes latérales le long de la pièce principale. La gaine fibreuse assure la stabilité pour les éléments contractiles du flagelle. La gaine fibreuse se termine à la limite distale de la pièce principale et le commencement de la pièce terminale (**Guraya, 1987 ; Chenoweth et Lorton, 2014 ; Eddy, 2006 ; De Jonge et Barrat, 2006 ; Tulsani, 2003**).
- **La pièce terminale** : elle est le segment au-delà de l'extrémité terminale de la gaine fibreuse. Elle contient seulement l'axonème couvert directement par la membrane plasmique.

Les fibres denses externes et les gaines fibreuses sont des cytosquelettes du flagelle non contractiles. Les rôles exacts de ces structures ne sont pas connus. Cependant, elles fournissent un recul élastique nécessaire pour les mouvements du flagelle (**Guraya, 1987 ; Chenoweth et Lorton, 2014 ; Eddy, 2006 ; De Jonge et Barrat, 2006 ; Tulsani, 2003**).

### I-2.2.2. Production de spermatozoïde

Les spermatozoïdes sont produits par spermatogenèse, un processus qui a lieu dans les tubules séminifères des testicules. La spermatogenèse est constituée de trois éléments importants : des mitoses permettant le renouvellement des cellules souches (Spermatogonies), la méiose permettant la réduction du nombre de chromosomes, ainsi que des changements morphologiques (spermiogenèse) qui vont permettre à une spermatide de devenir un spermatozoïde.

### I-2.2.3 Le transit épидидymaire

Lors de leur production dans les tubes séminifères les spermatozoïdes ne sont pas aptes à la fécondation. Ils acquièrent leur pouvoir fécondant lors de leur transit dans l'épididyme, c'est : la maturation épидидymaire.

### I-2.2.4 Les glandes annexes et leurs sécrétions

#### ➤ Le plasma séminal

Le plasma séminal est un milieu extrêmement complexe qui contient de nombreuses substances. Il est constitué, lors de l'éjaculation, par différentes sécrétions : le plasma épидидymaire, qui transporte les spermatozoïdes à la fin du canal efférent et qui contient beaucoup de phospholipides (**Edward,2000,Rodriguez et al ,2005**).

Les sécrétions ampoulaire, qui sont en quantité limitée. Les sécrétions des vésicules séminales qui constituent la majeure partie du volume du plasma séminal éjaculé et qui contiennent des constituants importants pour la survie des spermatozoïdes. Le fructose, par exemple, est sécrété par les vésicules séminales sous le contrôle de la testostérone qui stimule sa synthèse et sa sécrétion. L'acide citrique et les prostaglandines viennent également des vésicules séminale (**Sostaric et al ,2008**). Les glandes bulbo-urétrales, ou glandes de Cowper, ont la particularité de sécréter en grandes quantités chez le bouc, mais pas chez le bélier.

Le plasma séminal, dans son ensemble, paraît être néfaste à la survie *in vitro* des spermatozoïdes de bélier. Chez bélier, l'adjonction de plasma séminal aux spermatozoïdes épидидymaire stimule la motilité pendant trois à sept heures, mais celle-ci diminue fortement ensuite, alors que les spermatozoïdes épидидymaire seuls sont capables de maintenir leur motilité pendant plus de 22 heures.



**Tableau02** : Composition biochimique de quelques éléments du plasma séminal De bélier.

<b>PH (semence totale)</b>	5,9-7,3
<b>Fructose (ng/100 ml)</b>	150-600
<b>Sorbitol (ng/100 ml)</b>	26-120
<b>Acide citrique (ng/100 ml)</b>	137
<b>Acide ascorbique (ng/100 ml)</b>	5
<b>Inositol (ng/100 ml)</b>	10-15
<b>Acide glutamique (ng/100 ml)</b>	76
<b>Glycérophosphorylcholine (ng/100 ml)</b>	1 600-2 000
<b>Sodium (nmoles/litre)</b>	7,8
<b>Potassium (nmoles/litre)</b>	23
<b>Calcium (nmoles/litre)</b>	1,9
<b>Magnésium (nmoles/litre)</b>	2,4
<b>Chlorure (nmoles/litre)</b>	1

Source : Setchell, 1977.

#### **I-2.2.5 Variation de la production spermatique chez le bélier**

La production spermatique est variable selon la race, ex : le bélier touareg ayant une production plus importante que le bélier peul blanc ( $6414,24 \cdot 10^6$  spz et  $3723 \cdot 10^6$  spz respectivement), et selon les saisons de l'année un gramme de testicule de bélier produit  $12,2 \cdot 10^6$  spermatozoïdes en automne contre seulement  $9,3 \cdot 10^6$  au printemps à cause de la diminution du rendement de la spermatogénèse (**Rosa and Bryant, 2003**).

**Chapitre II :**

***Conservation du Sperme***

**II-1. Evaluation et examen du sperme**

L'évaluation de la qualité du sperme est l'élément le plus important pour prédire la fertilité des animaux domestiques. En raison de la complexité du processus de fécondation, un test d'évaluation de sperme unique n'est pas en mesure de prédire la fertilité. Au lieu de cela, une série de tests de sperme doit être sélectionnée avec une haute pertinence pour d'importantes caractéristiques du sperme et les résultats montrent une faible redondance (Petrunkina et al., 2000).

Un spermatozoïde peut encore être infertile pour d'autres raisons, cela implique qu'un spermatozoïde fécond devra avoir toutes ses parties fonctionnelles dans le processus. (Madhuri et al., 2012).

**II-1-1. Récolte du sperme**

La récolte du sperme constitue la première opération de l'insémination artificielle et/ou de son examen. C'est la première étape pour faire l'évaluation du sperme. Trois techniques sont utilisées : le vagin artificiel constitue le moyen classiquement utilisé, quelle que soit l'espèce animale. L'électro-éjaculation est également d'application dans les espèces bovine, ovine, canine et les volailles (Hanzan, 2016). La récolte du sperme épидидymaire des animaux abattus ou morts est aussi faisable, surtout pour récupérer le matériel génétique précieux des animaux géniteurs.

**II-1-1-1. Récolte par vagin artificiel**

Le vagin artificiel est la méthode la plus utilisée, et dont le principe consiste à faire éjaculer le mâle dans un appareil qui réunit toutes les conditions naturelles que les organes génitaux externes féminins pendant le coït. Cette méthode, simple et rapide, permet d'obtenir ou de récupérer un éjaculat total et non contaminé, il y'a cependant une légère difficulté due au fait que le bélier est très sensible aux conditions de température et de pression du vagin.

L'appareil employé est le même que celui utilisé pour le taureau, mais en plus petit, sa longueur est de 18 à 20cm et son diamètre de 5cm environ, il se compose en général d'un corps ou armature tubulaire, d'une chemise qui représente le revêtement interne, d'un adaptateur conique qui permet de fixer à une de ses extrémités le tube collecteur et à l'autre bout le corps du vagin et enfin d'un collecteur gradué en verre (Michelat, 1974).

