

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

### Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

### THÈME

**Cryoconservation de la semence caprine :  
Utilisation de l'Andromed® et de l'association Andromed®-  
Cyclodextrine pour la congélation de la semence de boucs Arabya et  
Alpin.**

Présenté par :

**M'RABET Lyna**

**DERGUINI Kenza**

Soutenu le : 11/06/2016

### Devant le jury composé de:

- Président : Temim S. (Professeur-ENSV)
- Promoteur : Lamara A. (Maitre de conférences classe A-ENSV)
- Examineur 1: Boudjellaba S. (Maitre-assistant classe A-ENSV)
- Examineur 2 : Idres T. (Maitre-assistant classe A-ENSV)

Année universitaire : 2015-2016

# Remerciements

---

Nous tenons, d'abord, à remercier notre encadreur **Dr Lamara Ali** d'avoir accepté de nous guider, de nous conseiller et de nous encourager dans notre projet de fin d'étude. Nous vous remercions pour votre patience, votre gentillesse ainsi que pour nous avoir légué votre savoir et votre passion pour la recherche et l'innovation. Vous êtes notre mentor !

Nos remerciements à **Professeur Temim Soraya** pour sa présidence du comité du jury et en particulier de nous avoir assistées lors des réunions avec Monsieur le directeur de l'ITELV (Institut Technique des Elevages).

Nous remercions le **Dr Boudjellaba Sofiane** d'avoir accepté d'être parmi les membres du jury et pour son aide précieuse.

Merci à **Dr Idres Takfarinas** d'avoir accepté d'examiner notre travail et de nous avoir aidées et encouragées à mener à bien notre travail.

Merci au **directeur et au personnel de l'ITELV** pour la mise à notre disposition les moyens nécessaires à notre étude, nous les remercions pour leur hospitalité et leur disponibilité.

Merci au **Professeur Iguer-Ouada Mokrane** et son équipe particulièrement **Me Mezhoud Halima** pour leur accueil chaleureux ainsi que leur assistance au niveau de leur laboratoire au sein de l'université de Béjaia.

Merci au Centre National de l'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique (**CNIAAG**).

Toute notre gratitude à **Dr Harhoura Khaled** et **Pr Aissi Mériem** de nous avoir soutenues durant notre cursus.

# Dédicaces

---

*À ma mère,*

*De par ton amour, ta bonté, tes sacrifices et dévouement, ton assistance ... tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ses enfants, extraordinaire hardiesse !*

*À mon père,*

*Pour ton amour, ta souciance, tes valeurs nobles, ta façon de voir les choses si mal comprise (et que quelque part j'arrive à saisir), merci d'être toi, merci d'être mon père !*

*Ommi, Baba,*

*Je tiens à vous exprimer la profondeur de ma reconnaissance éternelle et de mon amour inconditionnel. Merci pour ce que vous avez fait de moi. Rien au monde ne vaut vos efforts consentis pour mon éducation et mon bien être.*

*À mes sœurs Charaf et Diana et mon frère Alexandre,*

*Pour votre amour, présence, soutien... je ne saurais dire les mots qui expriment mon attachement, l'affection que je vous porte et votre importance à mes yeux ! Que Dieu vous accorde la sérénité, la santé et la réussite.*

*À Kenza,*

*Ma sœur, mon amie, ma complice, ma binôme, merci pour ces agréables années passées ensemble. J'ai comme la certitude que dans un autre monde, nous n'étions qu'un.*

*À Bilel,*

*Mon frère adoré ! Merci d'avoir été là, et d'avoir fait en sorte d'apaiser cette longue aventure laborieuse. Que cette fraternité et amitié durent éternellement.*

*À Khaled et Mayssa, à tous mes amis,*

*Pour votre amour, gentillesse, soutien... merci !*

*À tata Hassina, son mari et ses enfants,*

*Merci de m'avoir considéré comme votre propre fille !*

*À la famille Ben Salem et Ghaboub*

*Que Dieu vous bénisse et vous offre toujours meilleur que ce que vous attendez*

*À madame Aoun Leila,*

*Merci d'avoir cru en moi !*

*À tous mes enseignants, depuis la maternelle jusqu'à cet instant et ceux à venir,*

*Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et de mon profond respect.*

*À tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail de loin ou de près :*

*Spéciales dédicaces de M'Rabet Lyna*

# Dédicaces

---

À mes bien-aimés parents, mes chers frères

À Ma tata Ghania et son fils : mon estimable ami d'enfance Amir, qu'il repose en paix

À mon compagnon et mes amis

DERGUINI Kenza

# Résumé

---

L'objectif de cette présente étude est d'appliquer le milieu de cryoconservation, Andromed®, chez l'espèce caprine dans le but d'introduire l'insémination artificielle chez la chèvre en Algérie. L'Andromed®, est utilisé, par le CNIAAG, pour la conservation de la semence bovine. Comme il est, aussi, indiqué pour la semence de l'espèce caprine, nous l'avons utilisé, pour la première fois, en Algérie, pour la semence de boucs issus d'élevages locaux. Dans un second temps, nous avons tenté, d'introduire un additif cryoprotecteur, la cyclodextrine, dans le but d'améliorer le milieu de cryoconservation.

Pour cela, 03 boucs, dont 02 de population Arabya et 01 de race Alpine, ont été utilisés pour la collecte de la semence, soit par flushing rétrograde (semence épидидymaire : Ep) soit par électro-éjaculation (semence éjaculée : Ej). L'évaluation de la semence après traitement et congélation a été effectuée par l'analyseur informatique CASA.

Les résultats indiquent, pour la première fois, que la congélation de la semence caprine en Algérie est possible, en utilisant le milieu Andromed®. Cependant, l'addition de la cyclodextrine à l'Andromed® n'a pas eu d'effet améliorateur sur la qualité de la semence congelée.

Mots clefs : semence, bouc, cryoconservation, Andromed®, Cyclodextrine, CASA.

# Abstract

---

The aim of the present study is to apply the extender of cryopreservation, Andromed® on goat semen, in order to introduce artificial insemination in breeding goats in Algeria. Andromed® used by the CNIAAG for the bovine semen conservation. It is, also, indicated for goat semen; therefore we used it, for the first time in Algeria, for buck semen from local farms. In a second time, we tried to introduce a cryoprotective additive, Cyclodextrin, in the medium in order to improve the cryopreservation's extender.

For this, 03 bucks, 02 of Arabiya's population and 01 of Alpine race, were used for the semen collection either by retrograde flushing (epididymal semen: Ep) or by electro-ejaculation (semen ejaculated: Ej). The semen evaluation, after processing and freezing, was performed by CASA computer analyzer.

The results indicate, for the first time, that freezing goat semen in Algeria is possible, using the Andromed® extender. However, the addition of Cyclodextrin to Andromed® doesn't have an ameliorative effect on the quality of frozen semen.

**Keywords:** semen, buck, cryopreservation, Andromed®, Cyclodextrine, CASA.

الهدف من هذه الدراسة هو استعمال وسط للحفاظ بالتجميد، **Andromed®** للسائل المنوي للماعز، من أجل الوصول إلى تطبيق التلقيح الاصطناعي للماعز في الجزائر.

**Andromed®**، يستخدم من طرف **CNIAAG** لحفظ السائل المنوي البقري. كما أنه مشاراً للاستعمال لمني الماعز. لقد قمنا باستخدامه لأول مرة في الجزائر، لنظفة الماعز من المزارع المحلية.

حاولنا، في الخطوة الثانية، إدخال واق من التجميد، سيكلودكسترين، من أجل تحسين وسط الحفظ بالتجميد.

لذلك، 03 ماعز، منبينهم إثنان من الفصيلة العربية، واحد من الفصيلة الألب، استخدموا لجمع السائل المنوي، إما عن طريق الغسل الرجعي (السائل المنوي البربخي Ep) أو عن طريق القذف الكهربائي (السائل المنوي Ej).

تم تقييم نوعية الحيوانات المنوية، بعد المعالجة و التجميد، بواسطة الجهاز المعلوماتي **CASA**.

تشير النتائج، لأول مرة، إلى أن تجميد السائل المنوي للماعز ممكن في الجزائر، وذلك باستخدام وسط للحفاظ بالتجميد **Andromed®**، وأن إضافة سيكلودكسترين إلى **Andromed®** لم يكن لها تأثير محسن على نوعية السائل المنوي المجمد.

كلمات البحث: الماعز، المنوي، الحفظ بالتجميد، **Andromed®**، سيكلودكسترين، **CASA**.

