

INISTERE 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 DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf : ...../UAMOB/FSNVST/DSA/2022

## 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 :

*KHELILI Khadidja & AOUDJIT Soumicha*

*Thème*

**Effet de l'alimentation hyperprotéique sur la motilité  
spermatique chez les bovins**

Soutenu le: 07/07/2022

Devant le jury composé de :

*Nom et Prénom*

*Grade*

M<sup>me</sup>. BENFODIL Karima

MCA

Univ. Bouira

Présidente

M<sup>r</sup>. ABDELLI Amine

MCA

Univ. Bouira

Promoteur

M<sup>r</sup>. BESBACI Mohamed

MCA

Univ. Blida

Co-Promoteur

M<sup>r</sup>. SALHI Omar

MCA

Univ. Blida

Examineur

Année Universitaire : 2021/2022

# *Remerciements*

## **Remerciements**

*Nous remercions **Dieu** tout puissant, de nous-avoir guidé vers la science et le savoir et de nous-avoir donné le courage et la volonté pour élaborer ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre promoteur **M<sup>r</sup>. ABDELLI Amine**, de nous avoir encadrés, pour son aide et ces précieux conseils, son suivi rigoureux et même pour sa disponibilité derrière nous jusqu'à la fin de ce travail. Nos respects et nos chaleureux remerciements.*

*Nous tenons à remercier également notre Co-promoteur **M<sup>r</sup>. BECBACI Mohamed**, Pour son encouragement, son conseil bienveillant, sa rigueur scientifique et sa grande disponibilité. Nous le remercions vivement.*

*Nos remerciements vont aussi à **M<sup>me</sup>. BENFODIL Karima**, Qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury d'évaluation de ce travail. Merci pour sa disponibilité et son écoute, Hommages respectueux.*

*Nous tenons à remercier aussi **M<sup>r</sup>. SALHI Omar**, Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner et d'évaluer ce travail. Nos plus sincères remerciements.*

*Nos remerciements vont aussi à **M<sup>r</sup>. LAFRI Mohamed**, Directeur de Laboratoire de Recherche de Biotechnologie lié à la Reproduction Animale de l'institut des sciences vétérinaires de Blida pour nous avoir mis à notre disposition tout le matériel disponible pour réaliser ce travail.*

*Nous remercions également l'équipe de laboratoire de département des sciences agronomiques, Université de Bouira sans lesquelles ce projet n'aurait évidemment pas vu le jour, pour nous avoir accordé leur confiance, et nous-avoir permis de travailler dans une ambiance chaleureuse.*

*Nos remerciements vont aussi au corps professoral et administratif de département de sciences agronomiques pour la qualité de leurs enseignements et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.*

*Nous remercions tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**Merci** 

# *Dédicaces*

## *Dédicaces*

*À mes très chers **parents** qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots. Que dieu vous protège et vous Garde pour nous.*

*A ma **Maman** celle qui m'a donné tout. Tu m'as donné plus que j'en mérite, tu es la lumière qui illuminait mes chemins depuis les petits traits au primaire jusqu'à ces pages de thèse, je t'aime très fort.*

*A mon **Papa** à l'homme qui a tellement sacrifié pour moi, celui qui mérite toute ma reconnaissance à celui qui m'a donnée la force et le courage, je t'aime très fort. Sans vous, je pense que je n'en serai pas là, aucun mot ne saurait exprimer tout mon amour et toute ma gratitude.*

*A mon cher frère : **Abd El Ghafour***

*A mes sœurs : **Zoubida et Hiba***

*A mon cher **Youcef***

*A ma grande famille : mes **grands-pères**, A mes **grands-mères**, mes **oncles**, mes **tantes** et mes **cousins** : **Ilham, Souha, Amira, Sara, Nada, Ikram, Rofia, Nermine** merci pour ce que vous m'avez donné pendant ces années.*

*A mes aimables amies à qui je dis, grand merci pour tout ce qui' ils ont faits pour moi : **Nejma, Houda Manel, Liza, Wissem, Rahim, Khalef***

*A ma chère copine **SOUMICHA**, que je remercie vivement pour son aide et soutien avant, durant, et après la réalisation de ce travail, tout mon respect le plus profond.*

*A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.*



*Je dédie ce travail  
**Khadidja***

## *Dédicace*

*Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce travail à :*

*Mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui m'ont soutenue Tout au long de ma vie et mes études. Que dieu leur procure bonne santé Et longue vie,*

*A la mémoire de mon père **Mohamed** tu es toujours présent dans mon cœur, j'espère que tu es fier de ta petite fille, qu'ALLAH t'ouvre grandement les portes du paradis, je t'aime **papa Mouh.***

*A ma **mère**, celle qui tant bercé, tant donné et tant enseigné, celle qui m'a guidé dans le droit chemin, celle qui m'a appris que rien n'est impossible*

*A papa **Kamel**, celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études, Merci pour ton amour et ta confiance totale*

*A l'homme de ma vie **MEZIANE SIDALI**, votre soutien constant tout au long de mes études, vos sentiments sincères et votre inquiétude m'ont beaucoup apporté.*

*A mes sœurs : **Nourhane, serine et Nour El houda***

*A mon cher frère « **Aymane** »*

*A Ma chère tante **Soumira** et mon cousin **Nassim**.*

*A La mémoire de mon cher grand-père « Boutarene Achour » qui nous à quitter et qui a attendu ce jour beaucoup plus que moi la miséricorde de Dieu.*

*A mon binôme **Khadidja** et toute la famille **Khelili**.*

*A tous les étudiants de ma promotion du master 2021\_2022, Production et Nutrition animale.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*



*Soumicha.*

# *Liste des abréviations*

## Liste des abréviations

**AAE** : AA essentiels

**AA NE** : AA non essentiels

**AGV**: acides gras volatils

**ALH**: Amplitude of Lateral Head displacement

**BUN**: azote uréique sanguin

**CASA** : Computer-Assisted Sperm Analysis

**CNIAAG** : Centre National de l'Insémination Artificiel et l'Amélioration Génétique

**CP** : Concentration plasmatique

**IA** : Insémination Artificiel

**ME** : énergie métabolisable

**MG** : Matières grasses

**MAT** : Matières azotées totales

**MS** : Matière sèche

**MUN** : azote uréique du lait

**PB** : protéines brutes

**PC** : protéines concentré

**PDI** : protéines digestibles dans l'intestin grêle

**PUN** : azote plasmatique

**RDP** : protéine dégradable du rumen (protéines rapidement disponible)

**Spz**: spermatozoid

**STR**: Straight Ness.

**TB** : Taux butyreux

**TP** : Taux protéique

**UFL** : Unité Fourragère Lait

**VAP**: Vélacité Straight Pathway

**VCL**: Velocity Curved Line

**VSL**: Velocity Straight Line

# *Liste des tableaux*

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Besoins en acides aminés exprimés en pourcentage de l'apport en protéine digéré chez la vache laitière..	14
<b>Tableau 02</b> : Vitesse de dégradation des protides dans le rumen	15
<b>Tableau 03</b> : Principales enzymes intervenant dans la digestion intestinale des protéines et des peptides. AA : acides aminés.	17
<b>Tableau 04</b> : Définitions des trajectoires et des paramètres étudiés par les analyseurs de sperme assistés par ordinateur.	33
<b>Tableau 05</b> : Effet de co-incubation de l'urée avec le sperme bovin pendant 5, 30, 90 et 180 min sur la motilité totale, progressive et la vitalité	33
<b>Tableau 06</b> : Tableau représentant les corrélations entre les différents paramètres spermatiques chez bovins.	35
<b>Tableau 07</b> : Statistiques descriptives des sous populations issues de clustering à partir des paramètres cinématiques	36
<b>Tableau 08</b> : Test d'association du Khi deux de l'effet de l'hyper-urémie sur la répartition des deux sous-populations	37

## *Liste des figures*

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Schéma récapitulatif de l'effet de AEP sur les performances fonctionnelles et cellulaires de la reproduction chez la vache.....	24
<b>Figure 02</b> : Paillette de 0.25 ml .....	25
<b>Figure 03</b> : Micropipettes (eppendorf) plus des embouts.....	26
<b>Figure 04</b> : Agitateur Vortex .....	27
<b>Figure 05</b> : Analyseur de sperme assisté par ordinateur (CASA) SCA® .....	27
<b>Figure 06</b> : Affichage des résultats d'analyse de la mobilité spermatique par le CASA .....	29
<b>Figure 07</b> : Les paramètres cinématiques générés par le CASA. ....	29
<b>Figure 08</b> : Étapes de confection d'un frottis spermatique coloré avec éosine -nigrosine.....	30
<b>Figure 09</b> : Spermatozoïdes vivants et morts après coloration éosine-nigrosine .....	31
<b>Figure 10</b> : Effet de co-incubation de l'urée avec le sperme bovin.....	34
<b>Figure 11</b> : Les sous-populations identifiées par le test cluster par rapport l'effete l'hyperurémie sur les paramètres cinématiques des spermatozoïdes bovins .....	36

# *Sommaire*

---

Remerciements .....	i
Dédicaces .....	ii
Liste des abréviations .....	iii
Liste des tableaux .....	iv
Liste des figures .....	v
Sommaire .....	vi
Introduction .....	1
Partie 01 : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Les aliments et leur distribution en production laitière	
I. Différents types des aliments de la vache .....	2
I.1. Fourrages.....	2
I.1.1. Fourrages verts.....	2
I.1.2. Ensilages .....	2
I.1.3. Fourrages secs .....	3
I.1.3.1. Foin .....	3
I.1.3.2. Paille .....	3
I.1.4. Racines et tubercules, et leurs dérivés .....	3
I.1.4.1. Les betteraves et leurs dérivés .....	3
I.1.4.2. Pommes de terre.....	4
I.2. Concentrés.....	4
I.2.1. Les aliments concentrés simples .....	5
I.2.1.1. Les céréales et leurs coproduits .....	5
I.2.1.2. Les graines de protéagineux et d'oléagineux.....	5
I.2.1.3. Les tourteaux.....	5
I.2.2. Aliments concentrés composés .....	5
I.3. Mélanges minéraux vitaminés .....	5
I.3.1. Choix du mélange minéral vitaminé .....	6
I.4. Distribution des rations .....	6
I.4.1. Modes de distribution .....	6
I.4.1.1. Distribution du mélange minéral vitaminé.....	6
II. Besoins nutritionnels de la vache laitière .....	6
II.1. Besoins d'entretien .....	7
II.1.1. Besoins énergétiques d'entretien .....	7
II.1.2. Besoins protéiques d'entretien.....	8
II.2. Besoins de gestation .....	8
II.2.1. Besoins énergétiques de gestation .....	8
II.2.2. Besoins protéiques de gestation.....	9

---

II.3. Besoins de lactation .....	9
II.3.1. Besoins énergétiques de lactation .....	10
II.3.2. Besoins protéiques de lactation .....	10
II.4. Besoins de croissance .....	10
Chapitre II : Métabolisme protéique chez la vache laitière	
I. Besoin en acides aminées.....	12
II. Mécanisme de la dégradation ruminale des protéines .....	14
II.1. Dégradation ruminale des protéines .....	14
II.2. Vitesse de dégradation.....	15
II.3. Synthèse microbienne.....	15
III. Mécanisme de la digestion intestinale des protéines.....	16
III.1. Mécanisme de digestion .....	16
III.2. Mécanismes d'absorption.....	16
IV. De l'azote à l'urée .....	17
Chapitre III : L'effet de l'urée sur la reproduction	
I. Effet l'hyperazotémie sur les ovaires.....	19
II. Effet de l'hyperazotémie sur les hormones ovariennes .....	19
III. Effet de l'hyperazotémie le milieu utérin.....	20
IV. Effet de l'hyperazotémie sur le Ph utérin.....	20
V. Effets de l'hyperazotémie sur le développement embryonnaire .....	21
VI. Effet de l'hyperazotémie sur la capacité et le développement des ovocytes après la fécondation in vitro .....	22
VII. Effet de l'hyperazotémie sur les spermatozoïdes .....	23
VIII. Effet sur la santé utérine .....	23
Partie 02 : La partie expérimentale	
Chapitre I: Matériels et méthodes	
1. Contexte du travail .....	25
2. Matériel .....	25
2.1. Matériel biologique .....	25
2.2. Matériel de laboratoire .....	26
2.3. Produits chimiques et préparation des solutions .....	27
3. Méthodes .....	28
3.1. Décongélation et préparation des milieux.....	28
3.2. Analyse spermatique .....	28
3.2.1. La motilité .....	28
3.2.2. Vitalité.....	30

## Chapitre II: Résultats et discussion

Résultats .....	33
1. Motilité et vitalité .....	33
2. Paramètres cinématiques .....	34
3. Sous-populations .....	35
Discussion : .....	37
Conclusion.....	39
Références bibliographiques	
Résumé	

# *Introduction*

## Introduction

De plus en plus de données suggèrent que les protéines jouent un rôle important dans les performances de reproduction des bovins laitiers. Une augmentation des protéines brutes (CP) alimentaires, une dégradation accrue des protéines alimentaires et une teneur élevée en urée sanguine ou en urée plasmatique ont été associées à des taux de conception plus faibles (**Hewett, 1974 ; Jordan et Swanson, 1979 ; Folman et coll, 1981 ; Kaim et al., 1983 ; Ferguson et al., 1988 ; Canfield et al., 1990 ; Femandez-Baca, 1992**) et à des taux de gestation plus faibles (**pehrson et al., 1992 ; Butler et al., 1996**) chez les vaches laitières en lactation.

D'autres études n'ont pas réussi à confirmer cette relation (**Erb et al., 1976 ; Rowlands et al., 1977 ; Sonderegger et Schurch, 1977 ; Edwards et al., 1980 ; Bogin et al., 1982 ; Howard et al., 1987 ; Carroll et al., 1988 ; Eldon et al., 1988 ; Ruegg et al., 1992**). Cependant, **Carroll et al., (1988)** ont utilisé principalement des vaches en première lactation, et une association négative plus forte entre les protéines alimentaires et la fertilité a été trouvée pour les vaches en quatrième lactation et plus âgées (**Kaim et al., 1983 ; Bruckental et al., 1989 ; Ferguson, 1990 ; Femandez-Baca, 1992**).

**Moller et al., (1993)** ont observé une relation négative entre des concentrations plus élevées d'azote (N) et des concentrations plus faibles d'hydrates de carbone solubles dans les pâturages et des taux de conception et l'incidence de l'anœstrus dans les troupeaux. D'autres ont observé que des taux élevés en urée, affectaient la fonction des cellules folliculaires (**Lucy et Staples, 1992**), la maturation des ovocytes (**Santos et al., 2009 ; Hammon et al., 2005**), la fonction du corps jaune et le développement précoce de l'embryon (**Elrod, et Butler, 1993**), ce qui influence à son tour la fertilité des vaches. De plus, nous supposons que l'urée affecte la qualité de l'environnement et la survie des spermatozoïdes après l'insémination.

La présente étude s'articule en deux grandes parties, dont la première traite les données bibliographiques, et elle est composée de trois chapitres. La deuxième partie est composée de deux chapitres, le premier est consacré aux matériels et les méthodologies adoptées, le deuxième comporte les résultats obtenus et leurs illustrations ainsi que leur discussion. Et enfin une conclusion générale.

Le but de cette étude était donc d'évaluer la relation entre l'hyper-urémie, la motilité et la survie des spermatozoïdes une fois lorsque ces derniers sont trouvés dans le tractus génital femelle.

*Partie 01 :*  
*Synthèse bibliographique*

*Chapitre I*  
*Les aliments et leur*  
*distribution en production*  
*laitière*

L'alimentation des vaches laitières fait appel aux sciences de la nutrition, de la biochimie et de la microbiologie et les combine avec l'élevage. Dans ce chapitre, nous aborderons les nutriments et la manière dont ils font partie intégrante des performances des vaches, en abordant les caractéristiques des principaux aliments utilisés en production laitière, les calculs des besoins, les principaux indicateurs permettant d'évaluer une ration de la vache laitière.