**II-1-1-2. Récolte par électrostimulation ou electroejaculateur**

L'électro-éjaculateur est un appareil constitué d'une sonde rectale (longueur 26cm, diamètre 2.5cm) et d'un système électronique, permettant d'envoyer des impulsions électriques cycliques via la sonde. Ces impulsions stimulent l'asphère génitale, excitent la zone lombo-sacrée médullaire et donc les zones déterminant l'érection et l'éjaculation (Douet, 2000). Bien que la fertilité de la semence recueillie soit similaire à celle obtenue avec le vagin artificiel, quelques preuves récentes suggèrent que la semence du bélier obtenue par induction électrique est plus susceptible aux chocs du froid et possède une moins bonne résistance spermatique à la réfrigération et à la congélation (Villena et al., 2003).

**II-1-1-3. Récolte du sperme épидидymaire par la méthode « retrograde-flushing » : L'animal mort**

La méthode de rinçage est décrite par (Martinez-pasteur *et al.*, 2006). Les parties caudales et les canaux déférents sont isolés du reste de l'épididyme en faisant une coupe avec un scalpel près de la jonction du corps et de la partie proximale (fig15). Ensuite, une aiguille est introduite dans la lumière du canal déférent, le fluide spermatique est alors rincé avec une seringue chargée avec 4 ml d'une solution isotonique (chauffée à 37°C dans une direction rétrograde en allant du canal déférent vers la partie caudale (Martinez-pasteur *et al.*, 2006).



**Figure 12** : collecte de semence avec la méthode « retrograde-flushing » : (Stout, M.2012).

**II-1-2. Contrôle et évaluation de la qualité de la semence.**

Après la collecte, la semence est rapidement contrôlée, les tests d'évaluation sont regroupés en trois types d'examen : macroscopiques (volume, couleur, consistance, et poids spécifique), microscopiques (motilité, concentration, morphologie), et biochimiques (pH et tests métaboliques). Les examens de routine sont effectués au niveau des centres d'insémination artificielle ovine sont ceux de la mesure de la motilité massale des spermatozoïdes, du volume éjaculat et de la concentration en spermatozoïdes.

**II-1-2-1. Analyse macroscopique du sperme**

L'analyse macroscopique et microscopique de la semence récoltée est évaluée en fonction des paramètres suivants : volume, couleur et consistance.

**II-1-2-1-1. Volume de l'éjaculat**

C'est un facteur secondaire d'appréciation, même si une quantité normale collectée est un indice favorable. Chez les espèces à déposition vaginale, cas du bélier, le volume est peu abondant mais très concentré, en général les secondes ejaculations d'une même session de collecte sont plus abondantes que les premières (Villena et al. ,2003). Le volume d'éjaculation moyenne d'un bélier varie entre 0,7 ml et 2 ml, la valeur la plus fréquente est de l'ordre de 1 ml (Lacroix, 1976).

**II-1-2-1-2. Couleur et consistance de sperme**

L'échantillon normal à un aspect de lait concentré, en général plus le sperme est blanc et visqueux, plus sa concentration en spermatozoïdes est élevée. Par exemple chez le bélier :

- Sperme crémeux épais correspond à une concentration de  $5 \times 10^9$  spermatozoïdes/ ml,
- Sperme laiteux correspond à  $2 \times 10^9$  spermatozoïdes/ ml,
- Sperme trouble correspond à  $0.7 \times 10^9$  spermatozoïdes/ ml (Douet, 2000).

**II-1-2-1-3. Poids spécifique**

Dans la pratique le poids spécifique moyen de la semence est directement proportionnel à la concentration spermatique. Aussi les variations de ce paramètre sont en relation avec le nombre des spermatozoïdes mûrs (plus lourds) et immatures (plus légers) (Villena et al. ,2003).

**II.1 .2.1.4. Viscosité du sperme**

Elle est traduite par la consistance du sperme et sa concentration en spermatozoïdes.

Une bonne viscosité est probablement synonyme d'une bonne concentration en spermatozoïdes. Le sperme a généralement une consistance « laiteuse » à « crémeuse » (Cabannes, 2008).

## II-1-2-2. Analyse microscopique

### II-1-2-2-1. Motilité

C'est un élément d'appréciation de la fonction du spermatozoïde et qui comporte :

#### ➤ Motilité massale

C'est un mouvement des spermatozoïdes qui s'observe sur une goutte du sperme au microscope à faible grossissement (x10) (Najjar et Ben Mrad, 2013). Une note de 0 à 5 (Tableau 1) est attribuée en fonction de l'intensité des vagues observables (Chemineau et al., 1993).

**Tableau 03** : Détermination la note de motilité massale de la semence.

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

Source : (Chemineau et al., 1993)

**Motilité individuelle** : C'est un mouvement de chaque spermatozoïde qui s'apprécie au microscope au grossissement x40 pour une dilution de 1 à 5 avec de la solution tris-bufferou une autre solution physiologique. Une échelle de 0 à 5 (tableau 2) est notée (Kabera, 2008).

**Tableau 04** : Détermination de la note de motilité individuelle des Spermatozoïdes.

(Baril et al. 1993)

Note	Motilité individuelle
0	Pas de déplacement des spermatozoïdes
1	Déplacement très lent ou pas de déplacement, tremblements du Spermatozoïde, oscillations de la queue
2	Déplacement lent, tremblements, mouvements inorganisés, que spermatozoïdes se déplacent plus rapidement
3	Les spermatozoïdes effectuent des déplacements curvilinéaires tremblement
4	Déplacement rapide, quelques cellules avec une trajectoire rectil d'autres avec une trajectoire courbe
5	Déplacement rectiligne et rapide des spermatozoïdes

**II-1.2.2 2. La concentration**

La concentration des spermatozoïdes est mesurée au moyen d'une cellule hématimètre telle que cellule Malassez ou bien via l'analyseur informatique (CASA) en utilisant une cellule de Makler

**II-2. Conservation du sperme**

La conservation de la semence permet de préserver le potentiel génétique d'un animal pendant une durée qui varie en général de quelques heures à plusieurs jours, voir une période plus longue. Elle permet ainsi la possibilité de transmettre ce potentiel à la descendance lorsque l'animal ne pourra plus se reproduire, suite à des affections pathologiques, à la vieillesse ou après sa mort (**Fuertes, 2008**). La conservation permet en outre le transport de la semence sur de longues distances sans avoir à faire subir le voyage au mâle ou à la femelle, ce qui facilite l'échange et la diffusion de la génétique ou la vente internationale de la semence (**Fuertes, 2008**).

**III. 2.1. Dilution**

Les dilueurs assurent un milieu favorable à la survie des spermatozoïdes in vitro et augmentent le nombre de doses à inséminer (**England, 1993**). De plus, ils protègent les spermatozoïdes de l'effet négatif des baisses températures (**Pena, 2000 ; Stanescu et Alin, 2010**).