# Sommaire

---

Introduction et problématique .....	1
Partie bibliographique .....	3
I. L'élevage caprin .....	4
A. Aperçu sur la situation du caprin dans le monde .....	4
1. Répartition mondiale du cheptel caprin .....	4
2. Effectif et Répartition géographique des caprins en Algérie/Evolution de l'effectif caprin (Tableau N°1).....	4
a) Effectif et répartition géographique .....	4
b) Evolution de l'effectif caprin.....	5
B. Structure/organisation et conduite des troupeaux en Algérie.....	5
C. Les races les plus connues dans le monde.....	6
1. Les populations caprines en Algérie et leur localisation géographique.....	6
a) Populations locales.....	6
b) Races introduites.....	8
c) Populations croisées.....	8
D. Importance et diversité des productions.....	8
1. Aperçu général des productions dans le monde.....	8
2. Aux pays du Maghreb .....	9
3. Les productions en Algérie .....	9
II. Physiologie, anatomie de l'appareil reproducteur du bouc et facteurs influençant la qualité de la semence .....	10
A. Anatomie .....	10
B. Physiologie .....	11
C. Composition de la semence du bouc .....	11
1. Les spermatozoïdes .....	12
2. Plasma Séminal .....	12
a) EYCE (Egg Yolk Coagulating Enzyme) .....	13

b) BUSgp60 (SBU III) .....	13
D. Facteurs extrinsèques et intrinsèques influençant la semence .....	14
III. Cryobiologie.....	15
A. Application de la cryobiologie .....	15
B. Techniques de cryobiologies usuelles .....	16
C. Cryoconservation de la semence caprine .....	17
1. Les étapes dans un protocole de cryoconservation chez le bouc .....	18
a) La récolte de la semence .....	19
b) La dilution de la semence .....	20
c) Le retrait ou non du plasma séminal .....	22
d) Refroidissement .....	22
e) Congélation .....	22
f) Entreposage .....	23
g) Décongélation .....	23
2. Evaluation de la qualité de la semence .....	23
a) Evaluation macroscopique .....	23
b) Evaluation microscopique .....	24
c) Le spectrophotomètre.....	24
d) CASA (Computer Assisted Semen Analysis).....	25
3. Les facteurs physiques endommageant la semence lors de la congélation.....	25
4. Evolution des protocoles de congélation .....	26
Partie expérimentale.....	27
I. Matériels et méthodes .....	28
A. Matériels.....	28
1. Lieux de l'expérimentation .....	28
2. Animaux.....	28
3. Semence .....	29
4. Cryoprotecteurs .....	29

5. Matériels d'évaluation de la concentration et de la qualité de la semence avant et après conservation .....	30
6. Matériels de conditionnement de la semence pour la congélation.....	30
7. Outils de congélation classique.....	30
8. Analyses statistiques : .....	30
B. Méthodes .....	30
1. Récolte de la semence de bouc .....	30
a) Semence épидидymaire .....	30
b) Semence éjaculée.....	31
2. Evaluation de la semence fraîchement récoltée .....	31
a) Détermination de la motilité massale.....	31
b) Détermination de la mobilité individuelle .....	31
3. Protocole de cryoconservation utilisé .....	31
a) Dilution .....	32
b) Mise en paillette, bouchage et impression .....	32
c) Equilibration .....	33
d) Congélation.....	33
e) Décongélation .....	34
f) Evaluation de la semence après congélation par CASA .....	34
II. Résultats .....	35
III. Discussion .....	43
IV. Conclusion .....	45
V. Recommandations .....	45
Références bibliographiques .....	46

### **Introduction et problématique**

Il existe quatre (04) générations de biotechnologies liées à la reproduction dans le monde (Thibier, 1990) qui sont chronologiquement les suivantes : l'Insémination artificielle, le transfert embryonnaire, la fécondation in vitro, la transgénèse.

En Algérie, seule l'Insémination artificielle est appliquée à l'échelle nationale grâce aux efforts déployés, depuis les années 1990, par le Ministère de l'Agriculture par le biais du CNIAAG (Centre Nationale d'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique). Par ailleurs, l'Insémination artificielle n'est appliquée que sur l'espèce bovine et ce, dans l'objectif d'améliorer génétiquement notre cheptel et d'augmenter la production laitière afin de répondre à la demande de la population nationale de plus en plus grandissante. Malgré, tous ces efforts, les résultats escomptés ne sont pas atteints si bien que la dépendance vis-à-vis des marchés étrangers en termes de poudre de lait est toujours aussi importante. De plus, les éleveurs de la filière bovine trouvent de plus en plus de difficultés à assurer une bonne gestion de leur élevage du fait d'un manque de technicité, de fourrages et du coût élevé d'aliments de bétails importés (maïs, soja..).

Face à cette situation, de plus en plus d'éleveurs s'orientent vers l'exploitation des petits ruminants, notamment des caprins. En effet, des éleveurs de chèvres s'organisent en association afin de développer la filière caprine en Algérie. L'exemple de l'association Atlas dans la région de Blida en est un avec ses 29 adhérents et celui de Tizou Ouzou avec ses 17 adhérents (données communiquées par les présidents des associations eux-mêmes). Ces deux associations sont agréées par l'état et une autre le sera bientôt à Djelfa. Cette réorientation est dictée par les facilités de gestion qu'offrent les troupeaux caprins par rapport aux troupeaux bovins avec une meilleure rentabilité sur le plan économique dans nos conditions locales. L'objectif des acteurs de cette filière est de produire du lait à des fins industrielles, particulièrement l'industrie fromagère.

Afin d'aider ces éleveurs à se développer et à améliorer leurs cheptels en termes génétique et de production, il est impératif d'adopter de nouvelles approches de gestion, notamment, par l'introduction de l'insémination artificielle dans les élevages caprins. En effet, cette technique permet d'augmenter numériquement le troupeau, d'améliorer la qualité des produits, d'éviter la propagation des pathologies suite au recours à la saillie naturelle tout en facilitant le transport sur de longs trajets et l'acquisition d'animaux de haute valeur génétique.

En Algérie, à notre connaissance, aucune approche dans ce sens n'a vu le jour, contrairement à d'autres pays où l'insémination artificielle chez l'espèce caprine s'applique dans les élevages (INRA, 1992).

Pour être optimisée, l'insémination artificielle requiert, entre autres, la maîtrise de la technique de conservation de la semence, notamment, la cryoconservation qui permet, justement, la diffusion, sur tout le territoire, de patrimoines génétiques issus de mâles de haute valeur. Ceci a pour conséquence l'accès à l'amélioration des troupeaux et de leur production.

Il existe deux techniques de conservation au froid: la conservation à +4°C de semence fraîche, dont la fertilité maximale nécessite son utilisation dans les 12 heures qui suivent sa récolte et la conservation dans l'azote liquide à -196°C, pour un temps illimité. Cette dernière est très avantageuse du moment qu'elle facilite le transport et la diffusion de semence de qualité, conditionnée dans des paillettes, sur de vastes territoires (Lebœuf *et al.*, 1988).

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à la deuxième méthode, à savoir, la cryoconservation de la semence caprine. Pour cela, nous avons choisi de travailler au CNIAAG en utilisant le milieu de conservation appliqué à la semence bovine, l'ANDROMED®, qui est aussi indiqué pour d'autres espèces, notamment, l'espèce caprine.

Ce manuscrit se décline en deux parties:

- La première partie concerne la bibliographie qui met en évidence les données actuelles sur la situation de l'élevage caprin et son évolution dans le monde et en Algérie ainsi que la physiologie de la reproduction du bouc, l'insémination artificielle et les techniques de conservation de sa semence.
- La deuxième partie, quant à elle, a trait à l'expérimentation réalisée dans le cadre de notre projet tout en mettant en exergue les résultats qui en ont découlé, la discussion, la conclusion et les perspectives.

# Partie bibliographique

## **I. L'élevage caprin**

L'élevage caprin dans le monde est celui qui a connu la plus importante hausse d'effectif durant ces dernières années (FAO, 2010). Il est classé quatrième après celui des bovins, des ovins et des porcins. Il est possible que l'effectif caprin passe en troisième position en 2015 d'après les prévisions (INRA, 2012).

Cette progression est le fruit d'une orientation socio-économique contemporaine. Celle-ci ne considère plus l'élevage caprin comme une source substantielle à la sécurité alimentaire et économique des ménages montagnards (Alary *et al.*, 2011 ; Bengoumi *et al.*, 2013), mais place le curseur très haut. Elle vise une structuration des exploitations et des productions, afin d'atteindre une intensification de ces systèmes, ainsi répond aux sollicitations principalement de l'industrie fromagère et aux ambitions des éleveurs.

### **A. Aperçu sur la situation du caprin dans le monde**

#### **1. Répartition mondiale du cheptel caprin**

Durant les dernières années, le cheptel caprin a connu une augmentation d'environ 20%. En 2013, il est estimé à 976 millions de tête selon la FAO.

C'est l'Asie (principalement la Chine et l'Inde) qui est sujette à la majorité de cette progression, disposant d'environ 60% du cheptel mondial. L'Afrique (principalement Nigéria, Soudan, Éthiopie et Kenya) est en deuxième position avec un effectif d'environ 36%. Quant à l'Europe, elle ne détient que près de 2% de cet ensemble. (figure N°1).

#### **2. Effectif et Répartition géographique des caprins en Algérie/Evolution de l'effectif caprin (Tableau N°1)**

##### **a) Effectif et répartition géographique**

L'anatomophysiologie du caprin le prédispose à résister dans les zones difficiles et les régions défavorisées, la raison pour laquelle le cheptel caprin se concentre dans la steppe, la région montagneuse et l'oasis (Rapport National Sur les Ressources Génétiques Animales en Algérie).

## **b) Evolution de l'effectif caprin**

Les données sont résumés dans le tableau N°2.