## **I. Différents types des aliments de la vache**

Les aliments destinés pour les vaches laitières sont classés comme suit : (1) les fourrages grossiers, y compris les herbes de pâturage, le foin, l'ensilage, les plantes racines, la paille et les tiges de maïs, et (2) concentrés à haute valeur énergétique, y compris les céréales et leurs sous-produits (orge, maïs, avoine, seigle, blé), les tourteaux à haute teneur en protéines (soja, colza, coton, arachide) et les sous-produits de la transformation de la betterave à sucre, de la canne à sucre, des animaux et des poissons.

### **I.1. Fourrages**

Les fourrages sont classés selon deux critères majeures : la teneur en matières séchées (MS) et leur mode de conservation, on peut distinguer 3 catégories : Fourrages verts, ensilage, fourrages secs. Et la 4<sup>ème</sup> qui peut être considérée comme une catégorie fourragère, il s'agit des tubercules et racines et leurs dérivés (**Huyghe et al., 2013**).

#### **I.1.1. Fourrages verts**

Les fourrages comprennent les herbes pâturées qui ont une valeur nutritionnelle très élevée peu coûteux à la production qui peut être le seul aliment dans la ration destinée à la vache laitière (**Huyghe et al., 2013**).

#### **I.1.2. Ensilages**

L'ensilage est le résultat de la conservation des fourrages par un mécanisme de fermentation anaérobie dans un endroit fermé et étanche, l'ensilage est caractérisé par une teneur en sucre solubles quasi nulle après utilisation de ces derniers par micro-organisme (**Wolter et al., 2013**). Les principaux aliments ensilables sont :

- ❖ L'ensilage de maïs.
- ❖ L'ensilage d'herbe.
- ❖ L'ensilage de pulpes humides et l'ensilage de pulpes sur pressées.
- ❖ Les céréales immatures.

### **I.1.3. Fourrages secs**

Le fourrage sec c'est un aliment ayant une teneur en MS élevée environ 85%, riche en fibre tels les foins et les pailles, issu de l'exploitation des herbes à des stades assez avancés ; c'est-à-dire soit l'épiaison ou floraison pour les foins soit la maturation pour les pailles. Pour le foin, on exploite les feuilles et tiges des graminées et des légumineux, alors que pour la paille on exploite les coproduits des céréales (**Huyghe et al., 2013**). On peut distinguer dans cette classe :

#### **I.1.3.1. Foin**

Après la déshydratation des produits herbacés, on obtient le foin dont la teneur en eau qui passe de 80 à 15%, celui qui contient une teneur élevée en MS est considéré comme un bon foin de l'ordre de 85 à 90% (**Huyghe et al., 2013**).

#### **I.1.3.2. Paille**

La paille est composée par les tiges et le reste des céréales, elle se caractérise par une valeur considérable des fibres nécessaires à la digestion et une teneur très élevée de lignification de la cellulose et hémicelluloses. La paille est utilisée principalement comme une litière pour le bétail grâce à sa faible valeur nutritionnelle ou parfois elle est servie comme un aliment de lest. Cet aliment ne doit pas dépasser le 2 kg/j pour les animaux à haute performance (**Huyghe et al., 2013**).

### **I.1.4. Racines et tubercules, et leurs dérivés**

Ces aliments se caractérisent par une teneur en humidité très élevée ( $\geq 75\%$ ) et une faible matière azotée et fibres celluloses. Les betteraves sont riches en fibres de type pectine, alors que les pommes de terre sont riches en amidon dans le cas des pommes de terre (**Brisson et al., 2007**).

#### **I.1.4.1. Les betteraves et leurs dérivés**

Il existe deux principaux types de betteraves : les betteraves sucrières et les betteraves fourragères. La principale chose qui les différencie est le taux de MS des betteraves :

- ❖ Betteraves fourragères : < 12 % de MS
- ❖ Betteraves demi-fourragères : 12 à 16 % de MS
- ❖ Betteraves demi-sucrières : 16 à 24 % de MS
- ❖ Betteraves sucrières : > 24 % de MS

Mais c'est aussi la teneur en sucre soluble. Les betteraves ont des qualités riches en sucres solubles, mais faible en betteraves fourragères (de l'ordre de 61 et 68 % de la MS, Respectivement), (**Brisson et al., 2007**).

#### **I.1.4.2. Pommes de terre**

Caractérisé par un contenu énergétique élevé (1,16 UFL/kg MS) et ses effets en faveur de l'ingestion, les pommes de terre sont comparables aux betteraves avec une faible teneur en MS (entre 20% et 25%) et teneur en azote, fibres et minéraux. En revanche, l'amidon est abondant, ce qui explique la haute teneur énergétique. La quantité optimale à distribuer est d'environ 2,5 kg de matière sèche de pommes de terre crues/vache et par jour (**Brisson, et al., 2007**).

#### **I.2. Concentrés**

Les aliments concentrés sont tous caractérisés par une teneur élevée en matière sèche et en énergie. Certains d'entre eux sont également riches en protéines, ce qui est le cas des graines Protéagineux et oléagineux (**Demarquilly, et al., 1978**). On distingue 2 familles d'aliments concentrés :

- Les aliments concentrés simples comme les céréales et leurs dérivés, Graines protéagineuses, graines oléagineuses et leurs dérivés, tourteaux, et fruits secs.
- Aliment composé concentré, fabriqué à partir d'un mélange d'aliments concentrés Facile.

Les concentrés, qu'ils soient simples ou multi-concentrés, aident à équilibrer Rations à base d'azote et d'énergie, établies à partir d'aliments. Utilisé dans ce Dans ce contexte, ils sont souvent appelés "correcteurs".

Une fois substantiellement équilibré quantitativement, le concentré dit "de production" peut être ajouté pour soutenir la production de lait. Quantité Par conséquent, le dosage est fonction du niveau de production de lait. Cette production se concentre sont des aliments composés concentrés, disponibles dans le commerce ou produits à la ferme, Distribué individuellement par les éleveurs dans les salles de traite, ou plus communément via un distributeur automatique d'alimentation (DAC). Des concentrés de production existent généralement, la teneur en DM est de 88 % et la teneur en MAT se situe entre 16 % et 18 % nourriture fraîche. L'efficacité des concentrés varie considérablement. Par conséquent, une contribution 0,7 à 1,5 kg de concentré donne 2 litres de lait supplémentaires dans la ration

hiver froid. Au pâturage, l'efficacité est très variable, en moyenne 1 kg concentrez 1,5 litre de lait (**Demarquilly, et al., 1978**).

### **I.2.1. Les aliments concentrés simples**

#### **I.2.1.1. Les céréales et leurs coproduits**

Les céréales sont des aliments secs à faible teneur en azote. Modéré, pauvre en fibres (sauf l'épeautre, qui est une céréale enveloppe) et à haut contenu énergétique. Les céréales sont riches en amidon, celle-ci Représente jusqu'à 65% à 70% MS, selon le grain considéré. (**Demarquilly et al., 1978**).

#### **I.2.1.2. Les graines de protéagineux et d'oléagineux**

Les protéines et les oléagineux sont des aliments concentrés riches en énergie, dans les substances azotées. En Algérie, les graines les plus utilisées dans les rations Les vaches sont l'orge et le maïs (**Demarquilly et al., 1978**).

#### **I.2.1.3. Les tourteaux**

Le tourteau c'est un aliment obtenu en extrayant l'huile des graines. Ce sont donc des sous-produits de l'industrie pétrolière. Ils se caractérisent par deux Critères principaux : 1- son énergie abondante- 2 ses substances azotées abondantes protéine. Elle varie entre <20% et >40% de MS selon le repas considéré. Le tourteau de soja est le tourteau le plus utilisé dans les rations laitières. C'est comme D'un point de vue nutritionnel - L'UFL et l'énergie sont élevées, relativement Bon équilibre AA - complément parfait à l'ensilage de maïs. Le tourteau de soja, le tourteau de colza, le tourteau de tournesol et le tourteau de lin sont les principaux régimes alimentaires pour les vaches laitières (**Demarquilly et al., 1978**).

### **I.2.2. Aliments concentrés composés**

Les concentrés d'aliments composés sont produits à partir d'un mélange de concentrés d'aliments simples. Il s'agit donc d'un mélange contient plusieurs types de concentrés sous forme de poudres, de granulés ou des miettes. Les concentrés d'aliments composés contiennent environ 90 % de MS, ce qui a un contenu énergétique similaire et toujours élevée aux environs de 1 UFL (**Vermorel et al., 1992**).

### **I.3. Mélanges minéraux vitaminés**

Les mélanges commerciaux de vitamines et de minéraux contiennent généralement de grandes quantités d'éléments (calcium, phosphore, sodium...), des oligo-éléments (sélénium, zinc, cuivre...) et des vitamines. La composition des concentrés d'aliments composés varie selon le fabricant et le produit considéré. Les caractéristiques générales des mélanges minéraux-vitamines sont leur teneur Calcium et Phosphore. Nous disons donc "16/8" ou "12/8" pour spécifier un avec 160 g de calcium/kg et 80 g de phosphore/kg ou 120 g de calcium/kg et 80 g Phosphore/kg (**Vermorel et al., 1992**).

#### **I.3.1. Choix du mélange minéral vitaminé**

Les mélanges de minéraux doivent en effet être sélectionnés selon la procédure suivante:

1. Évaluer les besoins de l'animal
2. Calculer l'apport en minéraux et vitamines de la ration
3. Comparez l'apport avec les besoins de l'animal.

En cas d'un ou plusieurs déficits éléments, le mélange de vitamines et de minéraux le plus approprié sera sélectionné (**Vermorel et al., 1992**).

### **I.4. Distribution des rations**

L'objectif principal de la distribution est de fournir une alimentation à tout animal. Il faut répondre au mieux à tous leurs besoins. Par conséquent, ces contributions assurer une croissance et une production optimales tout en protégeant leur santé et stabiliser sa capacité de reproduction, c'est-à-dire la production de lait (**Huyghe et al., 2013**).

#### **I.4.1. Modes de distribution**

La distribution des rations est variée de telle sorte qu'on peut différencier schématiquement types de : Ration complète, Ration semi-complète, Ration supplémentaire Rationnement personnalisé et groupé (**Huyghe et al., 2013**).

##### **1.4.1.1. Distribution du mélange minéral vitaminé**

Les mélanges de vitamines minérales se présentent sous différentes formes variables telles que Poudre, Granulés, Miettes. Si la poudre et les miettes sont distribuées séparément, Plus difficile à manger que les granulés car ils ne se mangent pas facilement bétail. De plus, l'appétence des mélanges de vitamines et de minéraux n'est pas toujours optimale, ce qui Cela peut également limiter la consommation. De plus, il est toujours recommandé de distribuer combinez avec du fourrage et concentrez en même temps. Différentes solutions sont faisables,

par exemple verser le mélange sur le dessus de la table nourrir, puis mélanger brièvement à la fourchette, ou ajouter le mélange à mixer (**Vermorel et al., 1992**).

## **II. Besoins nutritionnels de la vache laitière**

Selon **Chesworth (1992)**, pour leur entretien, leur croissance, et leurs productions, les vaches laitières ont des besoins à satisfaire. Ces besoins indispensables au bon fonctionnement de l'organisme sont représentés par des quantités minimales de principes actifs. Ces besoins doivent couvrir les dépenses de l'animal (les dépenses d'entretien et dépense de production =croissance, engraissement, gestation, lactation) Il s'agit :

- ❖ Des besoins énergétiques.
- ❖ Des besoins protéiques.
- ❖ Des besoins minéraux.
- ❖ Des besoins en vitamines.

### **II.1. Besoins d'entretien**

Les besoins d'entretien sont liés au fonctionnement de l'organisme au repos. Ils correspondent au fonctionnement minimal qui permet à l'animal de se maintenir en vie, sans variation de poids et sans production (**Jarrige, 1988**). Il s'agit d'assurer les fonctions vitales de base (respiration, circulation sanguine, digestion, renouvellement des cellules) qui constituent le métabolisme de base. Ce métabolisme nécessite beaucoup d'eau (2/3 à 3/4 de la masse de l'organisme), mais aussi des glucides, protides, lipides, vitamines et minéraux (**Croisier et Croisier, 2012**).

Le pâturage, qui requiert des déplacements de la part de l'animal, génère des dépenses plus élevée de la stabulation libre encore entravée, et correspond donc à des besoins plus élevée (**Cuvelier et al., 2014 ; Boval et al., 2015**).

Les besoins d'entretien d'un animal dépendent essentiellement des trois facteurs (**Croisier et Croisier, 2012**) :

- Le poids vif de l'animal ;
- Les déplacements éventuellement nécessaires pour la prise d'aliments ;
- La thermorégulation ;

### II.1.1. Besoins énergétiques d'entretien

Les besoins énergétiques d'entretien comprennent :

- ❖ Les besoins dus au métabolisme basal, qui dépend de l'espèce, de l'âge, du sexe et surtout du poids.
- ❖ Les besoins dus aux dépenses de fonctionnement qui dépendent des facteurs climatiques, de l'activité et de l'alimentation.

D'après **Chesworth (1992)**, les besoins énergétiques d'entretien par unité de poids diminuent avec l'âge et le poids vif.

### II.1.2. Besoins protéiques d'entretien

Contrairement aux autres mammifères, les ruminants sont capables d'utiliser l'azote sous différentes formes : les plus classiques sont la forme protidique : protéines, polypeptides et acides aminés libres, ainsi que les bases azotées des acides nucléiques. Mais l'azote non protéiques (amine, urée...) et les formes azotées simples sont également valorisables grâce à la flore microbienne du rumen : les bactéries sont capables de fixer l'azote pour le transformer en protéines bactériennes, qui seront ensuite digérées dans la caillette, et absorbées sous forme d'acides aminés ou de courts peptides. Les protéines sont indispensables pour l'organisme, en tant que constituants essentiels aussi bien au niveau structural (muscles, trame du tissu osseux...) que fonctionnel (enzymes, certaines hormones...), (**Cauty et Perreau, 2003**).

Ils sont estimés chez les bovins à : 3g de MAD poids vif, soit 188g pour les besoins protéiques d'entretien sont assez élevés ; ils constituent un facteur limitant pour l'entretien. Mis à part l'apport protéique par la ration, les ruminants ont la capacité de recycler leur azote endogène par les micro-organismes du rumen (**Jarrige et al., 1995**).

Variation des besoins alimentaires en fonction du stade physiologique :

Les besoins de production des animaux varient en fonction de leur stade physiologique. On ne prend en compte, dans le calcul des besoins journaliers, que ceux qui concernent l'animal à ce moment-là de sa vie. Ils s'ajoutent aux besoins d'entretien dans le calcul des besoins des animaux (**Croisier et Croisier, 2012**).

## II.2. Besoins de gestation

La gestation de la vache dure au total 9 mois. Mais pendant toute cette durée, le fœtus ne grandit pas à la même vitesse : la plus grande partie de sa croissance a lieu au cours des trois derniers mois (du jour 190 au jour 282). Le poids du futur veau passe alors en moyenne de 4 kg (poids qu'il a mis 6 mois à atteindre) à environ 40 kg (**Raillet, 1895**). Selon **Sérieys**

(1997), pendant cette période, les dépenses augmentent plus vite que le poids du fœtus du fait que celui-ci s'enrichit en protéines, en graisses et minéraux au cours de son développement, elles deviennent sensibles à partir du (7ème) mois de gestation, elles augmentent avec le poids du veau à la naissance. Au (9ème) mois elles représentent presque la moitié des besoins d'entretien de la vache.

### **II.2.1. Besoins énergétiques de gestation**

Pendant la gestation, aux dépenses de la mère s'ajoutent celles dues au développement du fœtus, en particulier en fin de gestation. L'augmentation de ces besoins selon **Hunter et Siebert (1980)**, se traduit, à valeur énergétique égale, par l'augmentation de la quantité de MS ingérée. Les besoins énergétiques de gestation augmentent suivant le développement du fœtus. Ainsi en début de gestation, les besoins énergétiques sont négligeables. Un apport énergétique supplémentaires n'est nécessaire qu'à la fin de la seconde moitié de la gestation et plus important à la proche de la parturition. On note aussi une augmentation des besoins d'entretien de la mère à partir du milieu de la gestation.