### **II. 2.1.1 Composition des dilueurs**

Les dilueurs sont des substances qui ont un rôle de protéger les lipides membranaires et de limiter les effets de la cristallisation de l'eau (**Fuertes, 2008**). Seul le glucose, le fructose et le mannose sont métabolisés par la glycolyse au sein des spermatozoïdes (**RigauI et al., 2001**).

D'autres sucres (lactose, sucrose, raffinose tréhalose) agissent comme cryoprotecteurs extracellulaires en créant une pression osmotique à l'extérieur de la cellule, ce qui diminue la formation de glace intracellulaire (**Purdy, 2006b**).

Les substances tampons sont aussi une composante majeure des dilueurs, leur présence plus importante pour le sperme de bélier étant donné la concentration élevée en spermatozoïdes et où la glycogénolyse élevée engendre une diminution rapide du pH (**HanzenCh, 2010**).

Le tri-hydroxy-méthyl-aminométhane ou TRIS est le plus communément employé. Il s'agit d'un composé soluble dans l'eau qui se comporte comme une base faible et qui assure aussi la pression osmotique nécessaire (**Fuertes, 2008**). Le jaune d'œuf et le lait possèdent également un pouvoir tampon, mais qui reste limité, ils sont surtout utilisés pour leur apport en cholestérol et en phospholipides (**Hanzen, 2010**).

### **II. 2.1.2. Caractéristiques et rôles des dilueurs**

D'après **ENGLAND (1993)**, un dilueur doit être comme suit :

- être isotonique à la semence, pour éviter les chocs osmotiques,
- posséder un pouvoir tampon, pour maintenir un pH optimal pendant tout le temps de la conservation,
- posséder un pouvoir nutritif, pour conserver le métabolisme, la vitalité et la longévité des spermatozoïdes
- avoir un pouvoir antioxydant, pour contrecarrer les actions des radicaux libres,
- posséder une action stabilisatrice et protectrice des membranes contre les chocs thermiques et mécaniques,
- être dépourvu d'agents infectieux.



**II-2.2. Types de Conservation du sperme**

Les techniques de conservation consistent en la congélation et la réfrigération du sperme.

**II.2.2.1. Conservation à long terme : congélation**

La congélation est définie comme un processus de conservation des cellules à de très basses températures souvent dans l'azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$ . À cette température, toutes les réactions chimiques, les processus biologiques et les interactions physiques intra et extracellulaires sont figés (**Bakhach et al., 2007**).

**II.2.2.2. Conservation à court terme : Réfrigération**

La conservation du sperme par réfrigération consiste à maintenir les spermatozoïdes dans des températures permettant de réduire leur mobilité et leur métabolisme sans atteindre le seuil de températures négatives (**Decuadro, 2004**). La réfrigération du sperme de bélier se fait à une température voisine de  $4^{\circ}\text{C}$ , pour éviter les chocs thermiques, elle doit être atteinte progressivement au rythme moyen de refroidissement de  $0.5^{\circ}\text{C} / \text{minute}$  entre  $37$  et  $22^{\circ}\text{C}$  et de  $1^{\circ}\text{C}/\text{minute}$  entre  $22$  et  $4^{\circ}\text{C}$ . La semence peut conserver son pouvoir de fécondation pendant 2 à 3 jours (**Hanzen, 2010**).

**II. 2.3. Dommages causés par la conservation**

Les spermatozoïdes sont soumis à de nombreuses agressions au cours de la conservation et qui peuvent être :

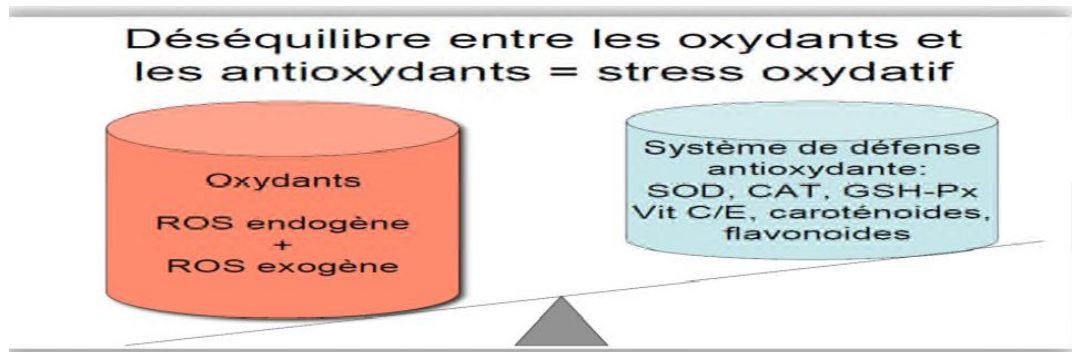
- choc thermique lors de leur réfrigération, de leur conservation et de leur réchauffement (**Ponglowhapan et al., 2004a**).
- acidification du milieu extra-cellulaire (**Bue, 1992**).
- choc osmotique lors de la dilution (**Hermansson U. et Linde-Forsberg C., 2006**).

La conservation est ainsi susceptible d'altérer la structure et la fonction des spermatozoïdes. Dans ce contexte, **Hermansson et Linde-Forsberg (2006)** ont montré que la mobilité des spermatozoïdes après réfrigération est réduite, **Rota et al. (1999)** ont également prouvé que le pourcentage de spermatozoïdes capables de la semence réfrigérée est plus élevé que celui de la semence fraîche. Enfin, **England et Ponzio. (1996)** ont démontré que plus le temps de réfrigération augmente, plus la qualité de la semence se dégrade. Cependant, les effets de la réfrigération sont moins néfastes pour les spermatozoïdes que ceux de la congélation.

## **Chapitre III :le stress oxydatif**

### III.1. Définition

Le stress oxydatif est un déséquilibre en faveur des oxydants (Fig12) contre les antioxydants (**Bettridge, 2000**). Le stress oxydant est aujourd'hui décrit comme une des causes majeures de l'infertilité masculine. Il induit des altérations membranaires et nucléaires, entraînant une perte de mobilité et du pouvoir fécondant des spermatozoïdes (**Pons et al., 2009**).



**Figure13** :État de déséquilibre oxydatif

### III.2. Conséquences du stress oxydant

Le stress oxydant provoque des lésions directes sur les molécules biologiques telles que l'oxydation des glucides, des lipides, des protéines et également des acides nucléiques. Les conséquences de l'action des espèces réactives de l'oxygène (ERO) sur toutes ces molécules peuvent être à l'origine de perturbations cellulaires graves allant même jusqu'à la mort cellulaire par activation des voies de l'apoptose. (**AITKEN et al., 2006**).

### III.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Sont des atomes ou des molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés formés lors du métabolisme de l'oxygène. Très instables, ils réagissent avec les molécules voisines en leur arrachant un électron, les transformant à leur tour en espèces radicalaires (**Pons et al., 2009**) capables d'endommager les structures cellulaires. L'oxygène est la substance la plus oxydante de notre organisme. Ces espèces ont une demi-vie très courte (**Toussaint, 2007**).