### **B. Structure/organisation et conduite des troupeaux en Algérie**

En Algérie, l'élevage caprin est une coutume agricole ancestrale, presque toujours associé à l'élevage ovin (Hafid, 2006). Il est destiné à l'autoconsommation du lait et de la viande, c'est-à-dire, régit par des méthodes traditionnelles qui ne permettent pas un meilleur profit (Guessas et Semar, 1998). En effet, la faible taille du troupeau (4 à 5 têtes/ha dans les conditions optimales ; Moustari, 2008) entraîne une faible productivité, d'environ 1kg lait/chèvre/jour (Kadi et al.; 2013).

C'est le système d'exploitation extensif qui est le plus souvent utilisé pour les caprins. Etant donné le privilège qu'est l'offre fourragère gratuite. Il concerne principalement les chèvres locales, qui ne rentrent pas dans le cadre d'une intensification des productions. De plus, leur rusticité les prédispose à valoriser les faibles ressources des régions pauvres.

Ce système est pratiqué au niveau de la steppe, des parcours sahariens, en région montagneuse, au piémont du Nord et au Sud. En ce qui a trait à sa gestion, elle est réalisée par une main d'œuvre familiale, qui utilise les produits animaux (cuir et poils) et s'en servent comme matière première pour la confection artisanale d'une part et d'autre part profitent du fumier fournis pour les cultures qui n'utilisent pas les entrants chimiques.

Le système semi-extensif, généralement associé aux ovins, est aussi appliqué. Il se localise dans les grandes régions de culture, dans les plaines céréalières où les animaux reçoivent un complément alimentaire (orge et foin) et bénéficient de quelques soins vétérinaires.

Le système intensif est nouveau et rentre dans le cadre d'un système laitier, où de grands troupeaux de races exotiques sont destinés à une bonne production laitière servant l'industrie fromagère. Les animaux dans ce type d'exploitation reçoivent une complémentation avec du fourrage vert, du foin et du concentré (INRAA, 2015).

Quand l'élevage est à destination de viande, le système utilisé est l'extensif où les sujets font partie de la population locale et obtiennent un complément alimentaire de paille.

Une finalité mixte requiert un élevage d'une intensification intermédiaire.

### **C. Les races les plus connues dans le monde**

Au fil des années, le caprin a subi des différenciations géographiques ainsi que des programmes de sélection qui ont fait émerger de nombreuses populations et races. Selon Pr Denis (2000) le monde aujourd'hui comprend près de 200 races répertoriées dont quelques-unes, seulement, sont très connues, à savoir: l'Alpine, la Saanen, la Toggenburg et l'Anglo-nubienne en tant que races laitières, l'Angora et la Cachemire pour les fibres.

En Asie, les deux races rustiques, l'Angora et la Cachemire, sont les plus connues, principalement, pour la laine, le mohair pour la première et la toison pour la deuxième (Manallah 2012). En revanche, leur rendement en viande et en lait est réduit.

En Afrique, c'est la race nubienne qui est la plus célèbre (Fantazi, 2004).

En Europe, les races les plus usuelles et réputées sont, principalement, élevées pour les aptitudes laitières, parmi lesquelles, la Saanen, l'Alpine, la Toggenburg, la Maltaise et la Poitevine.

De nos jours, de nombreux travaux s'effectuent en vue de normaliser les populations indigènes en vue de les standardiser.

#### **1. Les populations caprines en Algérie et leur localisation géographique**

Un polymorphisme génétique caractérise le cheptel caprin en Algérie. En effet, ce dernier est constitué de populations locales autochtones, de races introduites d'Europe, et de la population métissée (Bey et Laloui, 2005).

Peu de travaux ont concerné la population caprine algérienne si bien que ses aptitudes de production et son potentiel génétique sont insuffisamment connus.

##### **a) Populations locales**

Quatre populations locales sont à distinguer : la Arabia, la Makatia , la Kabyle et la M'zabit. (Hellal, 1986 ; Dekkiche, 1987 ; Sebaa, 1992 ; Takoucht , 1998 ; Fantazi, 2004 et Bey et Laloui, 2005).

##### **La Arabia:**

Egalement appelée arabo-maghrébine, elle est plus connue par la population nord-africaine. Elle est

la plus importante, numériquement, en Algérie (Badis, 2004). Elle se situe surtout dans les hauts plateaux : les zones steppiques et semi-steppiques. Elle est de format peu développé faisant une taille de 50-70 cm, pourvue d'une tête motte avec de longues et larges oreilles pendantes. Sa robe est polychrome (noire, gris, marron) à poils longs de 12-15 cm. Sa production laitière moyenne est de 1,5 litre par jour.

Son adaptation au climat semi-aride est bien accommodée. Effectivement, étant rustique, elle résiste bien dans les conditions steppiques et aux contraintes des parcours (Benaïssa, 2008).

Dotée de bonnes aptitudes de reproduction, cette chèvre est, principalement, destinée pour la production de viande de chevreaux. Même si la production de lait est en modeste quantité, relativement à plusieurs facteurs dont le mode d'élevage, ceci représente un intérêt indéniable. (Allaf *et al.*, 2004, Belmiloud, 2007).

Il existe pour la Arabia deux types de population: l'un est sédentaire, l'autre est transhumant. (Dekkiche, 1987; Madani *et al.*, 2003). Dans le premier type, elle peut atteindre 80 litres durant 4 mois de lactation et 55 litres durant 3 mois de lactation dans le deuxième (Allaf *et al.*, 2004, Belmiloud, 2007).

### **La Makatia:**

Cette population est le résultat du croisement entre la Arabia et la Cherkia (Djari et Ghribeche, 1981). Localisée dans les hauts plateaux et la région Nord de l'Algérie, cette chèvre est de grande taille: 72 cm pour le male et 63 cm pour la femelle. La couleur de sa robe varie, pouvant être grise, beige, blanche ou brune, à poils ras et fin, d'une longueur entre 3-5 cm. Le mâle a une forte tête et la femelle porte des cornes dirigées vers l'arrière. Sa production laitière journalière est de 1 à 2 litres par jour.(Hellal ,1986).

Sa principale vocation est la production de lait et de viande, et spécialement la peau et le cuir. (Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie, 2003)

Malgré une bonne adaptabilité environnementale, cette chèvre ne résiste pas beaucoup sur les parcours (Allaf *et al.*, 2004 et Benaïssa, 2008).

### **La Kabyle:**

Ou la naine de Kabylie, se concentre dans les massifs montagneux de la Kabylie, des Aurès et du

Dahra. Cette chèvre est petite de taille, à poil long, de couleur généralement brun foncé, parfois noir ou pie noire, beige ou blanche, rousse ou pie rouge. La tête est de profil courbé, et surmontée de cornes. Sa qualité de viande est appréciée mais la production laitière est mauvaise.

### **La M'zabit:**

Alias Touggourt, se localise dans toute la partie septentrionale du Sahara. Sa taille est moyenne (65cm), de tête fine et cornée et de robe soit noire, blanche ou chamoise. C'est une laitière principalement. (Hellal, 1986). En effet, il arrive qu'elle produise plus de 210 litres en 7 mois de lactation, en plus de sa bonne prolificité qui font les motifs de sa considération (Benaissa, 2008).

### **b) Races introduites**

Ce sont les races amélioratrices. Depuis la période coloniale de l'Algérie, l'introduction avait concerné la Maltaise (Kerkhouche; 1979), la Murciana et la Toggenburg

Actuellement, c'est la Saanen qui est en première position puis vient l'Alpine, issues toutes les deux d'Europe. C'est pour leur aptitude de bonne laitière qu'on les importe en guise d'augmenter la productivité au sein des élevages et en vue d'une amélioration génétique en les croisant avec les populations locales. La race Saanen est principalement élevée par les fabricants du fromage en Kabylie.

### **c) Populations croisées**

C'est le résultat des croisements aléatoires entre les races standardisées d'Europe et les populations autochtones. Les produits issus d'un tel métissage se caractérisent par une prolificité et une productivité appréciables (Khelifi, 1997).

## **D. Importance et diversité des productions**

### **1. Aperçu général des productions dans le monde**

La principale production en Asie ainsi qu'en Afrique est la viande. Pour ce qui est du lait, et d'autres produits, cela reste encore secondaire (L'institut de l'élevage), contrairement à l'Europe qui s'est spécialisée dans la filière laitière. Alors qu'elle ne détient que 2% du cheptel mondiale, sa production de lait représente 14% mondialement. (INRA, Productions animales, 2012, N°2) .

La finalité de la production caprine européenne est la progression de l'apport du lait qui sert en

conséquence la confection fromagère en priorité. Ceci est favorisée par une bonne organisation de la filière, une motivation des éleveurs, une coopération de la recherche et du développement ainsi qu'une bonne absorption par la demande des consommateurs (INRA 2012).

La production mondiale de viande en 2013 est de 5,4 millions de tonnes. Quand à celle du lait, elle est de 18 milliards de litres (l'institut d'élevage d'après FAO) (figure 2).

## **2. Aux pays du Maghreb**

### **En Tunisie :**

En 2013, selon la FAO, la Tunisie détient 1 ,248, 180.00 de tête de caprin.

En 2014, selon l'office de l'élevage et des pâturages, l'effectif caprin est de 692110 unités femelles, avec une production de viande de 9500 tonnes ce qui représente 0,6% de la production de viande nationale. Quant au lait, 64.3% de la production nationale sont produits par les vaches et les brebis.