Ces besoins énergétiques supplémentaires augmentent dans une proportion de 10% des besoins d'entretien vers le milieu de la gestation à 40 à 50% des besoins d'entretien le dernier mois de la gestation. La ration de la vache est augmentée jusqu'à 0.3UF/100kg de poids vif pendant le dernier mois de la gestation. Le poids du jeune à la naissance ainsi que son avenir dépendent de l'alimentation de la mère au cours de la gestation. Il faut donc un suivi particulier et soigné de la femelle gestante (**Dilmi et Arib, 2006**).

### **II.2.2. Besoins protéiques de gestation**

Au cours de la gestation il y a une quantité importante de protéines qui intervient dans la constitution et la croissance du fœtus. Les besoins azotés de la gestation sont donc plus importants en fin de gestation qu'au début. On considère que les besoins azotés de gestation augmentent dans une proportion de 17 à 40% des besoins protéiques d'entretien.

Lors de la première gestation, il ne faut pas perdre de vue que l'animal est généralement toujours en croissance contrairement à un animal qui est à son 3ème ou 4ème vêlage par exemple aux besoins protéiques de gestation s'ajoutent ceux de la croissance (**Dilmi et Arib, 2006**).

### II.3. Besoins de lactation

Les besoins de lactation, qui interviennent pour une part non négligeable des besoins totaux, sont naturellement à exclure de la ration des vaches en période sèche qui, par définition, sont improductives. Tout comme les besoins de lactation, les besoins de croissance ne figurent traditionnellement pas dans les plans de rationnement, bien que la croissance des vaches laitières se poursuive pendant plusieurs lactations. Ils ne sont, en fait, importants que chez les primipares, notamment en cas de vêlage à 2 ans (**Sérieys, 2015**).

Les dépenses de lactation sont fonction des quantités d'eau, énergie, protéines, de minéraux exportées dans le lait, donc, en tout premier lieu, des quantités de lait produites. Elles incluent aussi les dépenses de fonctionnement de la mamelle, notamment en énergie (**Jarrige, 1988**).

Le métabolisme est orienté pour répondre à ses demandes, comme dans le cas du fœtus mais à un niveau beaucoup plus élevé. La mamelle, elle aussi, exige du glucose, mais pour fabriquer le lactose, à une période où la femelle est obligée de mobiliser ses réserves graisseuses. La sécrétion lactée exige aussi des proportions de protéines, de P, de Ca, par rapport à l'énergie plus élevée que les dépenses d'entretien et des proportions plus grandes d'acides aminés indispensables (**Jarrige, 1988**).

Ces besoins de production augmentent très rapidement dans les semaines qui suivent le vêlage. Compte tenu des taux butyreux (TB), taux protéiques (TP) et des concentrations en minéraux très élevés au tout début de lactation, les besoins maximums sont atteints dès la première semaine après le vêlage pour les PDI et le calcium, et après 2 à 3 semaines pour les UFL, c'est-à-dire bien avant le pic de production qui intervient habituellement vers la 5<sup>ème</sup> semaine chez les multipares (**Sérieys, 2015**).

#### II.3.1. Besoins énergétiques de lactation

Les besoins énergétiques de lactation dépendent de la quantité de lait produite ainsi que de sa composition. Ces deux facteurs sont fonction :

- ❖ De l'individu, de l'espèce animale, de la race ainsi que de la sélection.
- ❖ De l'âge, du nombre de vêlage, du stade de lactation, de l'alimentation et de l'état de santé pour un même animal.

Donc les variations des besoins énergétiques de lactation d'un animal à un autre peuvent être très importantes, ainsi que durant les périodes de lactation pour un même animal. Les besoins énergétiques des vaches laitières sont de l'ordre de 0.4UF/kg de lait à 4% de matières grasses. Pour de lentes productions, les besoins énergétiques sont très importants.

Il s'avère alors nécessaire de mettre à la disposition des animaux des aliments de valeur énergétique très élevée (**Dilmi et Arib, 2006**).

### **II.3.2. Besoins protéiques de lactation**

Les besoins protéiques de lactation sont eux aussi importants. Les besoins azotes de lactation varient principalement suivant la quantité de lait produite ; d'autres facteurs sont : l'espèce, la composition du lait et les autres facteurs secondaires dont dépend la production du lait. Ils sont exprimés en grammes de MAD par kg de lait par jour. Ils sont de 60g par litre de lait pour la vache (**Dilmi et Arib, 2006**).

### **II.4. Besoins de croissance**

La croissance de la vache laitière se poursuit pendant plusieurs lactations, elle n'est importante que chez les primipares, notamment en cas de vêlage à 2 ans (environ 60kg par an soit 200g/j) et chez les multipares la croissance est plus réduite et les besoins correspondants sont considérablement négligeables (**Sérieys, 1997**). D'après **Jarrige (1988)**, les primipares de 2 ans doivent bénéficier d'un apport supplémentaire de 1 UFL et de 120g de PDI environ par rapport aux primipares de 3ans.

Les réserves corporelles mobilisées par les femelles en lactation pour la couverture des dépenses énergétiques quand l'apport est inférieur à la dépense doivent être reconstitués pour aborder un nouveau cycle de production (**Wolter, 1994**).

*Chapitre II*  
*Métabolisme protéique chez la*  
*vache laitière*

Les protéines sont des polypeptides formées d'une succession d'AA d'ordre bien déterminé, liés entre eux par des liaisons peptidiques, leurs fonctions principales sont de fournir les AA nécessaires pour les différentes fonctions biologiques (maintien, la croissance, la lactation et la reproduction pour les ruminants) (**Jouany et al., 1994**). Le rumen est le lieu de la fermentation grâce à les micro-organismes qui le contiennent (bactéries, de protozoaires et de mycètes), les ruminants sont capables d'utiliser de l'azote non protéique pour synthétiser des protéines et même pouvant dégrader la paroi cellulaire des plantes, (**Jouany, 1994 ; Damry, 2009 ; Gebeyehu et Mekasha, 2013**).

Une partie des protéines ingérées est dégradée en peptides et en acides aminés dû aux sécrétions des enzymes protéolytiques, ces derniers vont être désaminés en ammoniac et en AGV (**Berthiaume et al., 2001; Broderick et al., 2008**).

Le processus principal par lequel les ruminants acquièrent des protéines passe par leur relation symbiotique avec des micro-organismes dans le rumen. La protéine dégradée du rumen (RDP) est dégradée en présence d'une énergie métabolisable (ME) suffisante et utilisée par la population microbienne conduisant à la multiplication. Ces micro-organismes sont ensuite digérés dans la caillette pour récupérer les acides aminés microbiens qui sont absorbés dans l'intestin grêle pour être utilisés par l'hôte.

### **I. Besoin en acides aminés**

Il existe dans la nature 20 alpha-AA qui servent pour la synthèse de toutes les protéines selon une structure bien déterminée, les AA se divisent en deux catégories : les AA essentiels et les AA non essentiels. Les ruminants sont incapables de fabriquer les AA essentiels tels (AAE : histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine) sauf à partir de métabolites provenant de ces AA mêmes, alors qu'il possède les voies métaboliques de synthèse pour les AA non-essentiels (AANE : alanine, aspartate, asparagine, cystéine, glutamate, glutamine, glycine, proline, sérine, tyrosine).

L'animal est capable de synthétiser l'arginine mais en quantité très faible, de cette raison il est classé comme un AA semi-essentiel puisque.

La synthèse protéique totale chez la vache est de l'ordre de 3,5 à 5 kg/j (**Thivierge et al., 2002**). Selon **Lobley (2002)**, il y a une corrélation très importante entre le tissu gastro-intestinal à la synthèse corporelle de protéines (32 à 45% chez la vache laitière), suivi par le tissu mammaire à la hauteur de 35 à 45% et enfin la synthèse protéique qui représente 15 à 20% chez un animal en croissance au niveau musculaire.

L'augmentant de l'apport en protéines métabolisables (**Lapierre et al., 2002**), ou la perfusion de caséine au niveau duodéal (**Vanhatalo et al., 2003**). Abouté a une augmentation de la synthèse des protéines augmente 17%.

D'après les études de **Berthiaume et al., (2001)**, il y a une différence entre le taux de disparition des AA dans l'intestin grêle ;

- ❖ AANE était de 65,2 %
- ❖ AAE était de 66,5 %

Selon **Lobley et Lapierre (2003)**, la lysine, la méthionine et la leucine sont oxydées Par le tube digestif mais pas la phénylalanine ni la thréonine, le lieu d'absorption des AA est l'intestin. Sans l'intestin on trouve des AA qui sont proviennent principalement de (**Rulquin et al., 2001**) :

- ❖ 60% des bactéries de rumen ;
- ❖ 15% des protéines alimentaires qui ont résisté à la dégradation ruminale ;
- ❖ 15-25% des sécrétions endogènes qui sont présente dans l'intestin, (les sécrétions endogènes seront réabsorbées en grande parties dans l'intestin) ;

Le NRC (**2001**) déposé des recommandations aux apports d'AA nécessaires pour maximiser la synthèse du lait. Seulement deux AA, la lysine et la méthionine, sont présentés. Ces recommandations sont exprimées en pourcentage de l'apport total en protéines métabolisables (disponibles) à la vache: il est recommandé que la lysine représente 7,2 % et la méthionine 2,4 % des protéines métabolisables. Suite à des études où les AA ont été perfusés de façon individuelle et par **Doepel et al. (2002)** recommandations pour les autres AA essentiels ont été proposées par (**Rulquin et al. 2001**), suite à une revue d'études où les AA ont été perfusés en groupe (**Tableau 1**).

**Tableau 1.** Besoins en acides aminés exprimés en pourcentage de l'apport en protéine digéré chez la vache laitière. Adapté de **Rulquin et al., (2001)** et **Doepel et al., (2002)**.

Acide aminé	Rulquin et al., 2001 <sup>1</sup>	Doepel et al., 2004 <sup>2</sup>
<b>Histidine</b>	3,2	2,3
<b>Isoleucine</b>	5,0	5,3
<b>Leucine</b>	8,8	9,6
<b>Lysine</b>	-	7,3
<b>Méthionine</b>	-	2,2
<b>Phénylalanine</b>	5,0	5,4
<b>Thréonine</b>	4,0	5,0
<b>Valine</b>	5,3	6,1

<sup>1</sup> Composition (%) de la protéine digestible

<sup>2</sup> Composition (%) de la protéine métabolisable

## II. Mécanisme de la dégradation ruminale des protéines

### II.1. Dégradation ruminale des protéines

Les protéines d'origine alimentaire sont dégradées par les micro-organismes du rumen en premier lieu en peptides et en AA par protéolyse (**Nugent et Mangan, 1981**), après en ammoniac (NH<sub>3</sub>) ainsi qu'en chaînes carbonées par la réaction de désamination (**Fonty et al., 1995**). Ces dernières sont ensuite fermentées, ce qui résulte la formation d'AGV (**Wallace et Cotta., 1988**).

Selon **Satter et Roffler (1975)**, Il y a d'autres voies qui contribuent à la formation de l'ammoniac dans le rumen: l'azote non protéique (ANP) des aliments et l'urée recyclée dans le rumen par l'intermédiaire de la salive ou la paroi du rumen. Il y a plusieurs recherches sur l'alimentation azotée (**Journet et al., 1983 ; Roffler et al., 1986 ; Allen, 2000**), qui montrent qu'il y a un effet positif entre l'ingestion et les apports azotés.

### II.2. Vitesse de dégradation

La vitesse d'hydrolyse des protéines varie en fonction des caractéristiques physico-chimiques des protéines alimentaires (solubilité, structure, accessibilité) (**Vérité et Peyraud, 1988 ; Jouany et al., 1995**).

Les protéines ayant une conformation tridimensionnelle rigide eurent une faible affinité des enzymes microbiennes (due à la présence de ponts disulfures), ce qui se traduit

par une faible dérivabilité (**Debroas et al., 1998**). Le temps de dégradation ruminale varie selon la forme et le type d'aliments sous laquelle ils se présentent.

**Tableau 2.** Vitesse de dégradation des protides dans le rumen **Boye (2014)**.

Protides	Vitesse de dégradation
Azote non protéique (urée)	Ultra rapide
Protéines solubles rapidement dégradables (ensilages/tourteaux colza, soya)	0,5 à 4,5 %/min
Protéines insolubles progressivement dégradables (drêches)	2 à 30 %/h
Azote undegradable et indigestible (Blocage par lignine, tannage, formol)	0

### II.3. Synthèse microbienne

**Jouany et al., (1992)** ont montré que plus de 75 % de l'activité protéolytique totale est associée à la phase solide du rumen. La flore microbienne utilise l'ammoniac pour assurer sa croissance normale. La transformation d'ammoniac (si la quantité est suffisante dans le rumen) en protéine bactérienne. L'importance de la dégradation des matières azotées dépend de l'intensité de l'activité microbienne et la durée de leur séjour dans le rumen (**Vérité et Peyraud, 1988**).

Les microorganismes du rumen sont capables de synthétiser leurs propres protéines, cette dernière dépendant de leur taux de croissance leur densité et du rendement avec lequel ils utilisent les substrats l'énergie dont ils disposent (NH<sub>3</sub> et les chaînes carbonées).

Entre la dégradation d'une protéine et la synthèse microbienne peut y avoir une durée de 8 à 9 heures (**Sauvant et Van Milgen, 1995**). Les protéines d'origine microbienne couvrent 60 à 70 % de l'apport protéique des ruminants (**Demeyer et Fievez, 2000**).

### III. Mécanisme de la digestion intestinale des protéines

L'intestin grêle est le deuxième organe important pour le processus de la digestion protéique, le déplacement de chyme sera rapide dans le duodénum et le jéjunum. Par contre, l'iléon possède un temps de rétention supérieur, à ce niveau pH devient moins acide ce qui augmente l'activité des protéases.

### III.1. Mécanisme de digestion

La digestion protéique débute dans l'estomac par la pepsine (enzyme gastrique) qui est activé par l'acide chlorhydrique à un pH acide (1 à 2) (**Ferran, 2010**), la pepsine découpe les protéines en polypeptides c'est pour cela est considérée comme un endopeptidase.

En arrivant dans l'intestin, la digestion intestinale des protéines alimentaires fait intervenir des protéases d'origine pancréatique et des peptidases intestinales. Les produits de la digestion sont constitués d'AA libres et de peptides, Ces derniers vont être transportés dans l'entérocyte où ils vont subir une hydrolyse. L'intestin prélève des AA à la fois dans la lumière intestinale et dans le sang artériel afin d'assurer la synthèse des protéines, Cet organe renouvelle plus de 50 % de ses protéines par jour et la synthèse de protéines bien particulières comme les mucines engendre des besoins élevés en certains AA comme la thréonine (**Lefloc'h et Sève, 2000**).

Les protéases pancréatiques sont subdivisées en endopeptidases et en exopeptidases (**Roze et Levy, 2005**). Les principales endopeptidases sont la trypsine qui est l'enzyme la plus importante du suc gastrique car elle est l'origine de l'activation des autres zymogènes, de la chymotrypsine et des élastases. Ces enzymes hydrolysent les protéines en clivant les liaisons peptidiques situées au centre de la protéine. Les exopeptidases exercent leur activité protéolytique aux extrémités de la molécule, libérant les AA situés en bout de chaîne. Il s'agit des carboxypeptidases A et B (**Lefloc'h et Sève, 2000**).

### III.2. Mécanismes d'absorption

Les AA sont absorbés plus rapidement que ceux non essentiels, la méthionine étant l'un des AA les plus rapidement absorbés. Les composés alimentaires non absorbés à la fin de l'intestin grêle représentent la fraction alimentaire indigérée. Cette fraction conduit au calcul de la digestibilité réelle de l'azote alimentaire. Ces composés transitent vers le caecum puis le côlon où une partie est fermentée par la flore endogène. Ceci permet de calculer la digestibilité vraie (**Low, 1982**), qui fournit des valeurs additives pour les apports d'azote et d'AA provenant de diverses sources de protéines introduites en mélange dans un aliment (**Sève et Henry, 1996**).