#### III. 3.1. Les sources des ERO

En dehors des radiations ionisantes (UV, rayon X, rayon gamma) capables de produire directement le radical hydroxyle à partir de l'eau, le plus souvent la principale source d'ERO est la chaîne de transfert d'électrons des mitochondries des spermatozoïdes ; la production

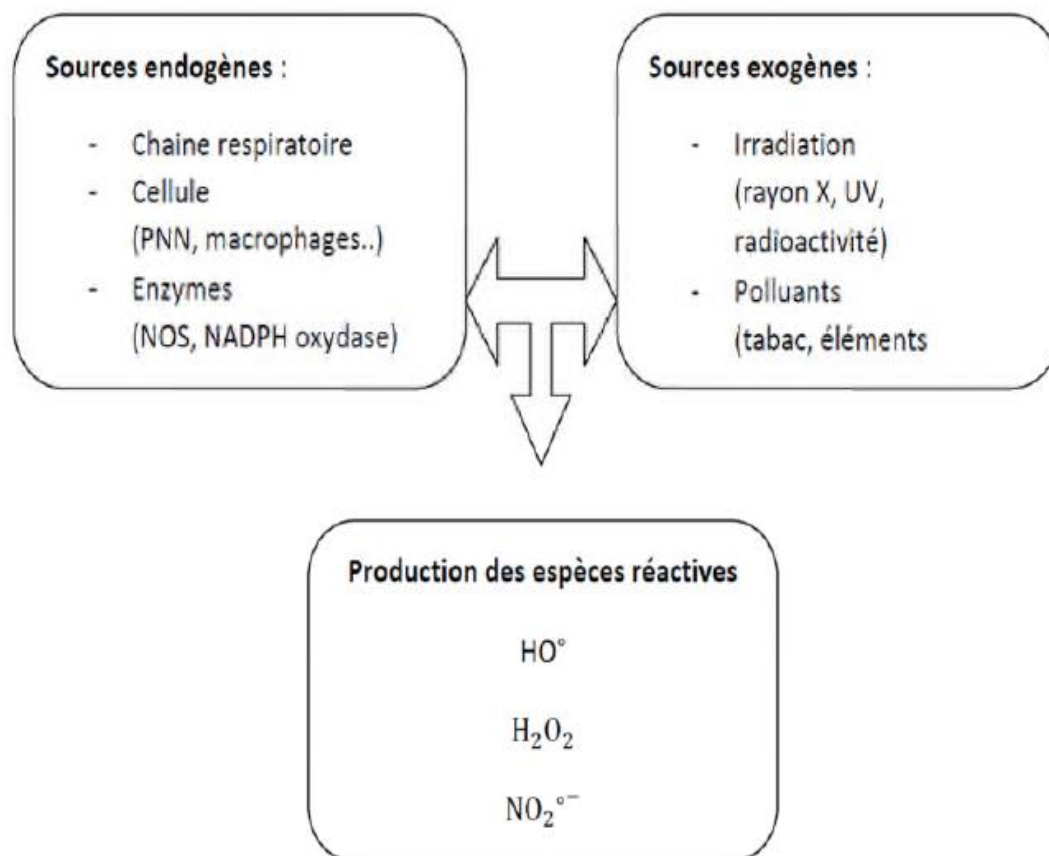
d'oxydants par les neutrophiles et les macrophages est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADH-oxydase (WANG H.J. *et al.*, 2009)

### III. 3.2. Principaux radicaux libres

Les ROS et les RNS sont les termes décrivant collectivement les radicaux libres (Pham-Huy *et al.*, 2008) avec les principales espèces radicalaires (Anion superoxyde  $O_2^-$ , radical Hydroxyle  $OH^\cdot$ , radical peroxyde  $ROO^\cdot$ ) et non radicalaires (Peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , Ozone  $O_3$ , Tetroxyde de di-azotée  $N_2O_4$ ) (Hadjigogos, 2003). Les espèces oxygénées et azotées non radicalaires exhibent également une action oxydante et peuvent être facilement converties en espèces radicalaires. (Hadjigogos, 2003).

#### III. 3.2.1. Origine des radicaux libres (RL)

La production de radicaux libres peut être d'origine endogène ou exogène (Fig13) et résulte d'activités enzymatiques ou non enzymatiques (Pham-Huy *et al.*, 2008).



**Figure 14:** Les sources des espèces réactives de l'oxygène (Poisson, 2013).

### III-3.3. Contrôle de la production des ERO

#### III.3.3.1. Le système antioxydant

C'est un réseau de molécules variées qui réagissent entre elles. Elles sont produites par l'organisme ou apportées par l'alimentation, pour empêcher ou limiter les dommages cellulaires, c'est un système de défense de l'organisme (**BEGUEL J.P. et al., 2013**).

##### III.3.3.1.1 Système antioxydant enzymatique

Ce sont des enzymes dont la séquence est très conservée au cours de l'évolution et qui agissent de manière coordonnée. Parmi les enzymes antioxydants, on cite :

##### a. La superoxydedismutase (SOD)

Superoxydedismutase est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation de l'O<sub>2</sub><sup>-°</sup> en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Cette réaction peut se faire spontanément mais de façon moins rapide, ce qui augmente le temps de vie de l'O<sub>2</sub><sup>-°</sup> lui permettant ainsi d'oxyder des composants cellulaires ou de générer des EOR bien plus toxiques (**GREGORY et al., 1974**).

##### b. La catalase (CAT)

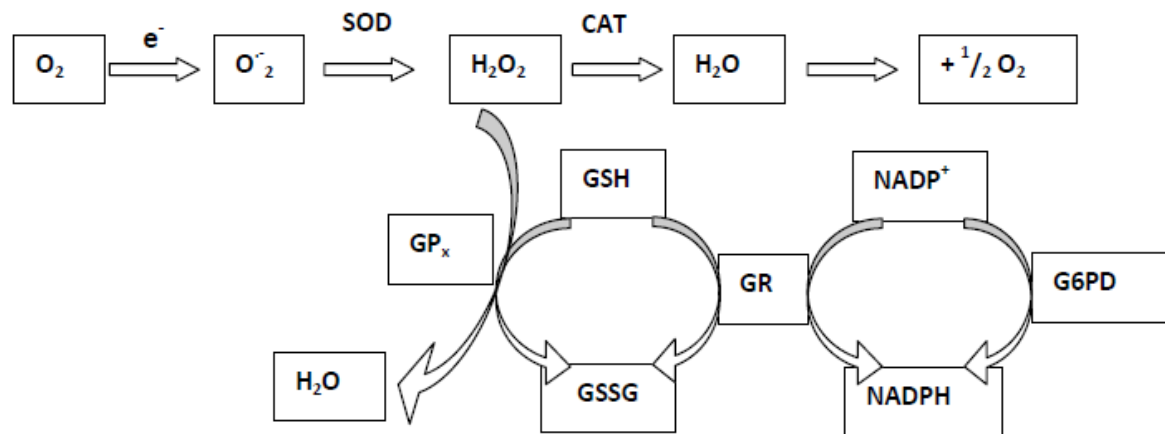
La catalase n'utilise que l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme substrat et fonctionne lorsque celui-ci est présent à des concentrations élevées bien supérieures aux conditions physiologiques de l'ordre de 10<sup>-6</sup>M (**COHEN et HOCHSTEIN, 1963**). L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui vient donc d'être formé par la SOD, peut être à son tour métabolisé par la catalase : (figure 16) et La glutathion peroxydase (GPxs). Le déclenchement de leur action respective est en fonction de la concentration du substrat.