### **Au Maroc :**

D'après l'institut de la recherche agronomique marocain: Le cheptel caprin national est à 5,7 millions de tête dont 80% sont détenus au niveau des petites exploitations.

La production laitière est à 38 millions de litres ce qui correspond à 2% de la production nationale. D'ailleurs, la production moyenne de lait des chèvres locales est de 202 kg de lait pour 179 jours de lactation, avec un taux protéique de 3,3% et un taux butyreux de 3,5%.

Quant à la viande, elle est à 37.500 tonnes soit 9% de la production nationale.

## **3. Les productions en Algérie**

Le caprin est d'un usage multiple. Il peut être destiné à l'abattage pour l'obtention de la viande, à fournir d'autres élevages et à produire du lait, aussi bien qu'à servir les accessoires de l'habillement par son poil et la maroquinerie par son cuir. De plus de ses déjections qui sont utilisées comme engrais biologique. (ANSEJ, Elevage Caprin, 2012)

Le lait est destiné aux chevreaux, à la consommation familiale et à la fabrication des sous-produits laitiers. Présentement, la nouvelle politique participative de l'état vis-à-vis la production laitière encourage les éleveurs à élaborer des exploitations semi-industrielles (Khelifi Y., 1999). D'autant

plus que plusieurs associations s'organisent dans le but de bien gérer cette nouvelle doléance (dont l'ATLAS, celle de Tiziet et de Métija).

De nos jours, le caprin de par ses vertus, commence à être présent dans la filière de la restauration du grand public et à être apprécié. En effet, les caractères organoleptiques et surtout diététiques de sa viande sont approuvés et réclamés par le consommateur. Ce qui explique l'élévation de son prix pour se rapprocher de celui de l'agneau alors qu'il n'atteignait pas les 50% du prix de ce dernier il y'a dix à quinze ans (INRAA, 2015).

Quant au lait, s'il est commercialisé, il est à quatre fois le prix du lait de vache (INRAA, 2015).

La moyenne de la production laitière annuelle est de 1 milliard dont 13% provient du lait de chèvre. Quant à la viande, celle du caprin ne présente que 8% de l'ensemble (Nedjraoui, 2012).

Des contraintes s'opposent au développement de la filière caprine en Algérie, due au recours à l'offre de rente écologique, qui ne permet pas un niveau de production exigé par le marché. Par ailleurs, une mauvaise gestion des élevages, la connaissance limitée du potentiel génétique des caprins locaux, ainsi que la disponibilité restreinte des moyens de la maîtrise de la reproduction chez le caprin. Ce qui requiert toute une stratégie de développement basée d'une part sur l'engagement de soutien de l'état pour protéger les populations locales, amorcer l'amélioration génétique en favorisant les ressources locales et en conservant un patrimoine génétique local, d'autre part sur l'établissement d'un travail de collaboration entre les différentes structures agricoles (INRAA, 2015).

## **II. Physiologie, anatomie de l'appareil reproducteur du bouc et facteurs influençant la qualité de la semence**

### **A. Anatomie**

Les testicules, les épидидymes, les glandes annexes et les organes d'évacuation composent le tractus génital male. Chacun d'eux joue un rôle principal dans la spermatogénèse (figure N° 3).

#### **Les testicules :**

Glandes exocrines par production des spermatozoïdes et endocrines par sécrétion d'hormone masculine : « la testostérone ». Leur poids est entre 80 à 300 g, il varie selon plusieurs facteurs :

race, saison, état nutritionnel.

### **L'épididyme :**

Organe composé d'un seul tube pelotonné qui se divise en trois parties : la tête, le corps et la queue. Le passage tout le long de ce tube rend les spermatozoïdes mobiles et fertiles. Ils sont ensuite stockés au niveau de la queue.

### **Les glandes annexes :**

- Les ampoules : sont des dilatations de l'extrémité urétrale du canal déférent. C'est aussi un lieu de stockage pour les spermatozoïdes avant l'éjaculation.
- Les vésicules séminales : situées de chaque côté de l'attache de la vessie. Ils élaborent la majeure partie du plasma séminal.
- La prostate : est diffuse et ne pénètre pas la couverture musculaire de l'urètre.
- Les glandes de Cowper : appelées aussi glandes bulbo-urétrales. Elles sont situées dans la région caudale de l'urètre. Bien que très petites (de la taille d'une noisette), quelques-uns de leurs produits de sécrétion sont importants du point de vue qualitatif, en particulier chez le bouc.

### **Les organes d'évacuation :**

Au nombre de deux : le canal déférent et l'urètre. Se sont que des organes d'évacuation, ils ne sécrètent aucun produit.

## **B. Physiologie**

L'âge de la puberté et donc de l'activité sexuelle débute chez le bouc à 6 ou 7 mois, il dépend de plusieurs facteurs, le plus influençant étant la photopériode (figure N° 4).

.

## **C. Composition de la semence du bouc**

Le sperme est constitué du liquide séminal et des éléments cellulaires: spermatozoïdes, macrophages, polynucléaires, hormones de croissance, cellules souche, cellules épithéliales...

## 1. Les spermatozoïdes

Toute anomalie conduit au déclassement de la qualité de la semence (figure N°5). Sous microscope optique, il est possible de les visualiser :

- Spermatozoïdes sans queue.
- Spermatozoïdes avec une anomalie au niveau de la tête (acrosome anormal, tête petite ou étroite, tête élargie en forme de poire, etc.)
- Spermatozoïdes avec une anomalie au niveau du flagelle.
- Spermatozoïdes avec une gouttelette cytoplasmique proximale.
- Spermatozoïdes avec une gouttelette cytoplasmique distale.

## 2. Plasma Séminal

C'est un milieu liquide complexe sécrété par l'épididyme et les glandes annexes lors de l'éjaculation. Il a pour but de transporter les spermatozoïdes du tractus génital male à celui de la femelle. Les nutriments qu'il fournit sont nécessaires à la fertilité de la semence. D'après Thibault et Levasseur en 2001, les sécrétions des glandes annexes représentent 50 à 95 % du plasma. En 1980, Corteel le définit comme « tout ce qui dans l'éjaculat n'est pas spermatozoïdes morts ou vivants ».

Ce fluide se mélange avec les spermatozoïdes pour donner la semence. Il est riche en nutriments et est très important pour le transport des spermatozoïdes et leur fertilité. Néanmoins, son véritable rôle reste obscur (Mann, 1964) car les conditions *in vitro*, à savoir, l'exposition à la lumière, la variation thermique, le changement du pH, l'apport en nutriments, entraînent des variations du métabolisme des spermatozoïdes. De ce fait, ils ne permettent pas de reproduire ce qui se passe *in vivo*. Sa composition change d'une espèce à une autre.

Le tableau N° 3 résume les concentrations moyennes des principaux composants du plasma séminal du bouc.

Deux des produits du plasma séminal non épидидymaire s'avèrent toxiques lors de la conservation de la semence dans des dilueurs à base de lait écrémé et de jaune d'œuf. Les tests effectués par l'équipe de Corteel en 1974 et 1975 avaient démontré que ces produits sont sécrétés par les glandes de Cowper (alias glandes bulbo-urétrales). Le tableau N°4 compare les résultats obtenus entre une

semence avec un plasma séminal et une semence lavée.

**a) EYCE (Egg Yolk Coagulating Enzyme)**

Sécritée sous l'influence de plusieurs paramètres, l'enzyme de coagulation du jaune d'œuf a été identifiée comme une phospholipase A2 (PLA2) (Iritani *et al.*, 1964; Upreti *et al.*, 1999). En effet, sa toxicité varie selon le pH, la température, le volume du plasma séminal, la saison de production de la semence et la race des poules ayant produit le jaune d'œuf (Leboeuf *et al.*, 2003). En présence du jaune d'œuf, la phospholipase A2 hydrolyse les phospholipides de l'œuf et de la membrane phospholipidique des spermatozoïdes. Ceci libère des acides gras et un lysophospholipide nommé lysolécithine. Ce dernier est le véritable composé toxique. A des concentrations minimales, la lysolécithine active la motilité des spermatozoïdes (Hartree et Mann, 1961).

A des doses plus élevées, ce composé peut provoquer la réaction spontanée de l'acrosome (Fleming et Yanagimachi, 1981), la condensation de la chromatine (Sawyer et Brown, 1995) et peut même être toxique pour la survie des spermatozoïdes à de fortes concentrations (Aamdal *et al.*, 1965; Baril *et al.*, 1993; La Falci *et al.*, 2002) provoquant leur mort instantanée (Aamdal *et al.*, 1965).

**b) BUSgp60 (SBU III)**

La SBU III est une glycoprotéique de 55-60 kda nommée BUSgp60 par Pellicer (1995). D'après Leboeuf *et al.*, en 2003, en milieu lacté, elle cause la détérioration de la motilité, de la qualité des mouvements, de l'intégrité de l'acrosome et même de la mort des spermatozoïdes. Son action toxique consiste à hydrolyser les triglycérides du lait les transformant ainsi en acides gras dont l'acide oléique (le composé toxique) (Pellicer et Combarous, 1998). Il a été constaté que la BUSgp60 présente une ressemblance avec les lipases pancréatiques type 2 : les PLRP2 (Pancreatic Lipase Related Proteins 2) (Pellicer *et al.*, 1997 ; Sias 2000). Contrairement aux lipases classiques qui hydrolysent sélectivement les triglycérides, les PLRP2 ont des activités phospholipasique A1 (Thirstrup *et al.*, 1994) et galactolipasique (Andersson *et al* 1996).