**Tableau 3.** Principales enzymes intervenant dans la digestion intestinale des protéines et des peptides. AA : acides aminés (**floc'h et Sève, 2000**).

Enzyme	Origine	Catégorie de Peptidases	AA impliqués dans la liaison peptidique où s'exerce l'action de l'enzyme
<b>Trypsine</b>	Pancréas	Endopeptidase	Arg/Lys/AA basiques
<b>Chymotrypsine A</b>	Pancréas	Endopeptidase	Tyr/Phe/Trp
<b>Chymotrypsine B</b>	Pancréas	Endopeptidase	Tyr/Phe/Trp + Leu
<b>Chymotrypsine C</b>	Pancréas	Endopeptidase	Tyr/Phe/Trp + Leu + Gln/Met
<b>Elastase I</b>	Pancréas	Endopeptidase	Ala/Gly
<b>Elastase II</b>	Pancréas	Endopeptidase	Tyr/Phe/Trp
<b>Carboxypeptidase</b>	Pancréas	Exopeptidase	AA situés à l'extrémité carboxylique
<b>Aminopeptidase</b>	Bordure en brosse intestinale	Peptidase	Neutre : Arg/Leu/Met Acide : Glu/Asp
<b>Dipeptidyl peptidase</b>	Bordure en brosse intestinale	Peptidase	Pro
<b>Di et tripeptidase</b>	Cytoplasme des entérocytes	Di et tripeptidase	Pro

#### IV. De l'azote à l'urée

Le sous-produit contenant de l'azote (N<sub>2</sub>) de la dégradation et de la fermentation des protéines du rumen est l'ammoniac, l'ammoniac est rapidement absorbé dans les vaisseaux où il est transporté vers le foie pour être converti en urée. L'urée est facilement excrétée par le corps sous forme de déchet dans l'urine et les fèces (**Andrews et al., 2004**).

Les ruminants sont une particularité efficace de recyclage de l'azote, Il s'agit d'un processus par lequel 40 à 80 % de l'urée synthétisée dans le foie est renvoyée dans le rumen (principalement via l'excrétion salivaire) pour être réutilisée par la population microbienne pour la croissance et la multiplication et fournira ensuite au ruminant d'autres acides aminés (**Lapierre et Lobley, 2001**).

L'urée a une teneur élevée en N<sub>2</sub> de 466 g/kg, ce qui équivaut à 2913 g/kg de protéines brutes (PC) accessibles par les ruminants comme source de RDP (protéines rapidement disponible) et en tant qu'un additif alimentaire commercial très populaire (**Butler, 1998**).

En raison du fait que l'urée est très soluble dans l'eau, et capable de traverser les membranes facilement et peut être mesuré dans tous les fluides corporels tels que le plasma, le sérum, le sang total, le lait, le liquide folliculaire ou les sécrétions utérines (**Butler, 1998; Kohn et al., 2005**).

**Hammon et al., (2005)** ont constaté qu'à mesure que les niveaux d'azote uréique plasmatique (AEP) augmentaient, la concentration d'ammoniac et d'urée augmentait également dans le liquide folliculaire et utérin. L'exception était qu'au cours de l'œstrus, il n'y avait pas d'augmentation significative de la concentration d'ammoniac dans le liquide utérin. L'azote uréique sanguin (BUN) reflète directement l'équilibre entre RDP et ME qui arrive dans le rumen (**Andrews et al., 2004**). L'utilisation de l'urée par le ruminant est initiée par des hydrolyses microbiennes via l'enzyme uréase. Seules des bactéries spécifiques contiennent cette enzyme (par exemple *Succinivibrio dextrinosolvens*, *Prevotella ruminicola* et *Ruminococcus bromii*).

*Chapitre III*  
*L'effet de l'urée sur la*  
*reproduction*

Un déséquilibre dans l'alimentation peut conduire à une réduction de la fertilité (**Elrod et Butler, 1993; Butler et al., 1996**), précisément l'augmentation de la concentration protéique dans l'alimentation qui entraînant une augmentation de l'urée, ce dernier a un effet néfaste sur la fertilité (**Elrod B. 1993 ; Ferguson et al., 1993 ; McCormick et al., 1999 ; Rhoads et al., 2004**). Ce qui été confirmé par (**Jordan et Swanson, 1979; Kaim et al., 1983; Blanchard et al., 1990; Canfield et al., 1990; Ferguson et al., Butler et al., 1996**), dans leurs études ; Les apports élevés en protéines alimentaires entraînant une forte concentrations d'azote uréique dans le plasma et le lait a été associée à une diminution de la fertilité chez les vaches laitières bovins.

La concentration de BUN est directement reflétée dans la concentration d'urée utérine et peut influencer le microenvironnement de l'appareil de reproducteur en modifiant le pH et la composition ionique.

### **I. Effet l'hyperazotémie sur les ovaires**

Selon (**Canfield et al., 1990 ; Carroll et al., 1988 ; Jordan et swanson ,1979 ; Kaim et al., 1983**), un régime riche en protéines pour les vaches en lactation après la parturition a eu des effets incohérents sur la réinitiation de l'activité ovarienne. Dans leurs recherches ils ont rapporté que les régimes avec 19 à 21% de CP ne retardent pas l'intervalle post-partum jusqu'à la première ovulation ou l'œstrus. Dans l'ensemble, CP élevé dans le régime alimentaire ne semble pas avoir un fort impact sur la réinitiation de l'activité ovarienne dans la période de post-partum.

Chez les vaches non allaitantes le développement folliculaire n'a pas été perturbé par les régimes riches en PC (**Gracia et al., 1994**), mais, jusqu'à présent, aucun effet pendant le développement des follicules ovariens en post-partum chez les vaches en lactation a été signalé (**Figure 01**).

### **II. Effet de l'hyperazotémie sur les hormones ovariennes**

Une protéine complémentaire alimentaire élevée réduit les concentrations plasmatiques de progestérone chez les vaches en lactation (**Blauwiel et j. Reeves, 1986 ; Jordan et Swanson, 1979 ; Sonderman, et al., Larson, 1989 ; Staples et A. Risco ,1993**), mais n'affecte pas les concentrations de progestérone chez les vaches non allaitantes (**Blauwiel et J. Reeves ,1986 ; Garcia-B et Staples, 1994**), ou les génisses (**Elrod et Butler, 1993**).

Lorsque les vaches reçoivent un excès de fractions protéiques alimentaires au début de la lactation, le bilan énergétique négatif est exacerbé en raison de la dépense énergétique de la détoxification de l'ammoniac s'échappant le rumen (**Staples et A. Risco ,1993**), mais des modifications de la clairance métabolique de taux de progestérone doit également être pris en compte. Par conséquent, les effets délétères d'une énergie négative d'un équilibre plus extrême pourrait expliquer la baisse concentrations plasmatiques de progestérone observées dans des études avec des vaches post-partum nourries avec une CP élevée (**Jordan et Swanson, 1979 ; Sonderman et Larson, 1989 ; Staples et Garcia-Bojalil, 1993**). Les concentrations plasmatiques de progestérone réduites au début de la période de reproduction apparaît être une composante probable de la réduction de fertilité associée à une alimentation riche en protéines alimentaires.

### **III. Effet de l'hyperazotémie le milieu utérin**

La faible fertilité des vaches laitières à forte production reflète les effets combinés d'un environnement utérin dépendant de la progestérone, mais a été rendue sous-optimal par les effets antécédents de BEN et problèmes d'équilibre ou de santé post-partum et a été encore compromis par les effets de l'urée résultant de l'apport de protéines alimentaires élevées (**Butler, 1998**). Un excès de protéines alimentaires altère la composition ionique du liquide utérin pendant la phase lutéale ce qui diminue la fertilité (**Jordan et Swanson, 1979**).

Les concentrations d'urée sanguine, plutôt que l'ammoniac, semble être lié à des effets néfastes sur la fertilité comme les changements dynamiques du pH utérin avec a et preuve in vitro que l'urée modifie le pH et la production de prostaglandine dans des cultures de cellules endométriales. La réussite de développement embryonnaire au début de grossesse aussi dépend de la nature de l'environnement utérin (**McRae, 1984**). Les effets de signalisation locaux des sécrétions du blastocyste modifient encore le milieu et induisent la sécrétion de protéines spécifiques par l'épithélium d'utérus (**McRae, 1984**).

### **IV. Effet de l'hyperazotémie sur le Ph utérin**

Des rapports démontrent qu'un excès de protéines alimentaires modifie considérablement la composition ionique du liquide utérin pendant la phase lutéale, ce qui finit par diminuer la fertilité (**Jordan et Swanson, 1979**). L'azote uréique dans le plasma et/ou le lait a été surveillé et associé à des effets sur la physiologie ovarienne ou utérine ; il a été rapporté que des concentrations supérieures à 19 mg/dL altéraient le pH utérin (**Figure 01**) et

par conséquent une diminution de fertilité (**Butler, 1998, 2000 ; Ferguson et Chalupa, 1989**). Cependant, les observations et les études indiquent que les régimes riches en protéines ont généré des concentrations plasmatiques élevées d'azote uréique mais n'ont aucun effet sur le pH utérin pendant la phase lutéale du cycle œstral. En revanche, **Elrod et Butler (1993)**, ont rapporté qu'un apport alimentaire excessif en protéines chez les vaches et les génisses multipares entraînait une augmentation des concentrations plasmatiques d'azote uréique (~23,6 et ~20,75 mg/dl, respectivement) et une diminution du pH utérin (~6,79 et ~6,9, respectivement) au jour 7 par rapport aux animaux nourris avec un régime standard. Pendant l'œstrus normal, le pH utérin a été observé pour diminuer de 7,0 à 6,7, et après l'œstrus, le pH utérin revient à environ 7,0 (**Perry et Perry, 2008a, b**). Étant donné que l'embryon bovin précoce ne peut pas s'adapter aux altérations de l'environnement utérin, des changements dans l'environnement utérin tels que des changements dans les concentrations d'ions (pH) peuvent être défavorables au développement et à la survie de l'embryon, entraînant des effets négatifs sur la fertilité (**Barnes, 2000 Wiebold, 1988**).

**Elrod et al., (1993)** ont déterminé que le pH utérin était inversement lié aux niveaux circulants d'urée et que la diminution du pH utérin était associée à une diminution de la fertilité.

#### V. Effets de l'hyperazotémie sur le développement embryonnaire

Selon **Blanchard et Chalupa (1990)**, les vaches en lactation qui ont reçu un excès de l'aliment protéique peuvent avoir un mauvais développement embryonnaire et une dégénérescence. L'augmentation des pertes des embryons ont été signalées pour les génisses nourries avec un régime hypocalorique contenant de grandes quantités de protéine dégradable (**Elrod, et Butler, 1993**). De plus, le BEN au début de la période post-partum peut exercer des effets résiduels pendant les 40 à 60 jours nécessaires au développement folliculaire qui pourrait altérer la santé des follicules préovulatoires plus tard au cours de la période de reproduction (**Lucy et Staples, 1992**). Par conséquent, les effets combinés de l'excès d'aliment protéique et de l'état énergétique pourrait expliquer pourquoi la qualité embryonnaire des vaches en lactation a été compromise (**Blanchard et Chalupa, 1990**).

**Bishonga et al., (1996)**, ont suggéré que des concentrations circulantes élevées d'urée et d'ammoniac résultant de l'alimentation une fraction protéique alimentaire élevée a exercé un effet néfaste sur le développement précoce d'embryon (j 4 à 11).

## VI. Effet de l'hyperazotémie sur la capacité et le développement des ovocytes après la fécondation *in vitro*

Dans des études antérieures, il a été décrit que l'ovocyte folliculaire est modulés par leur microenvironnement nutritionnel (Nolan *et al.*, 1998 ; Iwata *et al.*, 2006), qui est, à son tour, influencé par l'apport alimentaire en azote protéique (Hammon *et coll.* 1997). Comme le liquide folliculaire est une transsudation du sérum de sang, complété par certaines hormones produites par les cellules de la granulosa (Edwards 1974), une forte corrélation entre les concentrations d'urée dans le sang et le liquide folliculaire a été trouvé chez des vaches laitières (Sinclair *et al.*, 2000; Hammon *et coll.* 2005), Ces concentrations d'urée sur le follicule d'ovocyte enfermé, lorsqu'il est élevé, peut entraîner une réduction de la capacité de développement des ovocytes (Iwata *et al.*, 2006).

En fait, dans l'étude de (Santos *et al.*, 2009) les taux de clivage des ovocytes ont été affectés par des niveaux élevés de AEP ( $p < 0,001$ ) , en accord avec les recherches précédentes (Sinclair *et al.*, 2000). Au cours de la période de l'antral tardif de développement folliculaire, l'ovocyte subit la première étape de maturation nucléaire et cytoplasmique en préparation pour l'ovulation et la fécondation (Driancourt *et Thuel*, 1998). Ces processus sont sensibles aux niveaux et les activités de diverses protéines largement répandues dans l'environnement folliculaire externe (Jordan *et al.*, 1983).

Par conséquent, une modification significative de concentrations d'urée sur l'environnement folliculaire à ce stade peut conduire à une perturbation des mécanismes clés à mesure que la synthèse et la phosphorylation des protéines impliquées dans la méiose et l'activation des ovocytes qui a compromis la méiose correcte de maturation. Il peut également modifier le pH intracellulaire, créant des gradients électrochimiques qui pourraient interférer avec activation des ovocytes lors de la fécondation (Ben-Yosef *et Shalgi* 1998), ou altérer l'activité enzymatique responsable pour contrôler les voies clés de l'énergie et des protéines métabolisable et la biosynthèse des ribonucléotides (Schneider *et coll.* 1996), voire modifier la structure physique de la zone pellucide, qui joue un rôle important dans le développement embryonnaire après FIV (Santos *et al.*, 2008).

Rhoads *et al.*, (2006), ont observé que des concentrations élevées de AEP nuire aux ovocytes ou aux embryons de vaches laitières avant le 7e jour de gestation. Autres études ont signalé une réduction des performances de reproduction lorsque les niveaux de AEP étaient inférieurs à 190 mg/l (Folman *et coll.* 1981; Kaïm *et al.*, 1983; Iwata *et al.*, 2006).