##### c. La glutathion peroxydase (GPx)

Elle existe sous une forme de GPxcytosolique, une forme plasmatique, une forme gastro-intestinale ainsi qu'une iso-enzyme. Elle est considérée comme une enzyme destructrice très proche ayant la propriété de réduire les peroxydes (**URSINI F. et al., 1999**).

##### d. La glutathion réductase (GR)

Contrairement à la catalase, les glutathions peroxydases métabolisent une grande variété d'hydro peroxydes (R-OOH) en plus de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Néanmoins pour certaines formes de GP, (GPx2 et GPx3) le substrat H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reste préférentiel. Par contre, la GPx4 est la seule capable d'agir directement sur les hydroperoxydes de phospholipides (**VAN KUIJK et al., 1986**).



**Figure 15:** Système antioxydant enzymatique (Marfak, 2003).

### III.3.3.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

#### A-Antioxydants liposolubles

##### ➤ La vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble qui a des propriétés anti oxydantes en conjugaison avec la vitamine C et le glutathion. Elle est présente en grande quantité dans les huiles végétales, et il en existe huit formes dont la plus active est l'alpha-tocophérol.

Celui-ci est capable d'interagir avec l' $O_2^{\cdot -}$ ,  $H_2O_2$ , et  $^{\cdot}OH$ . La vitamine E joue son rôle d'antioxydant principalement dans les membranes biologiques (TAPPEL *et al.*, 1972).

Notamment au niveau de la membrane mitochondriale qui contient de forts taux de vitamine E et qui est riche en acides gras polyinsaturés cibles du stress oxydant. Une supplémentation en vitamine E limite la peroxydation lipidique chez des sujets soumis à un stress oxydant comme dans le cas d'une hypercholestérolémie ou d'un diabète (DAVIEt *et al.*, 1999)

##### ➤ Les caroténoïdes

Les pigments caroténoïdes sont largement présents dans la nature, ils jouent un rôle Important dans la protection cellulaire de l'organisme. Les caroténoïdes tels que le lycopène et le  $\beta$ -carotène sont d'importants composés biologiques pouvant désactiver les molécules excitées électroniquement telles que l'oxygène avec un processus désigné sous le terme quenching (Mascioet *et al.*, 1991).

#### B-Antioxydants hydrosolubles.

##### ➤ La vitamine C

C'est une vitamine hydrosoluble sensible à la chaleur et à la lumière. Il s'agit de l'acide ascorbique et de ses sels, les ascorbates de sodium et de calcium. Elle a un rôle antioxydant,

Carelle réagit avec l' $O_2^{\cdot-}$ ,  $^{\cdot}OH$ . Elle permet de limiter les mutations de l'ADN provoquées par un stress oxydant (LUTSENKO *et al.*, 2002). Elle agit également sur certains hydroperoxydes lipidiques réduisant ainsi la peroxydation lipidique la vitamine C permet également de régénérer la vitamine E qui a un rôle antioxydant plus important. Elle est elle-même régénérée par le glutathion à partir de la forme oxydée de l'acide ascorbique.

Cependant à forte dose et en présence d'ions, comme le fer, la vitamine C peut devenir pro-oxydante (POLJSAK *et al.*, 2005).

#### ➤ La vitamine A

La vitamine A appelée également rétinol et ses précurseurs comme le  $\beta$ -carotène est liposolubles. Dans l'organisme, elle existe sous forme de rétinol, de rétinal, d'acide rétinoïque et de rétinyl phosphate. Ces molécules sont altérées par l'oxygène de l'air, et ce processus est accéléré par la lumière et la chaleur. Elles sont liposolubles et leur rôle principal est la protection des membranes cellulaires en réduisant la peroxydation lipidique. Elles agissent encapant les radicaux libres et les EOR (BURTON et INGOLS, 1984).

### III-4. Les ERO dans la fonction spermatique

#### III-4.1 Source des ERO au niveau du spermatozoïde :

Le sperme est en particulier susceptible de l'attaque par ROS à cause des limites des mécanismes antioxydants, leur activité métabolique élevée et le taux d'acide gras polyinsaturé (AGPI) contenu de leurs membranes. (Bonisoli-Alquati, *et al.* 2011).

Dans le sperme, les ERO sont générés par les neutrophiles polynucléaires (PNN) et les cellules germinales. Les PNN sont les sources principales produisent l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) via lenicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène oxydase (NADPH).

L'anion superoxyde, peu réactif, est rapidement transformé en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), spontanément ou par l'action du superoxydedismutase (SOD). Même si l' $H_2O_2$  n'est pas un ERO au sens strict, il est décrit comme appartenant à cette famille ; c'est un intermédiaire stable, capable de traverser les membranes lipidiques et il permet de générer des radicaux hydroxyles ( $^{\cdot}OH$ ), particulièrement toxiques. La présence de quantité élevée de cellules germinales immatures spermatozoïdes morphologiquement anormaux dans le sperme est généralement associée à un stress oxydant. (Pons-Rejraji *et al.*, 2009)

Habituellement, la formation intracellulaire de ROS est le résultat de la fuite d'électrons des mitochondries qui mène à la diminution du nombre de spermatozoïdes.

Le déclin de l'activité mitochondriale après cryopréservation pourrait être lié à

L'augmentation de la production de ROS (Prtyka *et al.*, 2012). L'ensemble des constituants cellulaires

**III-4.2. Les ERO et leurs effets délétères sur le spermatozoïde****A. Peroxydation lipidique**

La première indication des effets néfastes des ERO sur les spermatozoïdes a été montrée en 1979 (**JONES *et al.*, 1979**). Ces auteurs ont observé une corrélation entre la peroxydation lipidique de la membrane plasmique des spermatozoïdes humains et la perte sévère de leur motilité, l'exposition des gamètes mâles aux ERO induit une perte de leur motilité qui est directement corrélée au niveau de peroxydation lipidique de la membrane des spermatozoïdes (**GOMEZ *et al.*, 1998**).

L'addition de l' $\alpha$ -tocophérol, qui a une capacité antioxydante importante notamment en empêchant la peroxydation lipidique, induit la restauration de la motilité spermatique ce qui montre que cette peroxydation est bien à l'origine de cette perte de motilité (**SULEIMAN *et al.*, 1996**).