Les recherches de Sias en 2000 ont montré que la protéine BUSgp60 a une activité sur le jaune d'œuf. En 2003, LeBœuf a estimé que EYCE la phospholipase A et BUSgp60 pourraient être une seule et unique enzyme.

## **D. Facteurs extrinsèques et intrinsèques influençant la semence**

### **Effet de l'expérience sociale :**

La qualité spermatique et le comportement sexuel des boucs sont meilleurs pour ceux qui sont élevés en groupe, notamment hétérosexués, depuis la naissance. Si non, le regroupement tardif est au contraire défavorable. Effectivement, le rassemblement des boucs faciliterait leur entretien et réduirait son coût (Orgeur *et al.*, 1987).

### **Effet de l'alimentation :**

L'alimentation influence la qualité des spermatozoïdes et des ovocytes. Elle doit être adaptée aux besoins nutritifs de l'animal. Pour l'amélioration de la production spermatique, il faut augmenter les rations avant l'utilisation des mâles. Ceci fait partie du concept nommé « focus feeding » par le professeur Martin (2009) et qui consiste à déterminer les périodes de la vie reproductive où la nutrition est critique. En effet, un apport important en contre saison pourrait être utilisé pour augmenter la reproduction, sans avoir recours aux méthodes hormonales (Blache et Martin, 2009).

### **Rythme de collecte :**

Le rythme de collecte influence la concentration en spermatozoïdes. Cependant, le rythme n'affecte pas significativement les caractéristiques de la semence après décongélation (Manfredi *et al.*, 1998).

### **Photopériode (notion jour long jour court) :**

La période de reproduction chez les caprins est régie par la lumière, plus exactement par la durée d'éclairement au cours de la journée (Gérard, 2003). Le photopériodisme concerne les boucs originaires de latitudes tempérées (supérieures à 40°) (Tuli et Holtz, 1995).

En condition naturelle, on distingue les saisons à jours longs d'inactivité sexuelle et les saisons à jours courts dites périodes de reproduction. Cette notion de jours longs et de jours courts est modulés par la sécrétion d'une hormone « la mélatonine » (Thibault et Levasseur, 2001). Cette dernière n'est excrétée par la glande pinéale du cerveau qu'en obscurité : « Les phases nocturnes transmettent un signal par le système nerveux depuis la rétine de l'œil jusqu'à la glande pinéale du cerveau et influencent la sécrétion de mélatonine (Xu, 2001) ». En jours courts, la sécrétion de mélatonine augmente, ce qui stimule la sécrétion pulsatile de GnRH qui entraîne la production de

LH et FSH. En contre saison, la diminution de mélatonine induit la baisse des hormones sexuelles. C'est ainsi que la libido des boucs diminue tout comme la qualité de la semence. De même, durant cette période la concentration augmente vu que la sécrétion de plasma séminal diminue. De plus le pourcentage de viabilité et la motilité diminues (Tuli et Holtz, 1995; Karagiannidis *et al.*, 2000).

### **L'âge :**

Une étude comparative de l'effet âge sur la qualité de la semence a été faite sur les boucs de races Alpine et Saanen. Les chercheurs avaient remarqués que la motilité et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles après congélation et décongélation étaient plus élevés pour les boucs âgés (plus de 12 mois). Cette différence n'était que de moins de 4%. Les opérateurs l'ont considérée comme négligeable.

## **III. Cryobiologie**

La cryobiologie est la science qui étudie les effets des basses températures sur les cellules vivantes et ses champs d'application. Elle a fait l'objet d'expérimentations depuis au moins 1787 (Luyet et Gehenio, 1940). C'est un domaine multidisciplinaire qui rassemble les investigations et le progrès réalisés dans la thériogénologie, la biologie moléculaire, l'ingénierie, les laboratoires de médecine humaine et vétérinaire ainsi que les élevages d'animaux terrestres et marins (Royere *et al.*, 1996).

L'objectif retentissant est de parvenir à préserver du matériel biologique à des températures cryogéniques c'est-à-dire d'extrême froid. Ceci arrête les réactions biologiques et permet son stockage indéfiniment à l'état viable. De ce fait, il pourra reprendre ses fonctions physiologiques au moment choisi.

Il est donc indispensable de comprendre les principes fondamentaux de la biophysique et de la biochimie d'un matériel biologique qu'on souhaite cryoconserver. De même pour le processus de tout protocole cryobiologique, ce qui permet de minimiser les dommages subis par les cellules et favorise une récupération maximale (Royere *et al.*, 1996).

### **A. Application de la cryobiologie**

A l'issue de la découverte inopinée des propriétés cryogéniques du glycérol par Polge *et al.*, (1949), la cryobiologie a été dans un premier temps dédiée à l'observation et à la description de l'effet des températures subphysiologiques sur différents types cellulaires et tissulaires. De ce fait,

des techniques de cryoconservation ont été développées et introduites dans plusieurs domaines. Effectivement, on cite son application en agroalimentaire pour mieux conserver les aliments; en agriculture pour l'étude de l'adaptation au froid des végétaux et des animaux; en médecine humaine pour traiter des cancers ou réaliser des transfusions, des greffes ainsi que pour la fécondation *in vitro*; en domaine de recherche tel qu'en oncologie, immunologie, thérapie génique et reproduction.

En production animale, son usage est en plein essor. D'un côté, cela permet de remédier à l'extinction de certaines souches et de préserver le matériel génétique d'animaux de haute valeur. D'un autre côté, les technologies de reproduction assistée deviennent une réalité pratique pour l'amélioration génétique et pour l'optimisation de la productivité. En effet, les cellules embryonnaires, les gamètes mâles et femelles sont conservés servant le transfert embryonnaire et l'insémination artificielle aussi bien en expérimentation qu'en pratique. (Ed Walker, John M. 2015)

### **B. Techniques de cryobiologies usuelles**

La cryoconservation se base sur l'utilisation de la propriété du froid qui est le ralentissement des réactions enzymatiques du métabolisme biochimique cellulaire. Dans ce cadre, l'application des températures très basses (-196°C) fait que le métabolisme de la cellule est figé - c'est-à-dire ralentissement trop important du cours du temps biologique jusqu'à pratiquement son arrêt -.

La préservation de la structure et de la fonction des cellules et des tissus lors de leur stockage est une condition nécessaire au succès ainsi qu'à l'utilité du processus. L'utilisation du refroidissement doit être conduit soigneusement afin d'éviter les dommages irréversibles. Ceci nécessite une parfaite analyse des mécanismes qui entrent en jeu ainsi que leur maîtrise, permettant donc de produire des conditions stables n'entravant pas la viabilité de l'échantillon (Pegg, 2015)

Les dommages que subissent les cellules lors du refroidissement ou lors du réchauffement sont principalement liés aux cristaux de glace formés. En effet, le milieu intracellulaire est aqueux. Une baisse de la température en dessous de 0°C entraîne la cristallisation de l'eau qui fait que le volume de la cellule augmente de 9%. D'une part, ceci mène à une dilatation cellulaire et à l'installation de lésions irréversibles par action mécanique directe. D'autre part, l'eau extracellulaire se cristallise aussi et provoque des dégâts mécaniques par interaction directe avec la membrane cellulaire induisant sa déformation voire sa rupture (Courbière *et al*, 2009). D'autant plus que les solutés vont se concentrer dans la phase liquide restante et induisent des dommages par changement de la

composition de cette dernière.

La vitesse de refroidissement conditionne la taille et le nombre des cristaux de glace. Ils sont proportionnels. Quant au volume, ce dernier est d'autant plus petit que la vitesse est rapide (Courbière *et al*, 2009).

En cryobiologie, deux techniques sont principalement utilisées, à savoir : la congélation lente et la vitrification ou la congélation rapide (figure N°6).

La congélation lente induit la cristallisation de l'eau extracellulaire ce qui mène à la formation de gros cristaux de glace. L'ajout de cryoprotecteurs provoque au départ une déshydratation cellulaire suivie de l'aboutissement à un volume isotonique avec une pénétration d'eau et de cryoprotecteurs. Cette eau est responsable de la lyse cellulaire partielle ou totale. L'objectif du réglage de la température est de parvenir à la déshydratation cellulaire avant qu'il y est la formation de cristaux de glaces dans les cellules. La vitesse optimale varie selon les cellules et les types de tissus (Fuller et Paynter, 2007).

L'utilisation de concentration relativement basse de cryoprotecteurs a un effet peu toxique sur les cellules et les tissus. Cependant, ce procédé est lent et nécessite des moyens onéreux (congélateur programmable qui permet un refroidissement lent et contrôlé).

Quant à la vitrification, elle a été rapportée pour la première fois en 1985 par Rall et Fahy suite à son utilisation sur des embryons de souris. Plus tard en 1993, Ali et Shelton l'ont développé dans la reproduction animale (Ciani *et al*, 2012).