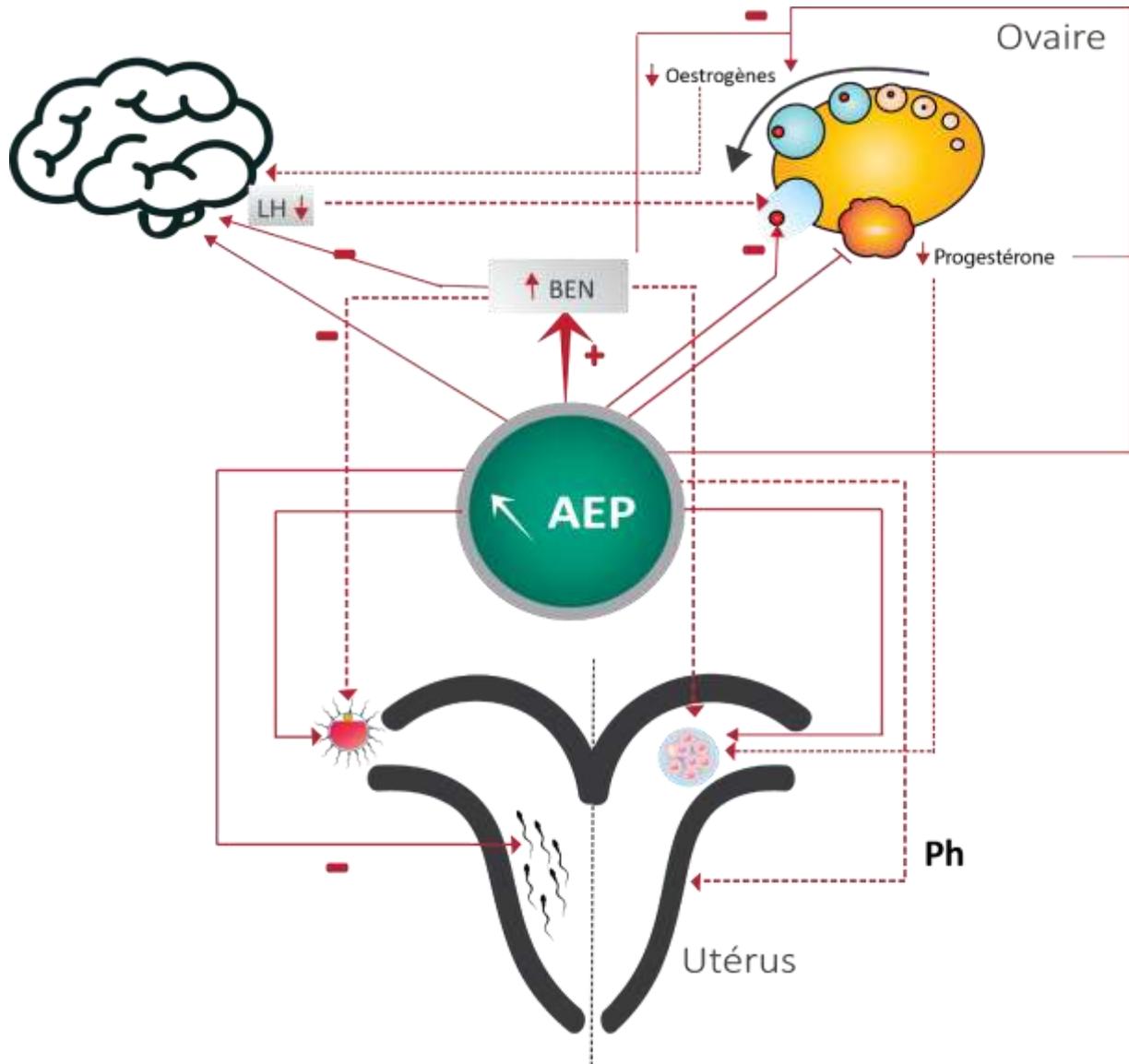
**VII. Effet de l'hyperazotémie sur les spermatozoïdes**

Selon la dernière étude faite par (**Maharajan, 2021**), il a été montré que l'urée a des effets indésirables sur le succès de reproduction et pourrait également être médié par le sperme, cependant les effets d'une concentration élevée d'urée sur la fonction des spermatozoïdes aideraient à établir un lien mécaniste entre une alimentation riche en protéines et l'infertilité chez la vache laitière. La concentration d'urée plasmatique séminale a montré une corrélation négative significative avec la motilité des spermatozoïdes.

Les concentrations d'urée supra physiologiques ont affecté l'intégrité de la membrane des spermatozoïdes, le potentiel de la membrane mitochondriale et l'intégrité de l'acrosome. De même, la capacité du sperme bovin à pénétrer la glaire cervicale était affectée lorsqu'il était incubé dans un milieu contenant de l'urée.

**VIII. Effet sur la santé utérine**

Sachant que l'urée affecte négativement la fertilité des bovins aussi ils peuvent avoir des effets indésirables sur l'état de santé chez eux, et parmi ces problèmes on trouve les endométrites. Plusieurs problèmes médicaux peuvent allonger la période nécessaire à l'involution utérine. Parmi ceux-ci se trouve l'endométrite. L'endométrite se définit de façon générale comme étant la présence d'inflammation excessive localisée au niveau de l'endomètre après une certaine période de temps après le vêlage (**LeBlanc et al., 2002; Sheldon et al., 2006**).



**Figure 01** : Schéma récapitulatif de l'effet de AEP sur les performances fonctionnelles et cellulaires de la reproduction chez la vache (**Photo personnelle**).

*Partie 02 :*  
*La partie expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériels et méthodes*

## 1. Contexte du travail

L'alimentation protéique joue un rôle important dans la reproduction de la vache laitière. Une augmentation des protéines alimentaires, une dégradation accrue des protéines alimentaires et une urée élevée dans le sang ou le lait ont été associées à une diminution de la conception chez la vache. Bien que des études ont relié cette association à un effet négatif des taux élevés en urémie sur la qualité ovocytaire, folliculaire, corps jaune et sur le développement embryonnaire, peu d'études ont étudié un éventuel effet négatif des taux élevés d'urémie sur la mobilité spermatique une fois les spermatozoïdes se trouvent dans le tractus génital femelle. Dans ce contexte notre approche est d'étudier in-vitro l'effet des taux élevés en urée sur la mobilité et la vitalité spermatique. La partie expérimentale a été réalisée dans la période du 02 février au 02 mai 2022 dans le Laboratoire de Biotechnologie liée à la Reproduction Animale (LBRA), Institut des Sciences Vétérinaire, Université de Saad Dahleb-Blida1.

## 2. Matériel

### 2.1. Matériel biologique

Des paillettes de sperme commercial congelées au Centre National d'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique (CNIAAG, Birtouta, Algérie) ont été utilisées dans l'étude actuelle (**Figure 02**), Le sperme a été congelé à partir d'un taureau de races Montbéliarde et Holstein. En bref, le sperme a été dilué avec un extenseur commercial (BioXcell®, IMV Technologies, France) et Cryo conservé selon les procédures standard, conditionné dans des paillettes en plastique de 0,25 ml contenant  $20 \times 10^6$  spermatozoïdes par paillette et stocké dans l'azote liquide. (18) paillettes prises au hasard ont été utilisées dans cette étude.



**Figure 02** : Paillette de 0.25 ml contenant  $20 \times 10^6$  spermatozoïdes utilisée dans l'expérimentation (**Photo personnelle**).

## 2.2. Matériel de laboratoire

1) Le Sperme Class Analyzer® (SCA®) est un système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) qui permet de gérer et d'analyser les échantillons de sperme humain et animal en suivant les critères de l'Organisation Mondiale de Santé (OMS).

❖ Les composants basics du système sont :

- Microscope contraste de phase ;
- Caméra ;
- Un ordinateur (consulter le minimum requis) avec le logiciel d'analyses SCA® installé.

❖ Les principaux avantages obtenus avec l'utilisation de ce système sont :

- Une grande précision dans l'analyse ;
- Standardisation du résultat, impossible avec une analyse subjective ;
- Fiabilité des résultats;
- Analyses rapide et gestion de l'information obtenue.

SCA® est un système très fiable pour obtenir des données objectives nécessaires pour évaluer la qualité de manière plus crédible du sperme.

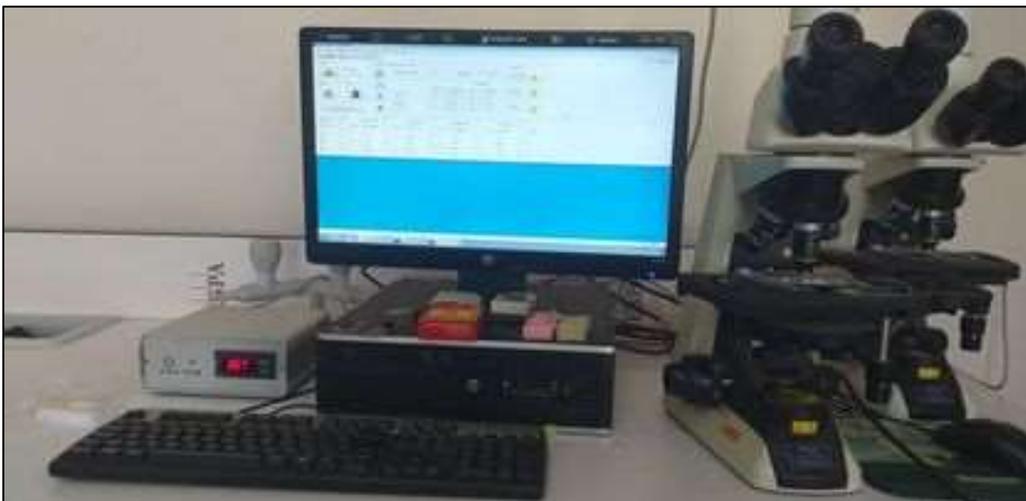
- 2) Tubes d'ependorfs ;
- 3) Bain marie ;
- 4) Des lames et lamelles ;
- 5) Micropipettes et embouts (**Figure 03**) ;
- 6) Agitateur Vortex (**Figure 04**) ;
- 7) Gants d'examen ;



**Figure 03** : Micropipettes (ependorf) plus des embouts (**Photo personnelle**).



**Figure 04 : Agitateur Vortex (Photo personnelle).**



**Figure 05 : Analyseur de sperme assisté par ordinateur (CASA) SCA® (Photo personnelle).**

### **2.3. Produits chimiques et préparation des solutions**

Les produits chimiques utilisés dans cette expérimentation sont le NaCl 0.9 % (laboratoire de recherche SNV Bouira) et Urée (Sigma-Aldrich products, Espagne). Les solutions de Co-incubation ont été préparées dans la faculté SNV-ST, Université de Bouira. Sous une hotte chimique ventilée, nous avons mélangé 266 mg de l'urée avec 500 ml de Na Cl 0.9 % pour obtenir une concentration de 0.532 g/l. Ce mélange a été par la suite agité pendant 15 min en utilisant un agitateur électromagnétique. Le pH de solution a été mesuré par un pH-mètre (OHAUS) et la solution préparée a été préservée dans une température de 4°C jusqu'à le jour de l'analyse spermatique.

### 3. Méthodes

#### 3.1. Décongélation et préparation des milieux

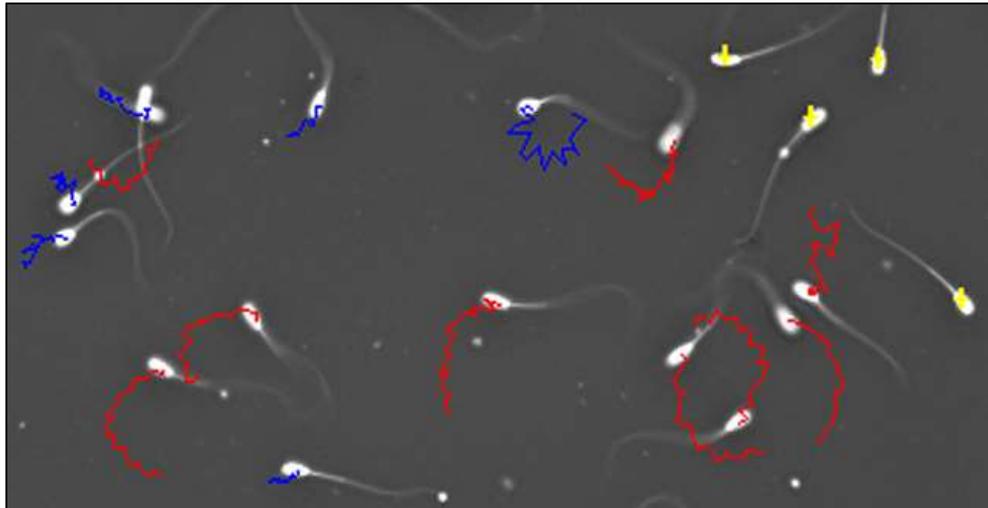
Selon un protocole décrit par **Purday et Graham (2004)**, Le réchauffement du sperme de taureau a été fait aussi rapide que possible après avoir les sortir de la bobine. La paillette a été tout d'abord secouée pour en faire tomber le reste de l'azote liquide puis plongée et agitée dans de l'eau à 34-37 °C. La décongélation s'était observée au observée au bout d'une trentaine de second. Le contenu de la paillette décongelée a été diluée dans un tube eppendorf à l'ordre d'un V : V (250µl de la semence +250µl de la NaCl à 0.9%). La semence diluée a été partagée en deux échantillons, un échantillon est redilué encore une fois avec le NaCl à 0.9% (groupe témoin) et l'autre échantillon a été mélangée avec la solution préparée à l'ordre d'un V : V afin d'obtenir une concentration de 0.266 g/l (groupe traitement). Cette étape a été pratiquée, toujours, dans des conditions thermiques proches de 37°C (dans un bain marie).

#### 3.2. Analyse spermatique

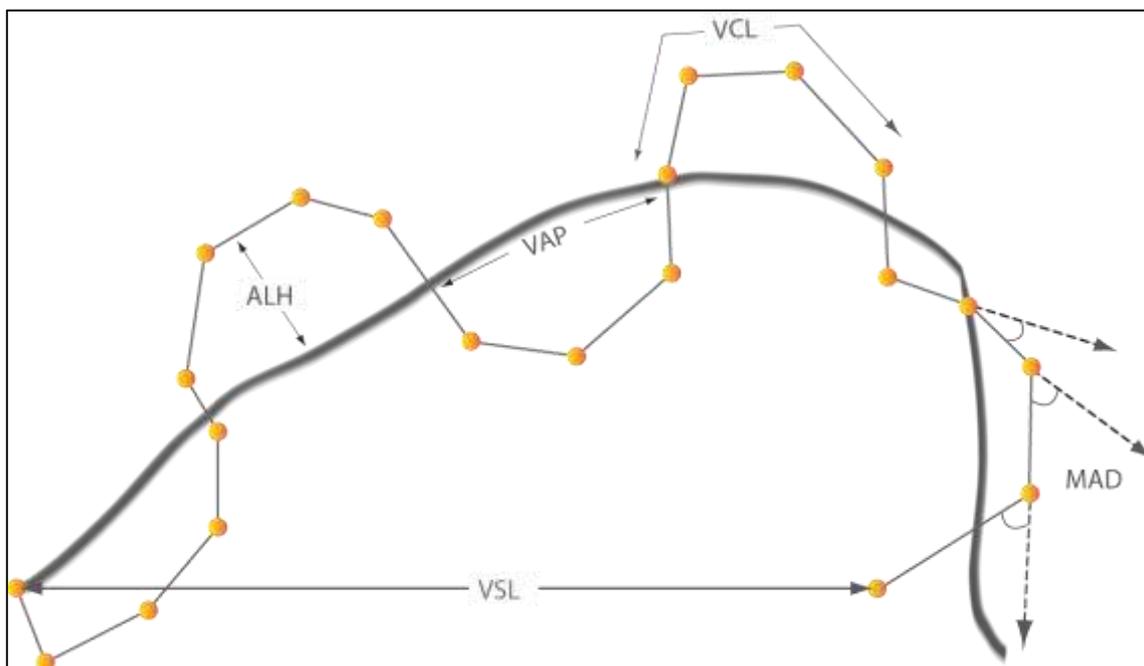
##### 3.2.1. La motilité

Dépôt d'un échantillon assez riche et bien homogène de 10 microlitres sur une lame de verre que l'on recouvrira, par dépôt horizontal, avec une lamelle de verre de 22 x 22 mm dans ces condition, l'espace obtenu entre lame et lamelle a été de l'ordre de 10 à 20 micromètres. Cet espace est suffisant pour bien observer le mouvement ondulatoire des spermatozoïdes qui évolueront dans cette épaisseur liquidienne. L'analyse cinématique a été faite grâce un objectif de grossissement 10x et Ph- au-dessus d'une platine chauffante intégrée (37°C) dans le microscope. Ce dernier comporte une source lumineuse avec un filtre vert. L'analyse se fait grâce un logiciel SCA®CASA, sous l'ongle de SCA Mobilité®. Cette étape a été faite par la digitalisation des images obtenues par la caméra. Ces images sont ensuite traitées par un ordinateur intégré qui permette définir de façon objective et répétable des paramètres tels que la proportion de spermatozoïdes mobiles, leurs vitesses, la linéarité de leurs trajectoires et la mobilité latérale de la tête (**Figure 05**).

Selon leur vitesse, le CASA a classé les spermatozoïdes entant que : 1) Rapide, affichage en rouge, les spermatozoïdes ayant une vitesse rapide ; Moyen : Affichage en vert, les spermatozoïdes ayant une vitesse moyenne ; 3) Lent, Affichage en bleu sur l'image, les spermatozoïdes ayant une vitesse lente et 4) Statique, Affichage en jaune, les spermatozoïdes immobiles (**Figure 06**). Après avoir analysé la mobilité, nous avons exportés les données obtenues (les différents paramètres cinématiques) sous forme d'Excel (**Figure 07**).