Cette peroxydation lipidique par exposition des gamètes mâles aux ERO ne modifie pas seulement la motilité des spermatozoïdes mais agit également sur l'intégrité fonctionnelle de la membrane plasmique des spermatozoïdes. En effet, cette peroxydation empêche également la fusion du spermatozoïde à l'ovocyte et la réaction acrosomique (**AITKEN *et al.*, 1989**).

**B-Dommages oxydatifs de l'ADN**

Le stress oxydant est capable de causer des dommages aussi bien sur l'ADN mitochondrial que nucléaire des spermatozoïdes (**SAWYER *et al.*, 2003**). Le génome mitochondrial est particulièrement vulnérable aux attaques oxydatives. L'ADN nucléaire des cellules germinales est cependant plus résistant que celui des cellules somatiques aux dommages oxydatifs. Expérimentalement, un plus haut niveau d'irradiation est nécessaire pour engendrer des dommages à l'ADN des gamètes mâles comparés aux autres cellules.

**III-5. Système de défense du spermatozoïde**

La forte compaction de l'ADN du spermatozoïde et son volume cytoplasmique faible réduisent la capacité du spermatozoïde à lutter contre les attaques radicalaires.

Les spermatozoïdes possèdent néanmoins certains composés antioxydants comme du glutathion réduit, de l'acide ascorbique ou encore de la vitamine E. Cette dernière est retrouvée chez le rat en plus grande quantité sur les spermatozoïdes issus de la tête que de la queue de l'épididyme (**TRAMER *et al.*, 1998**). Des enzymes antioxydants sont également retrouvées au niveau des spermatozoïdes, notamment GPx1 et GPx4 ainsi que la glutathion réductase



(ALVAREZ et STOREY, 1989). La Cu-Zn SOD est exprimée dans l'épididyme, elle est sécrétée et est capable de se lier aux spermatozoïdes. La catalase est également présente sur les spermatozoïdes mais seulement chez certaines espèces et son expression reste à un niveau faible.

## CONCLUSION

---

### **Conclusion**

Vu l'absence du milieu de cryoconservation commercialisé pour le sperme du bélier, le sujet traité dans ce travail est un sujet d'actualité. De ce fait, les données bibliographiques de ce travail pourraient être exploitées pour développer des thématiques de recherche sur l'amélioration de la qualité du sperme cryoconservé chez le bélier. Les données les plus importantes exposées dans ce mémoire sont : le sperme ovin contient un taux très élevé des acides gras polyinsaturés lui rendant hautement sensible au stress oxydatif, notamment la peroxydation des lipides ; l'ajout des antioxydants dans les milieux de conservation apparait l'approche principale afin de fournir une protection au sperme contre les attaques des espèces réactives de l'oxygène.

## Référence Bibliographiques

---

### A

**Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., du Plessis, S.S., 2014.** Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J. Mens. Health* 32, 1–17. doi:10.5534/wjmh.2014.32.1.1

**Aitken, R. J., J. S. Clarkson and S. Fishel (1989).** "Génération of réactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function." *Biol Reprod* 41(1): 183-97.

**Aitken, R.J., Irvine, D.S., Wu, F.C., 1991.** Prospective analysis of sperm-oocyte fusion and reactive oxygen species generation as criteria for the diagnosis of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164, 542–551. doi:10.1016/0020-7292(92)90986-S

**Aitken, R. J. and M. A. Baker (2006).** "Oxidative stress, sperm survival and fertility control." *Mol Cell Endocrinol* 250(1-2): 66-9.

**Alvarez, J. G. and B. T. Storey (1989).** "Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation." *Gamete Res* 23(1): 77-90.

### B

**Bakhach, J., Casoli, V et Guimberteau, JC. (2007).** La cryopréservation des tissus composites : principe, revue de la littérature et expérience de l'équipe bordelaise. *Ann. Chir. Plas. Est.* 52: 531-547

**Baril (G.), (P.) Chemineau, (Y.) Congnie, (Y.) Guerin, (B.) Leboeu, (P.) Orgeur, (J.C.) Valet. (1993).** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Etude FAO Production et Santé Animale, 83 : 231 p

**Barone, R. (1978).** Anatomie comparée des animaux domestiques. Tome 3. Splanchnologie II. Appareil uro-génital. Foetus et Annexes. Péritoine et topographie abdominale. Ed. Vigot, Paris : 951 p.

**Barone, R. (1990).** Anatomie comparée des animaux domestiques. Tome 4. Splanchnologie II. Appareil uro-génital. Foetus et Annexes.

## Référence Bibliographiques

---

**Bertiridige, D.J. (2000).** What's oxidative stress? *Métabolisme*, 49(2supp.&):3-8..  
Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture : diffusion Lavoisier TEC et DOC.

**Béguel, J.P., Huvet, A., Quillien, V., Christophe, L., Fabioux, C. (2013).** Study of the antioxidant capacity in gills of the pacific oyster *Crassostrea gigas* in link with its reproductive investment, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 157, 63-71.

**Bonnes, G., Desclaude.J., Drogoul, C., Gadoud, R., Jussisau, R., Le loc'h, A., Montmeas, L., Robin, G. et al. (2005).** *Reproduction des animaux d'élevages*. 2<sup>ème</sup> Ed. Dijon : Educagri (Ed.): 407 p.

**Brice, G., C. Jardon et A. Vallet. 1995.** Le point sur la conduite de la reproduction chez les ovins. Eds. Institut de l'élevage, Paris, France. 79 pp.

**Burton, G. W. and K. U. Ingold (1984).** "beta-Carotène: an unusual type of lipid antioxydant." *Science* 224(4649): 569-73.

**Bue P. (1992).** Contribution à l'étude de la conservation d'une semence de chien pendant 48 h à +4°C : choix d'un milieu et influence du glycérol. Thèse Méd. Vét., Nantes, n°127, 81 p.

## C

**Cabannes, C. (2008).** Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovine, canine et humaine (Doctoral dissertation université Toulouse 3).

**Chemineau, P., Baril, G., Cognie, Y., Guerin, Y., Leboeuf, B., Orgeur, P., et Vallet, J. C. (1993).** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovin et les caprins. Chapitre 4. Collecte et conservation la semence .FAO.

**Chemmam, M., (2007).** Variation de l'ingestion et des performances chez la brebis « Ouled Djellal » sur pâturage : effet de la saison et de la complémentation. Thèse doctorat (Annaba) 167p.

**Chenoweth, P.J., Lorton, S.P., 2014.** *Animal andrology: theories and application*. CAB international, pp 595.

**Cooper, G.M., Haussman, R.E., 2006.** *The cell, A Molecular Approach*, Fourth Edition.ASM Press Washington, D.C. ISBN-13: 978-0-87893-219-1 (Sinauer Associates: hardcover). 808 pages.

**Cohen, G. and P. Hochstein (1963).** "Glutathione Peroxidase: The Primary Agent for the Elimination of Hydrogen Peroxide in Erythrocytes. *Biochemistry* 2: 1420-8.