Il s'agit d'un processus physique permettant d'atteindre rapidement les températures extrêmes (-196) de stockage tout en évitant la formation de cristaux de glaces par la transformation des liquides intra et extra cellulaires en un état vitreux ou amorphe. Ceci est possible grâce à l'adjonction de concentration élevée de cryoprotecteurs et à l'application d'une vitesse rapide de refroidissement. Quoique recommandée, cette technique a ses limites consistant dans la toxicité des solutés qui pourraient être diminués par l'adaptation d'une vitesse de refroidissement assez rapide pour éviter la cristallisation (Herrero *et al.*, 2011 ;Ciani *et al.*, 2012).

### **C. Cryoconservation de la semence caprine**

En 1776, Spallanzani fut le premier à rapporter des informations sur la cryoconservation de la

semence de mammifère. Ce n'est qu'en 1949 que le plus important développement a vu le jour par la découverte du glycérol et ses propriétés cryoprotectrices et des différents milieux de la semence.

En 1950, on a constaté que l'association du glycérol en plus du jaune d'œuf et des citrates augmentait l'utilisation de la semence. C'est à partir 1963 que l'azote liquide fut utilisé pour la congélation.

La cryoconservation de la semence de bouc a été réalisée pour la première fois en 1950 par Smith et ses collaborateurs. Cette méthode permet de conserver la semence à des températures très basses atteignant les  $-196^{\circ}\text{C}$ . A ces degrés, toutes les réactions intra et extracellulaires sont bloquées (biologiques, chimiques, physiques) (Bakhach *et al.*, 2007). La durée de cette conservation est très longue. De plus, elle facilite le transport de la semence et simplifie l'insémination artificielle. Cela permet donc d'accroître rapidement le cheptel, d'éviter la transmission de pathogènes due aux saillies et d'améliorer la diversité génétique du troupeau.

D'après Batista *et al.*, en 2009, la cryoconservation détériore la qualité de la semence. Les spermatozoïdes sont principalement endommagés par le stress osmotique, le choc de température et la cristallisation (Watson, 2000). De plus, certains composants des sécrétions des glandes bulbo-urétrales ont un effet délétère sur la semence du bouc.

La cryoconservation de la semence de bouc est un défi. Elle est techniquement délicate à cause des sécrétions des glandes bulbo-urétrales qui interagissent avec le jaune d'œuf et le lait écrémé produisant des substances toxiques pour les spermatozoïdes (Leboeuf *et al.*, 2000 ). De ce fait, de nombreuses recherches ont été dédiées pour le développement de méthodes alternatives remédiant aux effets des sécrétions des glandes annexes et aux limites des milieux standards.

### **1. Les étapes dans un protocole de cryoconservation chez le bouc**

Le but est de trouver un compromis entre d'une part la gestion du stress thermique: le mode, la vitesse et la température extrême de refroidissement (Mortimer, 1994; Watson, 1995) ainsi que la prévention ou la réduction de la formation des cristaux de glace (Mudrew and McGann, 1988; Devireddy *et al.*, 2000). D'autre part: la gestion du stress oxydative et osmotique aménagée par le choix des cryoprotecteurs utilisés et la détermination de leurs concentrations (Alvarez and Storey, 1992 ; Maher, 2012).

En 2012, Geneviève Maher résume le procédé de cryoconservation de la semence en 7 étapes:

- 1) La récolte de la semence fraîche.
- 2) La dilution de la semence dans un diluant.
- 3) Le retrait ou non du plasma séminal.
- 4) Le refroidissement de la semence.
- 5) L'ajout de cryoprotecteurs
- 6) La congélation de la semence.
- 7) L'entreposage de la semence dans l'azote liquide à -196°C.

### **a) La récolte de la semence**

Les techniques de la récolte de la semence chez les petits ruminants vivants sont au nombre de deux; soit en recourant à un vagin artificiel ou bien à une sonde rectale. Il existe d'autres procédés de prélèvement de la semence mais en post mortem. Les techniques utilisées sont: le rinçage épидидymaire ou encore la technique de flottaison.

#### **Récolte par vagin artificiel :**

La récolte par vagin artificiel nécessite de la patience et des heures de travail. De plus, cette méthode requiert le respect de plusieurs paramètres. A savoir : les boucs doivent être entraînés dès leur jeune âge, dans le même milieu et avec le même personnel, tout changement dans leur environnement interfèrera avec la procédure de la récolte.

Le choix des boucs doit être minutieux (choisir des mâles avec une bonne conformation zootechnique et une bonne ardeur sexuelle à la puberté). Aussi, il est préférable que l'entraînement débute en saison sexuelle, c'est-à-dire aux jours courts et aux nuits longues.

Les boucs sont mis et dressés dans des box individuels, à chaque récolte des femelles boue-en-train en œstrus sont introduites. Avant tout prélèvement, la partie abdominale et le fourreau sont lavés à l'aide d'une solution saline à 0.9% de NaCl (Baril *et al.*, 1993). Le vagin artificiel stabilisé à une température de 37°C, il est ensuite mis après interception du pénis en érection. La semence étant

récoltée sera rapidement transmise au laboratoire pour la suite des étapes.

### **La sonde rectale :**

Le principe est d'introduire au niveau du rectum une sonde préalablement lubrifiée, celle-ci est munie de deux électrodes. Après mise en place, l'opérateur exerce des stimulations intermittentes en augmentant progressivement les décharges électriques (au maximum 15V) et en alternant 0V toutes les 3 ou 5 secondes (Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2007).

Cette méthode est rapide, elle dure environ une minute, elle ne nécessite pas le dressage des boucs mais elle est douloureuse. La semence obtenue est trop diluée (le volume du plasma séminal est supérieur à la normale, cela est causé par la stimulation excessive des glandes par les électrodes ; but non recherché).

### **Le rinçage épидидymaire :**

La technique du flushing rétrograde encore appelée du rinçage épидидymaire consiste à récolter de la semence au niveau de la queue de l'épididyme, suite à la réalisation d'une pression rétrograde le long du canal déférent, à l'aide d'un liquide (ici c'est le dilueur, Andromed®) (Martinez-Pastor *et al.*, 2006).

Pour se faire, il faut d'abord débarrasser le testicule de ses enveloppes. Puis, on sépare l'épididyme avec le canal déférent attaché à ce dernier, du testicule. On individualise par la suite la queue de l'épididyme et le canal déférent du reste de l'épididyme en faisant une coupe avec une lame de bistouri près de la jonction du corps et de la queue proximale. Un volume de 2ml du dilueur chauffé à 37°C est introduit au niveau de la lumière du canal déférent qui est préalablement canulée avec une aiguille épидидymaire émoussée de 24G. La semence est alors rincée dans une direction rétrograde à partir du canal déférent vers la queue de l'épididyme. C'est au niveau de la base de la queue de l'épididyme que nous réalisons une double incision afin d'atteindre un maximum de canaux efférents. On récupère ainsi la semence dans un Eppendorf.

### **b) La dilution de la semence**

#### **Les cryoprotecteurs non pénétrants :**

Ces cryoprotecteurs sont extracellulaires, ils n'ont pas la capacité de traverser la membrane cytoplasmique. Ils ont pour rôle d'enrober les cristaux formés lors de la congélation. De ce fait, ils

protègent les cellules des lésions et des déformations induites par la glace. Comme ils sont non pénétrants, ces cryoprotecteurs ont un effet sur l'augmentation de la concentration ionique extracellulaire. Un gradient de concentration est ainsi créé. Ce dernier déshydrate les spermatozoïdes et retarde la formation de glace intracellulaire (Purdy, 2006 b). Chez le bouc, le jaune d'œuf et le lait sont les plus utilisés.

#### **Les cryoprotecteurs pénétrants :**

Ce sont des produits à faible poids moléculaire et perméables à la membrane cytoplasmique des spermatozoïdes (Bakhach *et al.*, 2007). Ils peuvent agir en intracellulaire et en extracellulaire (Purdy, 2006b). En extracellulaire, ils ont le même rôle que les cryoprotecteurs non pénétrants. En intracellulaire, les cryoprotecteurs protègent du stress osmotique causé par la déshydratation de la cellule suite à la sortie d'eau (Medeiros *et al.*, 2002) . Cette dernière diminue le point de congélation et réduit la formation de glace intracellulaire (Purdy, 2006b). Les plus connus sont le glycérol, le diméthyl sulfoxyde, éthylène glycol et propylène glycol. Chaque cryoprotecteur pénétrant peut être utilisé seul ou recombinaison avec un autre (Ritar *et al.*, 1990 a,b; Tuli and Holtz, 1994; Singh *et al.*, 1995; Kundu *et al.*, 2000; Leboeuf *et al.*, 2000)

#### **Les sucres :**

Deux types de sucre sont utilisés : les monosaccharides et les disaccharides. Leur fonction n'est pas la même: les monosaccharides étant à faible poids moléculaire peuvent traverser la membrane cytoplasmique des cellules spermatiques tandis que les disaccharides restent dans le milieu extracellulaire, jouant, donc, le rôle de cryoprotecteurs non pénétrants (Maher, 2012). Le glucose et le fructose sont les monosaccharides les plus utilisés. Quant aux disaccharides, on compte le lactose, le sucrose, le raffinose et le tréhalose.

#### **Les tampons :**

Les études menées par Salamon et son équipe en 1982 ont prouvé que l'ajout des milieux tamponnés améliore la qualité de la semence. Ils ont pour rôles d'augmenter la stabilité membranaire et de ce fait permettre une meilleure déshydratation cellulaire (Molinia *et al.*, 1994) . Après comparaison de plusieurs milieux tampons, la meilleure motilité et viabilité de la semence avant congélation et après décongélation a été observée avec le milieu Tris (Tuli et Holtz en 1992).