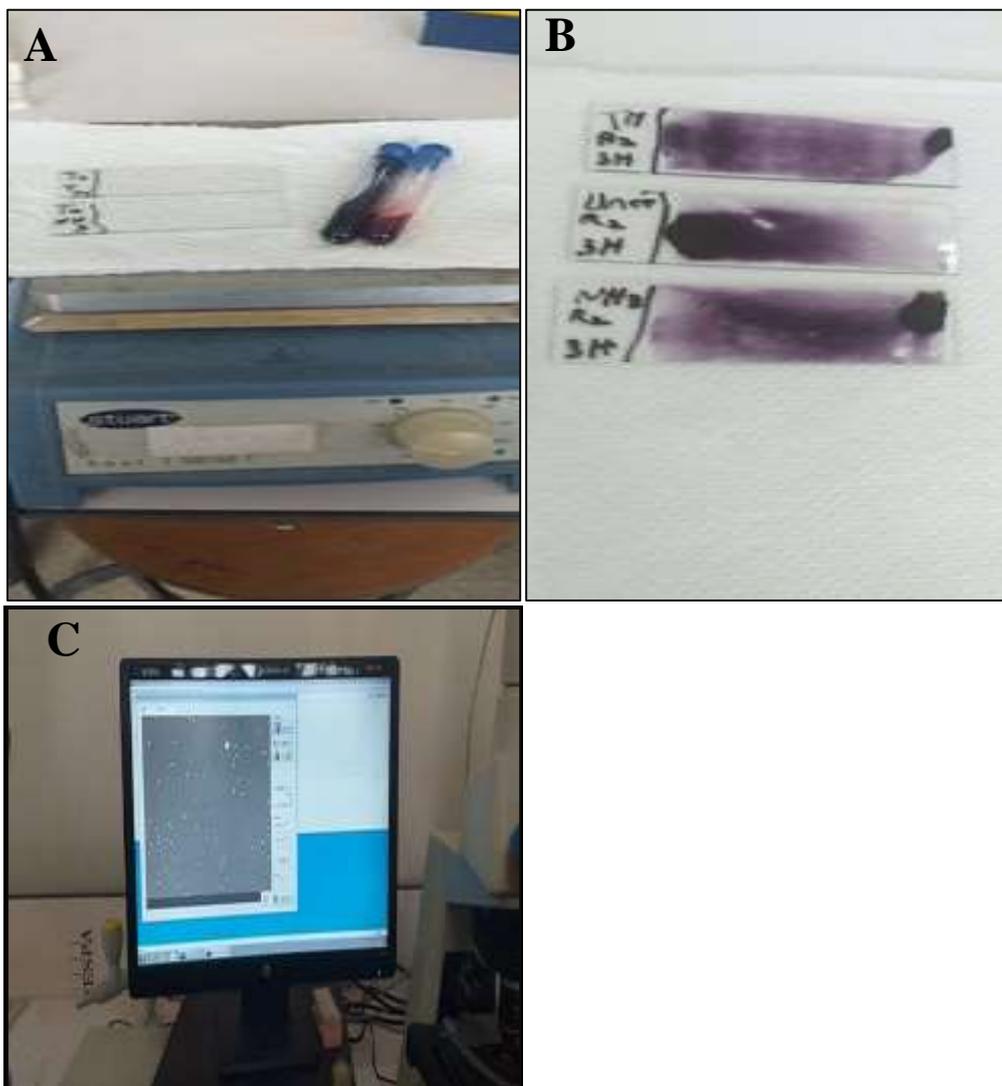
**Figure 06 :** Affichage des résultats d'analyse de la mobilité spermatique par le CASA (**Photo personnelle**).



**Figure 07 :** Les paramètres cinématiques générés par le CASA. **VCL (Curvilinear Velocity)** : reflète la distance totale que couvre la tête du spermatozoïde au cours de la période d'observation. **VSL (Straight-Line Velocity)** : est déterminée par la mesure de la distance entre le point d'arrivée et le point de départ, en ligne droite. **VAP (Average Path Velocity)** : correspond à la distance parcourue sur le trajet moyen pendant la durée d'observation. **ALH (Amplitude of Lateral Head displacement)** : correspond à l'amplitude de déplacement latéral de la tête. **BCF (beat cross frequency)** : est la fréquence à laquelle la tête du spermatozoïde traverse la trajectoire moyenne, elle est mesurée en Hertz (**Photo personnelle**).

### 3.2.2. Vitalité

Une coloration à l'éosine-nigrosine a été utilisée pour évaluer le pourcentage de spermatozoïdes vivants. 10  $\mu$ l de sperme dilué et 10  $\mu$ l d'éosine sont mélangés avec précaution. Après 30 secondes, 10  $\mu$ l de nigrosine sont ajoutés et le tout est à nouveau mélangé. 10  $\mu$ l de ce mélange sont étalés sur lame de verre, le séchage se fait à l'air libre et l'observation est réalisée au microscope, grossissement x20 (**Figure 08**). Les spz vivants présentent une tête non colorée alors que les spz morts ont été colorés en rose (**Figure 09**). On compte le nombre de spermatozoïdes morts et vivants sur un total d'au moins 200 spermatozoïdes.



**Figure 08 :** Étapes de confection d'un frottis spermatique coloré avec éosine -nigrosine. **A.** matériels utilisés pour la coloration, **B.** le frottis de l'éosine -nigrosine et **C.** le comptage cellulaire en utilisant une application dédiée pour la vitalité spermatique (**Photo personnelle**).



**Figure 09** : Spermatozoïdes vivants et morts après coloration éosine-nigrosine (**Photo personnelle**).

*Chapitre II*  
*Résultats et discussion*

**Résultats :****Tableau 04 :** Définitions des trajectoires et des paramètres étudiés par les analyseurs de sperme assistés par ordinateur (Computer Assisted Sperm Analysis).

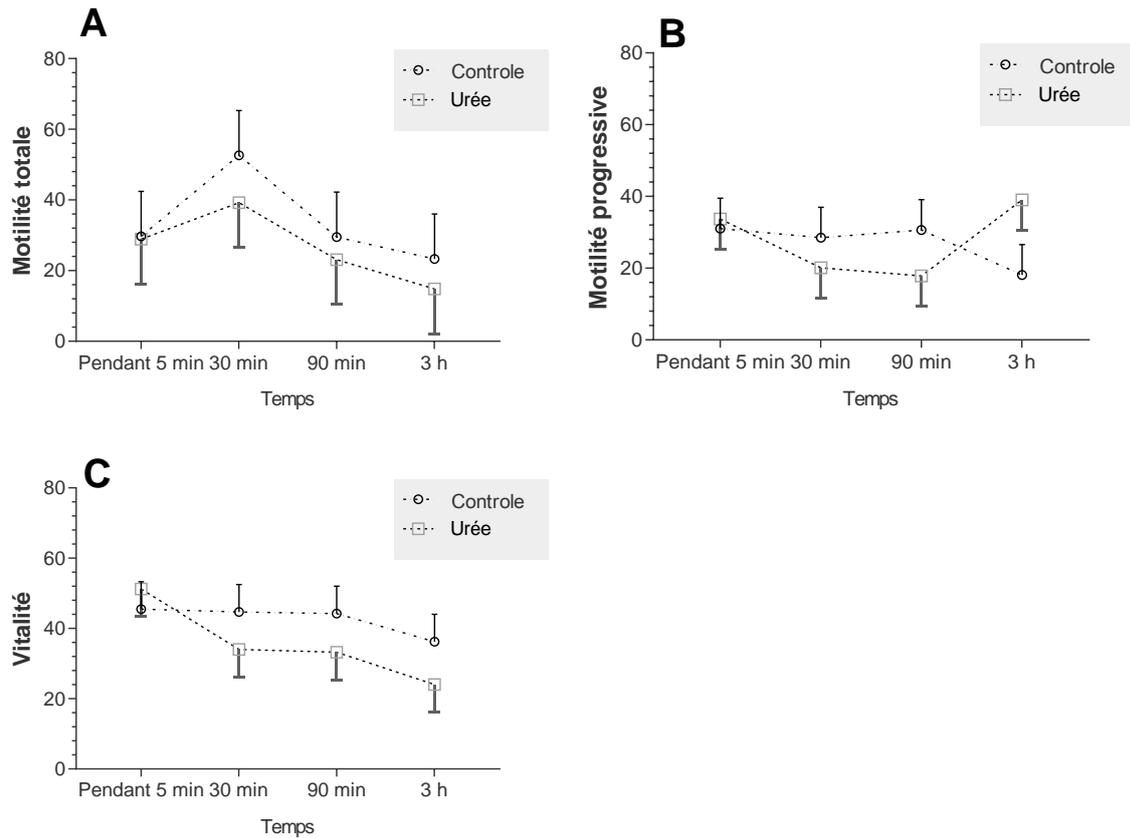
Paramètre	Abréviation	Définition
Vitesse de la trajectoire curvilinéaire	VCL (velocity curvilinear path)	Vitesse de la trajectoire entre Centroïdes dans un intervalle de temps défini
Vitesse de la trajectoire moyenne	VAP (velocity average path)	Vitesse de la trajectoire lissée Entre n positions du centroïde par intervalle de n temps
Vitesse de la trajectoire en ligne droite	VSL (velocity straightline path)	Vitesse de la trajectoire entre 2 positions du centroïde pris entre n intervalle de temps
Linéarité	LN (linearity)	VSL/VCL
Rectitude	STR (staightness)	VSL/VAP
Oscillation	WOB (wobble)	VAP/VCL

**1. Motilité et vitalité**

Dans manière générale, nous n'avons pas observé aucun effet d'une hyper-urémie ni sur la motilité, progressive, ni sur la vitalité ( $p > 0.1$ ) (**Tableau 4**). Pareillement, il est clair d'après la figure 09 que ni la motilité, ni la progressivité ou la vitalité évoluent par rapport le temps. La même chose pour l'interaction x temps.

**Tableau 05 :** Effet de co-incubation de l'urée avec le sperme bovin pendant 5, 30, 90 et 180 min sur la motilité totale, progressive et la vitalité

Sperm motility descriptors <sup>1</sup>	Média	Time				ET <sup>2</sup>	P-value <sup>3</sup>		
		Withi n 5 min	30 min	90 min	180 min		Traite ment	Temps	T*T <sup>4</sup>
% Motile	Control	29.7	52.6	29.5	23.3	12.7	0.510	0.259	0.968
	Urea	28.9	39.2	23.1	14.8				
% Prog Mot	Control	31.0	28.5	30.6	18.1	8.48	0.946	0.747	0.291
	Urea	33.7	20.1	17.8	39.0				
Vitalité	Control	45.5	44.7	44.2	36.2	7.8	0.220	0.183	0.62
	Urea	51.2	34.0	33.2	24.0				



**Figure 10 :** Effet de co-incubation de l'urée avec le sperme bovin pendant 5, 30, 90 et 180 min, **A.** effet sur la motilité totale, **B.** effet sur la motilité progressive, **C.** effet sur la vitalité

## 2. Paramètres cinématiques

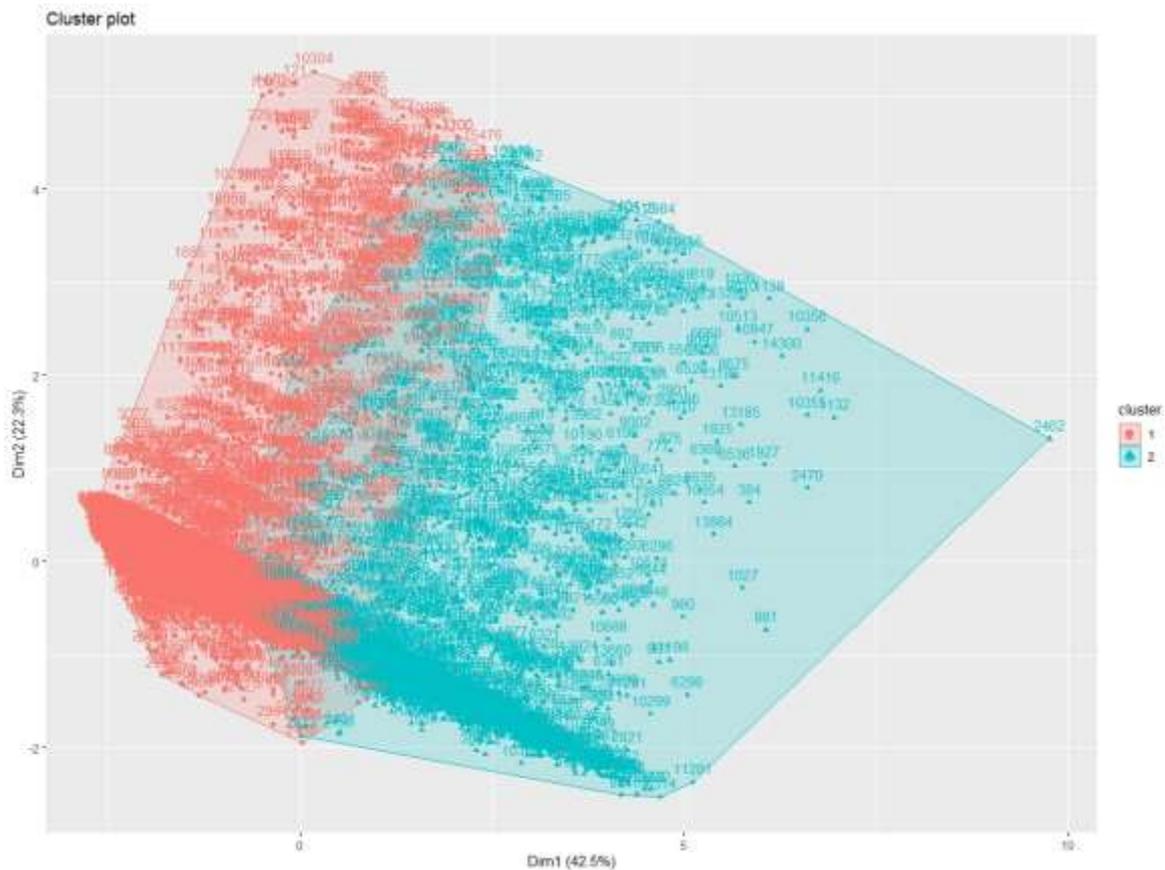
Le tableau nous montre un effet significatif de l'hyper-urémie sur tous les paramètres cinématiques ( $p < 0.05$ ) à l'exception de VAP ( $p > 0.05$ ). Ainsi, nous avons remarqué que l'hyper-urémie a affecté positivement le VCL, VSL, STR, LIN, WOB et ALH. Tous les paramètres cinématiques ont été évolués pendant le temps ( $P < 0.0001$ ). De même, nous avons remarqué une interaction traitement x temps pour tous les paramètres (**Tableau 6**).

**Tableau 06 :** Tableau représentant les corrélations entre les différents paramètres spermatiques chez bovins.

Sperm motility descriptors <sup>1</sup>	Media	Time				SE <sup>2</sup>	P-value <sup>3</sup>		
		Within 5 min	30 min	90 min	180 min		Traitement	Temps	T*T <sup>4</sup>
VAP	Contrôle	29.2a	31.3a	26.2a	23.7a	0.89	0.715	<0.0001	<0.0001
	Urée	34.6b	25.1b	22.1b	39.1b				
VCL	Contrôle	43.5	43.8a	37.8	38.9a	1.08	<0.0001	<0.0001	< 0.0001
	Urée	45.7	31b	36.4	50.4b				
VSL	Contrôle	23.5a	24.4a	21a	<b>16.4a</b>	0.86	0.029	< 0.0001	< 0.0001
	Urée	28.4b	21.9b	15.6b	<b>33.7b</b>				
STR	Contrôle	0.677a	0.663a	0.637a	<b>0.594a</b>	0.011	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Urée	0.712b	0.856b	0.598b	<b>0.766b</b>				
LIN	Contrôle	0.472a	0.467a	0.452a	<b>0.387a</b>	0.011	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Urée	0.542b	0.734b	0.39b	<b>0.613b</b>				
WOB	Contrôle	0.633a	0.651a	0.621a	0.579a	0.008	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Urée	0.708b	0.836b	0.586b	0.753b				
ALH	Contrôle	1.81a	<b>1.76a</b>	1.62a	2.01a	0.041	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Urée	1.71b	<b>1.16b</b>	1.90b	1.60b				
BCF	Contrôle	6.61	6.29a	6.62a	4.35a	0.188	0.0001	< 0.0001	< 0.0001
	Urée	6.17	5.23b	4.06b	9.07b				

### 3. Sous-populations

Le test de cluster nous a permis d'identifier 2 sous-populations spermatiques bien distinguées en basant sur les paramètres cinématiques générées par le CASA (**Figure 10**). Selon le tableau 7, la sous-population 2 (SP2) a enregistré les meilleurs paramètres par rapport à la sous-population 1 (SP1). D'après le tableau 8, nous avons constaté que la répartition de la SP2 était significativement ( $p < 0.0001$ ) dans le milieu qui ne contient pas l'urée par rapport à la SP1.