## Référence Bibliographiques

---

### D

**Dacheux, F., Dacheux, J-L., 2001.** L'épididyme et les glands annexes. In *Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), la reproduction chez les mammifères et l'Homme, 290-315 pp. Coédition INRAEllipses.*

**Darin-Bennett, A., White, I.G., 1977.** Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology* 14, 466–470. doi:10.1016/0011-2240(77)90008-6

**Darin-Bennett, A., Poulos A., White I.G.,1973.** The effect of cold shock and freeze-thawing on release of phospholipids by mm, bull and boar spermatozoa. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 1409- 1420.

**Davi, G., Ciabattini, A. Consoli, A. Mezzetti, A. Falco, S. Santarone, E. Pennese, E. Vitacolonna, T. Bucciarelli, F. Costantini, F. Capani and C. Patrono (1999).** "In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f2alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation." *Circulation* 99(2): 224-9.

**Decuadro-Hansen, G. (2004).** La refrigeration et la congelation du sperme : expérience chez l'animal chilled and frozen semen : the animal experience, *Gynécologie Obstétrique et fertilité* 32 Aucune entrée de table d'illustration n'a été trouvée.(2004) 887-893.

**Dou et, D-G. N., 2000.** Congélation de sperme de mammifères, application aux antilopes. *Thèse Docteur vétérinaire. Ecole nationale de Nantes 111P.*

### E

**Eddy, E.M., 2006.** The spermatozoon. In *physiology of reproduction, volume 1 (Knobli E., Neill J.D., Eds) pp 3-54, chapitre 1.3ème édition. Elsevier Academic Press Publicatione st. louis.M.O., USA.*

**Ehling, C., Rath, D., Struckmann, C., Frenzel, A., Schindler, L., Niemann, H., 2006.** Utilization of frozen-thawed epididymal ram semen to preserve genetic diversity in Scrapie susceptible sheep breeds. *Theriogenology* 66, 2160–2164.

**England, G. (1993).** Cryopreservation of dog semen : a review , *journal of reproduction and*

## Référence Bibliographiques

---

fertility supplements 4, 243-255.

**Evans, G. et W.M.C. Maxwell. 1987.** Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Eds. Butterworth. Sydney, Australie, 200 pp.

### F

**Fickel, J., Wagener, A., Ludwig, A., 2007.** Semen cryopreservation and the conservation of endangered species. Eur. J. Wildl. Res. 53, 81–89. doi:10.1007/s10344-007-0089-z

**Fuertes, P.V. (2008).** Congélation de la semence de chien préalablement réfrigérée : étude expérimentale, thèse de doctorat. École nationale vétérinaire d'alfort. Faculté de médecine de Créteil, P113.

### G

**Garner, D., Hafez, E., 2000.** Spermatozoa and seminal plasma. Reprod. Farm Anim. 7th ... 96–109. doi:10.1002/9781119265306.ch7

**Girod C et Czyba J – (1997).** HISTOLOGIE. Appareils circulatoire, respiratoire, digestif, urinaire, organes hématopoïétiques, 3ème édition, pp 252.

**Gregory, E. M., S. A. Goscin and I. Fridovich (1974).** "Superoxide dismutase and oxygen toxicity in a eukaryote." J Bacteriol 117(2): 456-60.

### H

**Hammerstedt, R.H., Graham, J.K., Nolan, J.P., 1990.** Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. J. Androl. 11, 73–88. doi: 10.1002/j.1939-4640.1990.tb01583.x

**Hanzan,ch,2016.n** La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants.p12.

**Hanzen, Ch. (2010).** Facteurs d'infertilité et d'infécondité en reproduction bovine. orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/70544/1/R0\_8\_Facteurs\_generaux\_2012.pdf. Consulté le 22 septembre 2011.

## Référence Bibliographiques

---

**Hadjigogos, K. (2003).** The role of free radicals in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Panminerva Med.*; 45:7–13.

**Hermansson, U. et Linde-forsberg C. (2006).** Freezing of stored, chilled dog spermatozoa. *Theriogenology*, 65, 584-593.

**Holt, W.V., North, R.D.,1985.** Determination of lipid composition and thermal phase transition temperature in an enriched plasma membrane fraction from ram spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 73, 285-294.

### J

**Jones, R., T. Mann and R. Sherins (1979).** "Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma." *Fertil Steril* 31(5) : 531-7.

### K

**kabera, f. (2008).** Appréciation de la qualité de la semence bovine produite au centre national D'amélioration génétique (cnag) de dahra au senegal, (mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales).

### L

**Lacroix, M., 1976.** Circuit physique de la semence ovine, 81-93 pp. In *Insémination artificielle ovine Editions SEARLE-PARIS, 105 P.*

**Lutsenko, E. A., J. M. Carcamo and D. W. Golde (2002).** "Vitamin C prevents DNA mutation induced by oxidative stress." *J Biol Chem* 277(19): 16895-9.

### M

**Manafi, M., 2011.** Artificial insemination in farm animals. InTech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia, 312 pages. ISBN:978-953-307-312-5.

## Référence Bibliographiques

---

**Madhuri Dhurvey, V.K.Gupta, S.P.Nema, A.Patidar, M.Shivhare, N.Singh and V.Shakya.2012**, Modern semen evaluation techniques in domestic animals: A review.4p.

**Michelat, J., Chauvier, G., 1974.** Encyclopédie Vétérinaire. *Editions Vigot Frères- Tome2. PARIS, 767 p.*

**Martinez-pasteur, F., Garcia-macias, V., Alvarez, M., Chamorro, C., Herraiez, P., PAZ, P.D., et Anel, L. (2006).** Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. *Theriogenologie*, 65 (3), 471-485.

### N

**Najjar, A. et Ben Mrad M. (2013).** Facteurs de variations de la la qualité du spermogramme du lapin reproducteur, *Livestock Research for Rural Développement* 25 (8).

### P

**Partyka Agnieszka., Ewa Łukaszewicz., Wojciech Nizanski., 2012.** Effect of cryopreservation on sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in fowl semen. *Theriogenology* 77, pp1497–1504.

**Pena, A. et Linde-Forsberg C. (2000).** Effects of aquex, one- or two-step dilution, and two freezing and thawing rates on post-thaw survival of dog spermatozoa. *Theriogenology*, 54, 859-875.

**Petrounkina, A.M., A. Stahleberg, J. Pfeilsticker, R. Patloldt, M. Beyerbach, H. Bader and T. Peterson 2000.** Volumetric measurement as a useful adjunct for evaluation of bull fertility. *Proc. 14th ICAR Stockholm*, 1 (3):115-117

**Pham-Huy LA., He H, & Pham-Huy C. (2008).** Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Medicine*, 4:89-96.

**Poisson C. (2013).** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. ; innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué.

**Poljsak, B., Z. Gazdag, S. Jenko-Brinovec, S. Fujs, M. Pesti, J. Belagyi, S. Plesnicar and P. Raspor (2005).** "Pro-oxidative vs antioxidative properties of ascorbic acid in chromium (VI)-induced damage: an in vivo and in vitro approach." *J Appl Toxicol* 25(6): 535- 48.