### **Les antibiotiques :**

Ils ont pour rôle d'inhiber la multiplication des germes contenus dans la semence. Les cryoprotecteurs ont pour fonction la protection des microorganismes. Si par malheur la semence est contaminée et les antibiotiques ne sont pas ajoutés au protocole, il y'aura persistance des germes et leur conservation. De ce fait, la semence présente un potentiel infectieux éventuellement grave.

#### **c) Le retrait ou non du plasma séminal**

Le retrait du plasma séminal est réalisé uniquement quand le milieu de conservation est pourvu de jaune d'œuf ou de lait. En effet, les enzymes du plasma séminal (BUSgp60, EYCE) ont un effet délétère sur la viabilité des spermatozoïdes à cause des interactions de l'EYCE et la lécithine du jaune d'œuf (Leboeuf *et al.*, 2003) et du BUSgp60 avec les triglycérides du lait (Pellicer et Combarrous, 1998).

#### **d) Refroidissement**

Le refroidissement a pour but de minimiser les chocs thermiques. La semence est placée au frais à des températures entre 4 et 15 °C durant une à quatre heures (Leboeuf *et al.*, 2000; Batista *et al.*, 2009).

#### **e) Congélation**

La congélation de la semence peut être faite sous forme de paillettes de 0,25ml ou de pellets (pastilles) (Leboeuf, 2003). La conservation diffère selon la forme utilisée :

- Paillettes: peuvent être mises dans une machine réglable qui abaissera la température selon nos programmations ou manuellement en mettant les paillettes horizontalement au-dessus de l'azote liquide (dans sa vapeur) (Baril *et al.*, 1993).
- Pellets (pastilles): la procédure est différente, ils sont congelés à -70°C sur de la neige carbonique puis introduits dans l'azote liquide à -196°C. On peut remplacer la neige carbonique par de la glace sèche à -79°C durant 3 à 4 minutes (Baril *et al.*, 1993).

Les études de Mazur en 1963 et de Drobnis et son équipe (1997) rapportent que les dommages cellulaires ont lieu durant deux périodes: pendant l'ajout des diluants et au changement thermique entre -15°C et -60°C. La publication récente de Bakhach en 2007 appuie l'idée précédente, de plus, ces recherches plus avancées précisent que les lésions cellulaires se font essentiellement

durant la phase de refroidissement de la semence aux températures suivantes: 35 à 15°C et de 0 à -80°C.

#### **f) Entreposage**

La température de l'azote liquide est de -196°C. A ces degrés, toutes les réactions cellulaires sont figées ( Bakhach *et al.*, 2007). De ce fait, la semence peut être conservée durant des centaines d'année sans être lésée. Le maintien de l'azote dans sa forme liquide est obligatoire, toute évaporation conduira à une variation de température.

#### **g) Décongélation**

Durant la décongélation, les cristaux se reforment (Watson, 1990) et peuvent induire des lésions cellulaires. Elle peut se faire à de multiples vitesses mais la plus usuelle est à une température de 37°C pendant 30 secondes. Cette méthode est la plus facile à appliquer lors d'insémination artificielle (Leboeuf, 2003). De plus, cette méthode s'est avérée meilleure qu'une décongélation à 5°C durant 2 minutes. En effet à 37°C, Deka et Rao (1987) avaient noté une amélioration de la motilité et du taux des acrosomes normaux.

### **2. Evaluation de la qualité de la semence**

#### **a) Evaluation macroscopique**

##### **Volume :**

Plusieurs facteur influence le volume d'une semence : méthode de récolte, saison, l'individu...etc. En moyenne le volume de l'éjaculat d'un bouc adulte est de 1 à 1,5 ml.

##### **Aspect :**

Le sperme d'un animal sain est épais, crémeux à consistance laiteuse. Plus le plasma séminal est excrété plus le sperme est dilué.

##### **pH :**

La mesure du pH se fait à l'aide d'un pH-mètre ou un papier indicateur. Sa valeur doit être entre l'intervalle de 6.5 et 6.8. Pour une valeur exacte, le calcul du pH doit se faire le plus rapidement possible. Le fructose contenu dans le plasma séminal abaisse le pH par sa transformation en acide

lactique.

**Couleur :**

La couleur d'une semence saine est blanchâtre. Une couleur jaunâtre signifie qu'il y'a présence d'urine. Une couleur rouge ou brunâtre nous oriente vers la présence de sang ou d'éléments sanguins dégénérés.

**b) Evaluation microscopique**

**Motilité massale :**

Cette manipulation est très facile à réaliser et l'opérateur n'a besoin que d'un microscope avec une platine chauffante (37-38°C) et de lame en verre. Comme la motilité massale du sperme pur diminue rapidement à cette température (15 à 20 secondes), la vue microscopique se fait directement après récolte de la semence.

Cet acte permet d'apprécier la motilité massale des spermatozoïdes en utilisant un grossissement de x 80 et seulement une lame sans la lamelle. Cette méthode permet de différencier la semence avec des spermatozoïdes mobiles de celle où ils sont peu mobiles ou immobiles.

Des notes d'appréciation de la qualité sont données dans le tableau N°5.

**Mobilité individuelle :**

Cette opération permet d'observer individuellement chaque spermatozoïde avec la possibilité de classer chacun selon sa vitesse, sa rectitude, et ses mouvements latéraux. Elle se fait avec un grossissement de x 200 et une platine chauffée à une température de 37- 38°C. Dans cette technique, le sperme est dilué à 60 et 200 x 10<sup>6</sup> spermatozoïdes/ml. Puis, il est mis sous lame et lamelle. Comme pour la motilité massale, la motilité individuelle est notée entre 0 et 5 (Tableau N°6).

**c) Le spectrophotomètre**

Le spectrophotomètre permet de calculer la densité optique d'un produit dans une longueur d'onde donnée et de déduire sa concentration. Cette technique repose sur la loi de Beer Lambert qui relie l'absorbance d'un produit à sa concentration :

**Formule 1 :  $A = \epsilon \times l \times c$**

Le spectrophotomètre fait ce calcul à la place du praticien. Dans le cas de la semence caprine la longueur d'onde est de 550 nanomètres. Les résultats sont obtenus après comparaison de la densité optique d'un blanc (solution saline formolée) avec la solution contenant de la semence.

Après introduction dans les données du spectrophotomètre la longueur d'onde, le volume de l'éjaculat et le nombre de spermatozoïdes voulu dans chaque paillette. Cet appareil nous renseigne sur la concentration de la semence, le volume du dilueur à ajouter et le nombre de paillettes obtenues. La concentration de la semence éjaculée varie de 2 à  $10 \times 10^9$  spz/ml.

**d) CASA (Computer Assisted Semen Analysis)**

CASA est un système d'analyse de la semence assistée par ordinateur. Cette méthode permet d'obtenir des résultats précis sur la moyenne de spermatozoïdes mobiles et la qualité de leurs mouvements. Il suit aussi chaque spermatozoïde dans le temps et l'espace. Plusieurs paramètres peuvent être étudiés grâce à ce procédé, ceux qui nous ont intéressés dans notre recherche sont : ALH, VSL, VCL, BCF, VAP (figure N°7). CASA utilise la comparaison de ces paramètres pour détecter les spermatozoïdes capacités. Ces tests peuvent être appliqués sur un semence fraîche, réfrigérée ou congelée (Rijsselaere *et al.*, 2005; Allimant, 2010).

**3. Les facteurs physiques endommageant la semence lors de la congélation**

Certains facteurs physiques endommagent la semence lors de la congélation. Le tableau N°7 évoque l'influence des étapes de la congélation sur la semence. En effet, le choc thermique cause une désorganisation des lipides membranaires des spermatozoïdes bloquant, ainsi, leurs fonctions métaboliques (Medeiros *et al.*, 2002; Bakhach *et al.*, 2007). De plus, la cristallisation extracellulaire induit une modification chimique du milieu. Celle-ci déforme la cellule (Bakhach *et al.*, 2007). Tandis qu'une formation de glace à l'intérieur associée à une déshydratation peut détériorer les organelles (Bakhach *et al.*, 2007).

Quant au stress osmotique, la cristallisation extracellulaire augmente l'osmolarité de l'eau provoquant sa sortie qui déshydrate les spermatozoïdes. Une limite de tolérance osmotique doit, donc, être bien prise en compte.

#### **4. Evolution des protocoles de congélation**

De nombreux travaux de recherche ont été élaborés dans l'espoir de développer le meilleur moyen pour la conservation de la semence de bouc. Les premiers avaient utilisés les cryoprotecteurs artisanaux tels que le jaune d'œuf et le lait écrémé (Corteel, 1974 ; Maher, 2012). Le jaune d'œuf et de plus en plus remplacé par la LDL. D'autres ont opté pour l'adjonction de molécules bénéfiques pour la cellule spermatique comme l'antioxydant (la vitamine E) ou bien le rajout de sucre comme le tréhalose, ou bien d'acides aminés (L-alanine, L-proline, glycine, L-glutamine, histidine). Même le SDS (dodécylsulfate de sodium) a été utilisé pour sa propriété de solubilisation du jaune d'œuf.