**Figure 11** : Les sous-populations identifiées par le test cluster par rapport l'effet de l'hyperurémie sur les paramètres cinématiques des spermatozoïdes bovins.

**Tableau 07** : Statistiques descriptives des sous populations issues de clustering à partir des paramètres cinématiques.

Variable	Sous-population	N	Moyenne	ErT moyenne	Valeur de P
VCL	1	3336	23,698	0,208	<0.0001
	2	1810	70,297	0,448	
VSL	1	3336	9,878	0,141	<0.0001
	2	1810	45,889	0,409	
VAP	1	3336	14,654	0,151	<0.0001
	2	1810	53,670	0,351	
LIN	1	3336	0,42198	0,00527	<0.0001
	2	1810	0,67266	0,00520	
STR	1	3336	0,60667	0,00529	<0.0001
	2	1810	0,84562	0,00444	
WOB	1	3336	0,61625	0,00417	0.0001
	2	1810	0,77967	0,00376	
ALH	1	3336	1,2973	0,0117	0.003
	2	1810	2,3731	0,0274	
BCF	1	3336	3,5381	0,0507	0.001
	2	1810	3,5381	0,0980	

**Tableau 08** : Test d'association du Khi deux de l'effet de l'hyper-urémie sur la répartition des deux sous-populations

Sous-population spermatique	Contrôle	Urée	Total	Valeur de P
1	1903	1433	3336	<0.0001
2	1129	681	1810	

### Discussion :

L'objectif de la présente étude est d'évaluer un éventuel effet d'une hyper-urémie sur la qualité spermatique notamment la motilité et la vitalité. Plusieurs s'accordent que l'hyper-urémie a un impact négatif sur la fertilité de la vache. Cette fertilité nécessite d'une part, une bonne qualité ovocytaire, un bon environnement utérin et d'autre par une bonne qualité spermatique. Plusieurs études ont mis une évidence une relation négative entre l'hyper-urémie et la qualité ovocytaire, folliculaire, sécrétion hormonale et la qualité embryonnaire. Cependant, peu d'étude ont mis l'accent sur une éventuelle relation entre la qualité spermatique et hyper urémie qui peut se produire dans le tractus génital femelle une fois que les spermatozoïdes sont trouvés dans cet endroit.

Dans la présente étude, nous avons constaté qu'un milieu contenant des concentrations élevées en urée (19 mg/dl) n'affecte pas la motilité totale, progressive et vitalité ( $P > 0.05$ ). Ces résultats ne sont pas cohérents avec la littérature. La motilité et la survie des spermatozoïdes semblent être, en effet, influencées par les protéines du régime alimentaire dans des plusieurs études. Les spermatozoïdes placés dans un liquide utérin appartiennent à des vaches nourries avec des régimes à forte teneur en protéines ont montré un déclin plus rapide de leur motilité que les spermatozoïdes placés dans les écoulements utérins de vaches nourries avec des régimes à faible teneur en protéines (**Hossain, 1993**).

**Hossain (1993)**, a également constaté une diminution du pourcentage de spermatozoïdes motiles avec l'augmentation des concentrations d'urée in vitro. **Breau et al., (1985)**, ont constaté que des concentrations accrues d'urée réduisaient la capacité des spermatozoïdes à migrer à travers le mucus cervical synthétique, et la dilution de spermatozoïdes épидидymaires avec une solution isotonique d'urée a considérablement réduit la motilité (**Tumer et Howard, 1978**).

La respiration et l'activité du cycle de l'acide citrique des spermatozoïdes bovins étaient plus faibles lorsque les concentrations d'ammoniacque étaient augmentées in vitro (**Dietz et**

**Flipse, 1969**). Les spermatozoïdes sont plus actifs et survivent plus longtemps à un pH neutre et la diminution du pH utérin associée à l'augmentation des concentrations d'urée et d'ammoniac peut avoir une influence négative sur la survie des spermatozoïdes (**Gordan et Swanson, 1979**). Probablement, l'effet négatif de l'hyperazotémie sur la fertilité n'a pas par un effet direct de l'urée sur les spermatozoïdes mais plutôt par un effet indirect en affectant le microenvironnement utérin de la vache. L'influence négative de l'apport en protéines sur la fertilité de la vache laitière peut impliquer les effets des protéines sur l'équilibre énergétique, ou les effets des sous-produits du métabolisme des protéines sur l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. Une augmentation de l'apport alimentaire en PC ou des déséquilibres dans les rapports entre les protéines alimentaires non dégradées et les protéines dégradables dans le rumen dans le régime alimentaire influencent le degré ou la durée du bilan énergétique négatif (NEB) après le vêlage, attribuable aux coûts énergétiques accrus de la synthèse de l'urée (**Oldham, 1984**). Il est bien connu que le BEN affect fortement les performances de reproduction et notamment les performances spermatiques (**Abdelli et al., 2017**). Cependant, tous les paramètres cinématique à l'exception de VAP sont affectés par taux élevé en urée ( $P < 0.02$ ). Cela est en cohérence avec la mauvaise fertilité enregistrée chez les vaches hyperurémiques.

# *Conclusion*

### **Conclusion et recommandations**

Cette étude consistait à mettre en évidence une éventuelle association entre une hyper-urémie et la qualité spermatique. De ce fait, des paillettes appartenant à plusieurs taureaux ont été décongelées et co-incubées avec des milieux qui contiennent des taux élevés en urée (19mg/l) (groupe traitement) et l'autre milieu contient le NaCl à 0.9% (groupe témoin).

Les résultats obtenus dans cette étude ont révélé qu'une co-incubation des spermatozoïdes bovins avec des concentrations similaires à une hyper-urémie chez la vache n'a aucun effet sur la motilité totale, progressive et la vitalité. Cependant, tous les paramètres cinématique VSL, VCL, STR, LIN, WOB, ALH, BCF à l'exception de VAP sont affectés. Ce résultat soutient l'hypothèse selon laquelle une partie de la faible fertilité post-partum des vaches laitières souffrant d'hyper-urémie pourrait être due à l'effet négatif des troubles métaboliques, entre autres, sur la motilité des spermatozoïdes.

Des études plus approfondies sur les interactions entre l'environnement hyper-urémique et les spermatozoïdes sont susceptibles d'améliorer notre compréhension des mécanismes moléculaires qui régulent le métabolisme des spermatozoïdes et de découvrir de nouvelles cibles pour moduler la fonction des spermatozoïdes.

De même, une alimentation équilibrée en matière d'énergie et de protéine est très recommandée afin d'éviter les problèmes de reproduction survenus chez la vache laitière.

*Références  
Bibliographiques*

---

**Références bibliographiques**

- Ababakri, R., Dayani, O., Khezri, A., & Naserian, A. A. 2021.** Effects of extruded flaxseed and dietary rumen undegradable protein on reproductive traits and the blood metabolites in Baluchi ewes. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30(3), 214-222.
- Abdelli A, Raboisson D, Kaidi R, Ibrahim B, Kalem A, Iguer-Ouada M. 2017.** Elevated non-esterified fatty acid and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cows and their association with reproductive performance and disorders: A meta-analysis. *Theriogenology*. 2017 Apr 15; 93:99-104. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.01. 030.. PMID: 28257874.
- Allen, S.M. 2000.** Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598-1624.
- Andrews, AH., Blowey, R. W., Boyd, H., Eddy, R. G. 2004.** *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle.*
- Barlund, C. S., T. D., Carruthers, C. L., Waldner, et al. 2008.** "A comparison of diagnostic techniques for post-partum endometritis in dairy cattle." *Theriogenology* 69(6): 714-723.
- Barnes, F. L. 2000.** The effects of the early uterine environment on the subsequent development of embryo and fetus. *Theriogenology* 53, 649–658.
- Barbeau-Grégoire, N., Boyer, A., Rousseau, M., Gauthier, M. L., et Dubuc, J. 2021.** Validation of On-Farm Bacteriological Systems for Endometritis Diagnosis in Postpartum Dairy Cows. *Animals*, 11(9), 2695.
- Barton, B. A., H. A., Rosario, G. W., Anderson, B. P., Grindle, et D. J., Carroll. 1996.** Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:2225–2236.
- Ben-Yosef, D., Shalgi R. 1998.** Early ionic events in activation of the mammalian egg. *Reproduction* 3, 96–103
- Bishonga, C. J. J., Robinson, T. G., McEvoy, P., Findlay, R. P., Aiten, et Robertson. I. 1996.** Excess dietary urea intake in ewes and its effect on ovulation rate and embryo development. *Jpn. J. Vet. Res.* 44:139–151.
- Blanchard, T., Ferguson, J., Love, L., Takeda, T., Henderson, B., Hasler, J., & Chalupa, W. 1990.** Effect of dietary crude-protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *American journal of veterinary research*, 51(6), 905-908.

- Blauwiel, R. R. L., Kincaid, et J. J., Reeves. 1986.** Effect of high crude protein on pituitary and ovarian function in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 69:439–446.
- Boland, M. P., Lonergan, P., O'Callaghan, D. 2001.** Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 55 1323-1340.
- Breau WC, Boice ML, Tritschler JP, Prange RW, Duby RT.** Migration ability through synthetic cervical mucus and acrosomal integrity of bull sperm after incubation with urea in vitro. *Biology of Reproduction* 32, Supplement 1, 219, 1985
- Brito, A. F., et Broderick, G. A. 2007.** Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:18161827.
- Butler, W. R., 1998.** Review: Effect of Protein Nutrition on Ovarian and Uterine Physiology in Dairy Cattle. *Dairy Sci.* 81 2533-2539. Collins-Lusweti
- Butler, W. R., Calaman, J. J., Beam, S. W. 1996.** Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim Sci.*, 74: 858-865.
- Canfield, R. W. C. J., Sniffen, and W. R., Butler. 1990.** Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73:2342–2349.
- Carneiro, L. C. J. G., Cronin et I. M., Sheldon. 2016.** "Mechanisms linking bacterial infections of the bovine endometrium to disease and infertility." *Reprod Biol* 16(1): 1-7.
- Carroll, D. J. B. A., Barton, G. W., Anderson, et R. D., Smith. 1988.** Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71: 3470–3481. cattle. *J Anim Sci* 74, 858–865
- Cauty, I., Perreau, J. M. 2003.** La conduite du troupeau laitier, Edition France Agricole, 285p.
- Chesworth, J. 1992.** Ruminant nutrition, Ed. CTA and macmillan, London and Basin gstoke.
- Christian HUYGHE | Luc DELABY Prairie et systèmes fourragers /2013 (2ème édition)**  
224 p.
- Croisier, M., Croisier, Y. 2012.** Alimentation animale : Besoins, aliments et mécanismes de ladigestion des animaux d'élevage. Educagri éditions, Eduter CNPR, 129p.
- Cuvelier, C., Hornick, J. L., Beckers, Y., Froidement, E., Knapp, E., Istasse, L., Dufasne, I. 2014.** Livret de l'agriculture : L'alimentation de la vache laitière : Physiologie et Besoins. Université de Liège. Centre Wallon de recherches agronomiques ; 67p

- Damry, D. 2009.** Effects of defaunation and methionine in the presence of protozoa on the flow of microbial long chain fatty acids from the rumen of sheep. *J. Agroland* 16:162171. **Dans :** Nutrition des ruminants domestiques, R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M.H. Frace, M. Journet (éds). INRA, Paris, France. **Dans:** Progress in research on energy and protein metabolism. W.B. Souffrant and C.C. Metges (éds) EAAP publication No.109. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Pays-protéines parles bactéries du rumen. *Année Biol.*, Elsevier. 37:233-248.
- Demarquilly, C., Andrieu, J., et Sauvant, D. 1978.** Composition et valeur nutritive des aliments. In: Alimentation des Ruminants, INRA Publications Versailles, 469-518 p
- Demeyer, D., et Fievez. 2000.** Ruminants et environnement : la méthanogènes. *Ann.Zootech.*, 49:95-112.
- Dietz RW, Flipse RJ. 1969.** Role of ammonia in interactions between the citric acid and urea cycles. *Biology of Reproduction* 1, 200-6.
- Dilmi, S., Arib, N. 2006.** Bilan énergétique chez la vache en péripartum. Thèse (PFE). Faculté des Sciences Agrovétérinaire et Biologiques, Université Saad Dahlab Blida, 57p.
- Doepel, L., Hanigan, M. D., Kennelly, J. J., Pacheco, D., Lopez-Campbell, I. F. et Lapierre. H. 2002.** Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. *J. Dairy Sci.* 87:1279-1297
- Driancourt, M. A., Thuel, B. 1998.** Control of oocyte growth and maturation by follicular cells and molecules present in follicular fluid. *Reprod Nutr Dev* 38, 345–362.
- Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. 2010.** Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(11), 5225-5233.
- Edwards, R. G. 1974.** Follicular fluid. *Reproduction*, 37(1), 189-219.
- Elrod, C. C., et Butler, W. R. 1993.** Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *Journal of animal science*, 71(3), 694-701.
- Elrod, C. C., Butler, W. R. 1993.** Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.*, 71: 694-701.
- Elrod, C. C., Van, Amburgh, M., Butler, W. R. 1993.** Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.* 71, 702–706
- Ferran, A. 2010.** Digestion microbienne chez les ruminants. Cours de physiologie digestive. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Toulouse, France.

- Ferguson, J. D., Galligan, D. T., Blanchard, T., Reeves, M. 1993.** Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, 76: 3742-3746
- Findlay, P. L. A., Salamonsen, et Cherney, R. A. 1990.** Endometrial function: studies using isolated cells in vitro. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 12:181–223.
- Florman, H. M., Tombes, R. M., First, N. L., Babcock, D. F., 1989.** An adhesion-associated agonist from the zona pellucida activates G protein-promoted elevations of internal Ca<sup>2+</sup> and pH that mediate mammalian sperm acrosomal exocytosis. *Dev. Biol.* 135, 133–146.
- Fonty, G., Jouany, J. P., Forano, E. et Gouet, Ph. 1995.** L'écosystème microbien du réticulorumen Pages 299-348
- Garcia-Bojalil, C. M., C. R., Staples, W. W., Thatcher, et Drost, M. 1994.** Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of super ovulated no lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:2537–2548.
- Gath, V. P., Crowe, M. A., O'Callaghan, D., Boland, M. P., Duffy, P., Lonergan, P., Mulligan, F. J. 2012.** Effects of diet type on establishment of pregnancy and embryo development in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 133, 139–145.
- Gebeyehu, A., et Mekasha, Y. 2013.** Defaunation: effects on feed intake, digestion, rumen metabolism and weight gain. *Wudpecker J. Agric. Res.* 2:134 - 141.
- Gjørret, J. O., Knijn, H. M., Dieleman, S.J, Avery, B., Larsson, L. I., Maddox-Hyttel, P. 2003.** Chronology of apoptosis in bovine embryos produced in vivo and in vitro. *Biol Reprod* 69, 1193–1200.
- Gordan FJ, McMurray CH. 1979.** The optimum level of protein in the supplement for dairy cows with access to grass silage. *Animal Production* 29, 283-91.
- Grant, J. K., Steichen, P. L., Wright, C. L., Vonnahme, K. A., Bauer, M. L., Jennings, J. S., Perry, G. A. 2013.** Influence of nitrogen and sulfur intake on bovine uterine pH throughout the luteal phase. *J. Anim. Sci.* 91, 1186–1192
- Gunn, P. J., Lundberg, A. L., Cushman, R. A., Freetly, H. C., Amundson, O. L., Walker, J. A., Perry, G. A. 2015.** Effect of circulating blood urea nitrogen concentrations on reproductive efficiency in beef heifers and cows. *J. Anim. Sci.* 93 (Supp. (s3)), 88, Abstr M229.
- Hammon, D. S., Holyoak, G. R., Dhiman, T. R. 2005.** Association between blood plasma urea nitrogen levels and reproductive fluid urea nitrogen and ammonia concentrations in early lactation dairy cows. *Anim.Reprod.Sci.* 86 195-204.