## Référence Bibliographiques

---

**Ponglowhapan, S., Essen-gustavsson. B. et Linde-forsberg c. (2004).** Influence of glucose and fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*, 62, 1498-1517.

**Pons-Rejraji. H, B. Sion, F. Saez, F. Brugnon,L. Janny et. Grizard., 2009.** Rôles des dérivés actifs de l'oxygène (DAO) sur les spermatozoïdes humains et infertilité masculine. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 37, pp 529–535.

### R

**Regaudie, R., Reveleau, L. (1977).** Le mouton. 2ème Ed. J. B. Ballière (Ed.) : 567p.

**Rejraji, H., Saez, F., Drevet, R., 2009.** Évolution de la composante lipidique de la membrane plasmique des spermatozoïdes durant la maturation épидидymaire *Androl.* 19, 17-28. doi:10.1007/s12610-008-0006-7

**Rosa, H.J.D., Bryant, M.J., 2003.** Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rumin. Res.* 48, 155–171. Doi :10.1016/S0921-4488(03)00038-5

**Rota, A., Pena A., Linde-forsberg C. et Rodriguez-martinez H. (1999b).** In vitro capacitation of fresh, chilled and frozen-thawed dog spermatozoa assessed by the chlortetracycline assay and changes in motility patterns. *Animal Reproduction Science*, 57, 199-215.

### S

**Saake, R. G and Almquist, J.O., 1964a.** Ultrastructure of bovine spermatozoa, I.The Head normal, Ejaculated sperm. *AM.J. ANAT*, 115, 143-161. DOI: 10.1002/aja.1001150109

**Saake, R. G and Almquist, J.O., 1964b.** Ultrastructure of bovine spermatozoa, II.The neck and Tail normal, Ejaculated sperm. *AM.J. ANAT*, 115, 163-83.

**Sawyer, D. E., B. G. Mercer, A. M. Wiklendt and R. J. Aitken (2003).** "Quantitative analysis of gene-specific DNA damage in human spermatozoa." *Mutat Res* 529(1-2): 21-34.

**Setchell, B.P. (1991).** Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P.T. (Ed.) *Reproduction in domestic animals.* 4th Ed., Academic Press, Inc. San Diego. New York. Boston. London. Sydney. Tokyo: 670 p.

## Référence Bibliographiques

---

**Singer, S. J., Nicolson, G. L., 1972.** The fluid mosaic model of the structure of cell membrane. *Science* 175, 720-731.

**Stout, M.A. (2012).** Comparison of Epididymal and ejaculated Sperm Collected from the same Holstein Bulls, (Doctoral dissertation, Louisiana state University).

**Suleiman, S. A., M. E. Ali, Z. M. Zaki, E. M. el-Malik and M. A. Nasr (1996).**"Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E." *J Androl* 17(5): 530-7.

### T

**Tappel, A. L. (1972).** "Vitamin E and free radical peroxidation of lipids." *Ann N Y Acad Sci* 203 : 12-28.

**Thibault C, Levasseur, MC. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris : Eddition INRA, 928p.

**Toussaint, B, 2007, 2008.** Oxygène et stress and male infertilité –a clinical perspective .*H um Reprod Update* :14, p243-58.

**Tramer, F., F. Rocco, F. Micali, G. Sandri and E. Panfili (1998).** Antioxidant systems in rat epididymal spermatozoa. *Biol Reprod* 59(4): 753-8.

**Tulsani, D., 2003.** Introduction to mammilian reproduction. Springer-science.1ère édition, pp 403.

### U

**Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J, et Flohe L., (1999).** Dual function of the selenoprotein PHGPx during spermmaturation. *Science* 285 : 1393-1396,

### V

**Vaissaire, J.P. (1977)** Sexualité et reproduction des mammifères. Maloine S.A. Ed., Paris: 457 p.

**Vishwanath, R., 2003.** Artificial insemination: the state of the art. *Theri- ogenology* 59, 571–584.

## Référence Bibliographiques

---

### W

**Wang H. J., Pan Y. X., Wang W.Z., Zucker I; H., Wang W., (2009).** NADPH Oxidas Derived Reactive Oxygene Species in Skeletal Muscle Modulates the Exercise Pressor

**Watson, P.F., 2000.** The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 481–492. doi:10.1016/S0378-4320(00)00099-3

## Résumé

En Algérie, l'amélioration de la qualité et la fertilité du sperme ovin conservé est une nécessité inéluctable pour pratiquer l'insémination artificielle et par conséquent, l'autosatisfaction en viande rouge. De ce fait, l'objectif de ce travail est de présenter les particularités du spermatozoïde du bélier, notamment la composition membranaire, sa vulnérabilité aux attaques des espèces réactives de l'oxygène durant la conservation et en fin les moyens de lutte contre le stress oxydatif. La conclusion de cette synthèse bibliographique est que le spermatozoïde du bélier présente une susceptibilité élevée vis-à-vis le stress oxydatif, particulièrement durant le processus de conservation. La supplémentation des milieux de conservation avec des antioxydant apparaît la stratégie fondamentale pour lutter contre le stress oxydatif. Notre travail constitue une source de données importante pour développer des projets de recherche sur l'amélioration de la qualité et la fertilité du sperme ovin conservé.

## Abstract

In Algeria, the improvement of the quality and fertility of the preserved ovine semen is an inescapable necessity to practice artificial insemination and consequently, the self-satisfaction in red meat. Therefore, the objective of this work is to present the particularities of the ram sperm, in particular the membrane composition, its vulnerability to the attacks of reactive oxygen species during conservation and finally the means to fight against oxidative stress. The conclusion of this bibliographical synthesis is that the ram spermatozoon presents a high susceptibility to oxidative stress, particularly during the conservation process. The supplementation of preservation media with antioxidants appears to be the fundamental strategy to fight against oxidative stress. Our work constitutes an important source of data to develop research projects on the improvement of the quality and fertility of preserved ovine semen.

## ملخص

يعد تحسين جودة وخصوبة السائل المنوي للأغنام في الجزائر ضرورة لا مفر منها لممارسة التلقيح الاصطناعي، لتوفير اللحوم الحمراء. لذلك، فإن الهدف من هذا العمل هو تقديم خصائص الحيوانات المنوية للكباش، ولا سيما تكوين الغشاء، وقابليته لهجمات أنواع الأكسجين التفاعلية أثناء التخزين وأخيراً وسائل مكافحة الإجهاد التأكسدي.. استنتاج هذا الاستعراض الأدبي هو أن الحيوانات المنوية الكباش لديها قابلية للإجهاد التأكسدي، خاصة أثناء عملية الحفظ. حيث أن مكملات وسائط التخزين بمضادات الأكسدة هي الاستراتيجية الأساسية لمحاربة الإجهاد التأكسدي. يشكل عملنا مصدرًا مهمًا للبيانات لتطوير المشاريع البحثية حول تحسين جودة وخصوبة السائل المنوي للأغنام