- Hammon, D. S., Holyoak, R. G., Wang, S. 1997.** Influence of rumen degraded protein on ammonia concentrations in the follicular fluids of early lactation dairy cows. *Theriogenology News* 20, 5.
- Hana, D., Khalida, A., et Aicha, H. 2020.** Les difficultés alimentaires chez la vache laitière: Fin de gestation et début de lactation.
- Hossain KM. 1993.** A Study of Infertility in Dairy Cattle with Emphasis on Nutritional Involvement. Unpublished PhD Thesis. University of Queensland, Brisbane.
- Iwata H., Inoue, J., Kimura, K., Kuge, T., Kuwayama, T., Monji, Y. 2006.** Comparison between the characteristics of follicular fluid and the developmental competence of bovine oocytes. *Anim Reprod Sci* 91, 215–223.
- Jarrige, R. 1988.** Alimentation des bovins, ovins et caprins. Édition INRA. Paris, 476 p.
- Jarrige, R., Ruckbush, Y., Demarquilly, C., Farce, M. H., Journet, M. 1995.** Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion. Inra Editions
- Jordan, E. R., Chapman, T. E., Holtan, D. W., Swanson, L. V. 1983.** Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 66, 1854–1862.
- Jordan, E. R., et Swanson, L. V. 1979.** Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein and albumin in the high-producing dairy cow. *J. Dairy Sci.* 62:58–63.
- Jouany, J-P., et Reperant, J-M. 2007.** Proposition pour une démarche d'évaluation de substances ou de produits 'nouveaux' destinés à l'alimentation animale - Cas particulier des substances et produits à base de plantes. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Maisons-Alfort.
- Jouany, J. P. 1994.** Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. *Prod. Anim.* 7:207-225.
- Jouany, J. P., Ivan, M., Papon, Y., et Lassalas, B. 1992.** Effects of *Isotricha*, *Eudiplodinium*, *Epidinium* + *Entodinium* and a mixed population of protozoa on the in vitro degradation of fish meal, soybean meal and casein. *Can. J. Anim. Sci.* 72:871-880.
- Journet, M., Favardin, P., Rémond, B., et Vérité, R. 1983.** Niveau et qualité des apports azotés en début de lactation. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 51:7-17.

- Kaim, M. Y., Folman, H., Neumark, et W., Kaufmann. 1983.** The effect of protein intake and lactation number on postpartum body weight loss and reproductive performance of dairy cows. *Anim. Prod.* 37:229–235.
- Kenny, D. A. P. G., Humpherson, H. J., Leese, D. G., Morris, A. D., Tomos, M. G., Diskin, et Sreenan, J. M. 2002.** Effect of elevated systemic concentrations of ammonia and urea on the metabolite and ionic composition of oviductal fluid in cattle. *Biol. Reprod.* 66:1797–1804.
- Kohn, R. A., Dinneen, M. M., Russek-Cohen, E. 2005.** Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. *Journal of Animal Science* 83 879-889.
- Lapierre, H., Berthiaume, R., Raggio, G., Doepel, L., Pacheco, D., Dubreuil, P., et Lobley, G. E. 2005.** The route of absorbed nitrogen into milk protein. *J. Anim. Sci.* 80:11-22.
- Lapierre, H., Lobley, G. E. 2001.** Nitrogen recycling in the ruminant: A Review. *J. Dairy Sci.* 84, Supplement E223-E236.
- Lavanya, M., Swathi, D., Archana, S. S., Ramya, L., Ranjithkumaran, R., Krishnaswamy, N., et Selvaraju, S. 2021.** Supraphysiological concentration of urea affects the functional competence of Holstein-Friesian (*Bos taurus*) sperm. *Theriogenology*, 176, 104-114.
- Lefloc'h, N., et Séve, B. 2000.** Le devenir des protéines et des acides aminés dans l'intestin du porc: La digestion à l'apparition dans la veine porte. *INRA Prod. Anim.* 13: 303-314.
- LeBlanc, S. J. 2008.** "Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review." *The Veterinary Journal* 176(1): 102-114
- LeBlanc, S. J. T. F., Duffield, K. E., Leslie, et al. 2002.** "Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Dairy Cows." *Journal of Dairy Science* 85(9): 2223-2236.
- Lobley, G. E., et Lapierre, H. 2003.** Post-absorptive metabolism of amino acids. Pages 737-756.
- Low, A. G. 1982.** Digestibility and availability of amino-acids from feedstuffs for pigs: a review. *Livest. Prod. Sci.* 9:511-520.
- Lucy, M. C., W. W., Thatcher, et Staples, C. R. 1992.** Postpartum function: nutritional and physiological interactions. Pages 135–145 in *Large Dairy Herd Management*. H. H. Van

- Horn and C. J. Wilcox, ed. ADSA, Champaign, IL Luminal Environment of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87 2896-2901
- Martineau, R., Ouellet, D. R., Kebreab, E., White, R. R., et Lapierre, H. 2017.** Relationships between postruminal casein infusion and milk production, and concentrations of plasma amino acids and blood urea in dairy cows: A multilevel mixed-effects meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 100, 8053–8071.
- McCormick, M. E., French, D. D., Brown, T. F., Cuomo, G. J., Chapa, A. M., Fernandez, J. M., Beatty, J. F., McRae, A. C. 1984.** The blood-uterine lumen barrier and its possible significance in early embryo development. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 6:129–173.
- Nolan, R., O’Callaghan, D., Duby, R. T., Lonergan, P., Boland, M. P. 1998.** The influence of short-term nutrient changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. *Theriogenology* 50, 1263–1274.
- NRC. 2001.** Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed., National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Nugent, J. H. A., et Mangan, J. L. 1981.** Characteristics of the rumen proteolysis of fraction 1(18S) leaf protein from lucerne (*Medicago sativa* L). *Br. J. Nutr.* 46:39-58.
- Ocon, O. M., Hansen, P. J. 2003.** Disruption of bovine oocytes and preimplantation embryos by urea and acidic pH. *J. Dairy Sci.* 86, 1194–1200. progesterone concentrations and performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 72:2179–2183.
- Oldham JD. 1984.** Protein-energy relationships in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 67, 1090-1114.
- Ouellet, D. R., Demers, M., Zuur, G., Lobley, G. E., Seoane, J. R., Nolan, J. V., et Lapierre, H. 2002.** Effect of dietary fiber on endogenous nitrogen flows in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:3013-3025.
- Rhoads, M. L., Gilbert, R. O., Lucy, M. C., et Butler, W. R. 2004.** Effects of urea infusion on the uterine luminal environment of dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(9), 2896-2901.
- Rhoads, M. L., Rhoads, R. P., Gilbert, R. O., Toole, R., et Butler, W. R. 2006.** Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Animal reproduction science*, 91(1-2), 1-10.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads, R. O. Gilbert, R. Toole, et W. R. Butler. 2006.** Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy

- cows. *Anim. Reprod. Sci.* 91:110. ruminally degradable protein. *Journal of Animal Science* 71 694-701.
- Roffler, R. E., Wray, J. E. et Satter, L. D. 1986.** Production responses in early lactation to additions of soybean meal to diets containing predominantly corn silage. *J. Dairy Sci.*69:1055-1062.
- Roger WOLTER | Andrew PONTER | Alimentation de la vache laitière**Élevage bovin – 2013(4ème édition) 194 p.
- Roze, C., et Levy, P. 2005.** Traité de pancréatologie clinique. Pages 3-36 dans : MédecineScience Flammarion. Paris, France.
- Rulquin, H., Vérité, R., Guinard-Flament, J., et Pisulewski, P. M. 2001.** Acides aminés digestibles dans l'intestin. Origine des variations chez les ruminants et répercussions sur les protéines du lait. *Prod. Anim.* 14:201-210.
- Santos, P., Chaveiro, A., Simoes, N., & Moreira da Silva, F. 2008.** Bovine oocyte quality in relation to ultrastructural characteristics of zona pellucida, polyspermic penetration and developmental competence. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(6), 685-689.
- Satter, L. D., et Roffler, R. E. 1975.** Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 58(8), 1219-1237.
- Sauvant, D., Grenet, E., et Doreau, M. 1995.** Dégradation chimique des aliments dans le réticulo-rumen: cinétique et importance. *Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion*, INRA, Paris, 383-406.
- Sérieys, F. 1997.** Le tarissement des vaches laitières: une période-clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau. France Agricole Editions. 224p.
- Sérieys, F. 2015.** Le tarissement des vaches laitières une période-clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau. 2ème édition. Éditions France agricole, Paris, 337p.
- Sève, B., et Henry, Y. 1996.** Protein utilization in non-ruminants. Pages 59-82. Dans:Protein Metabolism and Nutrition. A.F. Nunes, A.V. Portugal, J.P. Costa, J.R.Ribeiro (éds). Proceedings of the 7 International Symposium, Vale de Santarém - Portugal 24-27 May 1995, EAAP-Publication n°81, Estação Zootecnica,
- Schneider, M., Marison, I. W., et Von Stockar, U. 1996.** The importance of ammonia in mammalian cell culture. *Journal of biotechnology*, 46(3), 161-185.

- Sheldon, I. M., J. Cronin, L. Goetze, et al. 2009.** "Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle." *Biol Reprod* 81(6): 1025-1032.
- Sinclair, K. D., Kuran, M., Gebbie, F. E., Webb, R., et McEvoy, T. G. 2000.** Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *Journal of animal science*, 78(10), 2670-2680.
- Sonderman, J. P., et Larson, L. L. 1989.** Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 72(8), 2179-2183.
- Spicer, L. J., Tucker, W. B., et Adams, G. D. 1990.** Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. *Journal of dairy science*, 73(4), 929-937.
- Staples, C. R., C. M. Garcia-Bojalil, B. S. Oldick, W. W. Thatcher, et C. A. Risco. 1993.** Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. Pages 37–51 in Proc. 4th Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp., Univ. Florida, Gainesville. *Theriogenology* 94: 21-30.
- Thivierge, M. C., Bernier, J. F., et Lapierre, H. 2002.** Effects of supplemental protein and energy and feeding frequency on the performance of lactating dairy cows fed a protein deficient diet. *Canadian journal of animal science*, 82(2), 225-231.
- Turner TT, Howards SS. 1978.** Factors involved in the initialtion of sperm motility. *Biology of Reproduction* 18,571-8.
- Vanhatalo, A., Varvikko, T., et Huhtanen, P. 2003.** Effects of casein and glucose on responses of cows fed diets based on restrictively fermented grass silage. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3260-3270.
- Vermorel, M., Coulon, J. B. 1992.** Alimentation des vaches laitières : Comparaison des systèmesd'alimentation énergétique. INRA Productions animales, 5 (4), pp.289-298
- Vérité, R. et Peyraud, J. L. 1988.** Alimentation des bovins ovins et caprins. Pages 75-93. INRA (éd.). Paris, France.
- Villa-Godoy, A., Hughes, T. L., Emery, R. S., Chapin, L. T., et Fogwell, R. L. 1988.** Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71(4), 1063-1072.

- Wagener, K., Gabler, C., et Drillich, M. 2017.** A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 94, 21-30.
- Wallace, R. J., Onodera, R., et Cotta, M. A. 1997.** Metabolism of nitrogen-containing compounds. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 283-328). Springer, Dordrecht.
- Wattiaux, M. A. 2005.** Métabolisme protéique chez la vache laitière. Dans : Essentiels Laitiers, Babcock Institute for International Dairy Research and Development. Nysenholc, J. and Berger, Y. (éd.). Université du Wisconsin, Madison, États Unis.
- Westwood, C.T., Lean, I. J., Garvin, J.K. 2002.** Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: a multivariate description. *J. Dairy Sci.* 85, 3225–3237.
- Wiebold, J. L. 1988.** Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 84:393–399.
- Wolter R. 1994.** Alimentation de la vache laitière. Edition France Agricole, Paris. 219p.

# *Résumé*

## **Résumé**

L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence une éventuelle association entre une hyperurémie et la qualité spermatique lorsque les spermatozoïdes dans un microenvironnement utérin hyperurémique. De ce fait, des paillettes appartenant à plusieurs taureaux ont été décongelées et co-incubées avec des milieux qui contiennent un taux élevé en urée (19mg/l) (groupe traitement) et l'autre milieu contient le NaCl à 0.9% (groupe témoin). La mobilité totale, progressive, la vitalité ainsi les paramètres cinématiques des spermatozoïdes ont été analysées pendant 5min, à 30, 90 et 180 min de co-incubation en utilisant le CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis). Les résultats de cette étude ont failli prouver un effet significatif d'une hyper-urémie sur la motilité totale, progressive et la vitalité des spermatozoïdes. Cependant, tous les paramètres cinématique à l'exception de VAP sont affectés par taux élevé en urée ( $P<0.02$ ). Cela est en cohérence avec la mauvaise fertilité enregistrée chez les vaches hyper-urémiques.

**Mots clés :** Hyper-urémie, spermatozoïdes, motilité, vache laitière

## **Abstract**

The objective of the present study was to demonstrate a possible association between hyper-uremia and sperm quality when spermatozoa in a hyper-uremic uterine microenvironment. Therefore, straws belonging to several balls were thawed and co-incubated with media containing high urea (19mg/l) (treatment group) and the other media contains 0.9% NaCl (control group). Total motility, progressive motility, vitality and kinematic parameters of the spermatozoa were analyzed during 5 min, 30, 90 and 180 min of co-incubation using CASA (Computer-assisted sperm analysis). The results of this study almost proved a significant effect of hyper-uremia on total, progressive motility and vitality of spermatozoa. However, all kinematic parameters except VAP were affected by high urea levels ( $P<0.02$ ). This is consistent with the poor fertility recorded in hyper-uremic cows.

**Key words:** Hyper-uremia, spermatozoa, motility, dairy cow

## **ملخص**

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على ارتباط محتمل بين فرط بورييم الدم ونوعية الحيوانات المنوية عندما تكون الحيوانات المنوية في بيئة رحم مفرطة في الدم. لذلك، تم إذابة الرقائق التي تنتمي إلى العديد من الثيران واحتضانها بشكل مشترك مع وسائط تحتوي على نسبة عالية من اليوريا (19 مجم / لتر) (مجموعة المعالجة) والوسائط الأخرى التي تحتوي على كلوريد الصوديوم بنسبة 0.9 ٪ (مجموعة التحكم). تم تحليل الحركة الكلية والتدرجية والحيوية والمعلمات الحركية للحيوانات المنوية لمدة 5 دقائق، في 30 تحليل الحيوانات المنوية بمساعدة الكمبيوتر). كادت نتائج هذه الدراسة (CASA و90 و180 دقيقة من الحضانة المشتركة باستخدام أن أثبتت وجود تأثير معنوي لفرط بورييم الدم على الحركة الكلية التقدمية وحيوية الحيوانات المنوية. ومع ذلك، تتأثر جميع المعلمات وهذا يتفق مع ضعف الخصوبة المسجل في الأبقار مفرطة النمو. ( $P<0.02$ ) بارتفاع اليوريا VAP الحركية باستثناء

**الكلمات المفتاحية:** فرط البول، الحيوانات المنوية، الحركة، بقرة حلب