Dans la mesure où des investigations deviennent de plus en plus laborieuses, l'emploi de protocoles à base de produits semi synthétiques voire synthétiques a vu le jour (Hinsch *et al.*, 1997; Gilet *al.*, 2003). Par exemple Bioexcell® (IMV, L'Aigle, France) qui est un milieu exempt de matière biologique, peut être utilisé pour la semence caprine sans la nécessité de la centrifuger (data non shown). C'est notamment par ce genre d'avancée dans les nouveaux protocoles qu'on prétend à une facilité de la manipulation, une satisfaction de la sécurité sanitaire et une production intensive.

# Partie expérimentale

## **Rappel de l'objectif :**

L'objectif de cette étude est d'appliquer le milieu de cryoconservation, Andromed®, chez l'espèce caprine en Algérie. Ce milieu est déjà utilisé, par le CNIAAG, pour la conservation de la semence bovine. Comme il est aussi indiqué pour la semence de l'espèce caprine, nous l'avons utilisé, pour la première fois en Algérie, pour la semence de boucs issus d'élevages locaux. Par ailleurs, nous avons tenté, dans un second temps, d'introduire un additif cryoprotecteur, la cyclodextrine, dans le but d'améliorer le milieu de cryoconservation.

## **I. Matériels et méthodes**

### **A. Matériels**

#### **1. Lieux de l'expérimentation**

L'expérimentation a eu lieu dans trois établissements différents : l'ITELV (Institut des Techniques d'Elevages), le CNIAAG (Centre Nationale d'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique) qui est le seul centre de production de semence animale (bovine) en Algérie et enfin, le laboratoire de reproduction de l'université de Béjaia.

En effet, l'Itelv servait comme source de boucs sur lesquels on a récolté notre semence. Cette dernière était, par la suite, traitée et conservée au CNIAAG avant d'être évaluée à l'université de Béjaia.

#### **2. Animaux**

Trois (03) boucs ont servi l'étude :

- Deux (02) boucs de population Arabya : le premier, 2 ans et demi d'âge, est à l'origine de la semence épидidymaire (A), le deuxième, 3 ans d'âge, utilisé pour l'électro-éjaculation (B).
- Le 3<sup>ème</sup> bouc est de race Alpine, âgé de 3 ans et demi, utilisé, aussi, pour l'électro-éjaculation(C).

### 3. Semence

Dans un premier temps, nous avons travaillé sur de la semence épидидymaire, ensuite, sur de la semence éjaculée obtenue par l'électro-éjaculateur.

### 4. Cryoprotecteurs

ANDROMED® (Minitüb, Tiefenbach, Germany) noté AD :

Produit commercialisé sous forme de solution composée de : Tris, phospholipides, acide citrique, sucre, antioxydant, solution tampon, glycérol, eau, antibiotiques (lincomycine, spectinomycine, gentamicine, tylosine), aucun produit d'origine animale. ANDROMED® est utilisé par le CNIAAG, uniquement, pour la cryoconservation de la semence de taureaux.

Le dilueur à base d'Andromed est obtenu par le rajout à 4 volumes d'eau bidistillée pour 1 volume de la solution ANDROMED®. Le dilueur, ainsi préparé, est conservé à 37°C au bain-marie 20 min avant le début de la manipulation.

ANDROMED® + Cyclodextrine, noté AD C :

Nous avons établi une association d'ANDROMED® + Cyclodextrine. La cyclodextrine étant un produit d'origine naturelle, un oligomère cyclique obtenue suite à la dégradation de l'amidon par certaines bactéries ou bien de l'amylose par des enzymes donnant lieu à 6-8 molécules de glucose qui sont hydrophiles et qui peuvent transporter des molécules hydrophobes, tel le cholestérol (Lusignan, 2011).

Elle est connue pour ses vertus protectrice et amélioratrice de la semence chez d'autres espèces animales notamment bovine, ovine et caprine. La cyclodextrine doit son effet bénéfique à sa structure chimique qui joue le rôle d'hôte accueillant les molécules hydrophobes pour les rendre solubles. Autrement dit, elle protège davantage la membrane cytoplasmique des spermatozoïdes en favorisant la préservation de son intégrité lors de son exposition directe au choc de cristallisation. Nous voulions tester cette propriété chez le bouc.

## **5. Matériels d'évaluation de la concentration et de la qualité de la semence avant et après conservation**

- **Microscopes optiques** (OPTIKA®, HT50 minitüb® respectivement pour l'évaluation de la motilité massale et mobilité individuelle).
- **Spectrophotomètre** (imv technologies®) pour déterminer la concentration.
- **CASA** pour l'évaluation de la qualité de la semence et le pouvoir capacitant après congélation/décongélation.

## **6. Matériels de conditionnement de la semence pour la congélation**

LINX 6800® (imv® technologies) MRS 3: Il s'agit d'une machine à triple fonction : remplissage, sondage et impression, le tout s'effectue à une température de 4°C grâce à une vitrine réfrigérante.

## **7. Outils de congélation classique**

Nous avons utilisé une machine de refroidissement programmable qui fonctionne selon une courbe de refroidissement standard (minidigitcool, imv technologies®) et la bonbonne d'azote liquide.

## **8. Analyses statistiques :**

Pour l'analyse statistiques des résultats, nous avons utilisé le logiciel statistique Statview ®.

## **B. Méthodes**

### **1. Récolte de la semence de bouc**

#### **a) Semence épидидymaire**

Les testicules récupérés directement suite à l'abattage du bouc (A), sont acheminés au laboratoire l'un (1) dans un sac isotherme à une température de 37°C, l'autre (2) dans un sac isotherme avec un pain de glace à 4°C.

#### Testicule (1) :

Nous avons démarré l'expérience sur le premier testicule 1h30 après l'abattage. Un volume de 2ml

du dilueur d'Andromed® a servi le flushing rétrograde. Nous avons récolté 2,3 ml de semence dans un cryotube Nunc qu'on a mis en incubation au bain-marie à 37°C pendant 10 minutes avant l'analyse de la semence de l'épididyme (Ep1).

Testicule (2) :

De la même manière, nous avons effectué la même manipulation sur le deuxième testicule 3 heures et demi après le premier. Et pendant ce temps, le testicule est conservé au réfrigérateur à 4°C. L'introduction d'un volume de 2ml du dilueur Andromed® a permis de récolter 2,2ml. Le cryotube Nunc est mis en incubation au bain-marie à 37°C, 10 minutes avant l'analyse de la semence de l'épididyme (Ep2).

**b) Semence éjaculée**

La semence des boucs (B) et (C) au volume de 2 ml chacune est maintenue dans les cônes à une température de 37°C pendant 30 minutes avant le début de l'analyse. La semence du bouc (B) est désignée par (Ej1) et la semence du bouc (C) par (Ej2).

Le matériel utilisé pour la récolte de la semence par électro-éjaculation: désinfectant, électro-éjaculateur, deux cônes de récolte de semence de petits ruminants, vaseline, eau tiède (37°C).

**2. Evaluation de la semence fraîchement récoltée**

**a) Détermination de la motilité massale**

Une microgoutte de la semence est mise sur une lame et observée sous l'objectif x10 du microscope optique pour apprécier la motilité massale.

**b) Détermination de la mobilité individuelle**

Une microgoutte de la semence est prélevée à l'aide d'une micropipette réglable (10 µl) dans un Eppendorf et est diluée au 1/100 dans le dilueur Andromed®, puis mise entre lame et lamelle et observée sous l'objectif x40 du microscope optique pour l'appréciation de la mobilité individuelle.

**3. Protocole de cryoconservation utilisé**

Avant de procéder à la cryoconservation de la semence, cette dernière est évaluée en termes de concentration qui conditionnera le taux de dilution et le nombre de paillettes à produire. Pour ce

faire, un pipeteur automatique (HAMILTON 500 series microlab®) aspire 1 volume de la semence qu'on verse dans une cuvette à spectrophotomètre complétée de 4 volumes d'NaCl isotonique. On procède, par la suite, à la lecture de la semence par un spectrophotomètre (imv® technologies), préalablement calibré pour les petits ruminants, à une longueur d'onde  $\lambda=530\text{nm}$ .

Le spectrophotomètre automatisé permet d'indiquer le nombre de spermatozoïdes (concentration) contenu dans l'échantillon, le taux de dilution requis pour une concentration choisie par paillette et le nombre de paillettes qui en résulte sur la base de ces indicateurs.

#### **a) Dilution**

Dans le cadre de notre travail, nous avons opté pour l'application de deux protocoles. Dans un premier temps, nous avons jugé intéressant de tester l'Andromed® (AD), un produit commercialisé prêt à l'emploi, de bonne efficacité chez les bovines, et indiqué pour les autres espèces, notamment, l'espèce caprine pour laquelle il n'a jamais été utilisé localement. Pour cela, dans une éprouvette graduée de 200 ml, nous avons rajouté à un volume de semence de chaque échantillon, un volume adéquat de la solution du dilueur AD. Ainsi, nous appliquons le premier protocole à tous les échantillons.

Quant au deuxième protocole, nous avons utilisé l'Andromed® + Cyclodextrine (AD C). En effet, en plus du dilueur AD, nous rajoutons la cyclodextrine à une concentration de 2mg/100 millions de spermatozoïdes selon les normes établies (Awad 2011 ; Mocé and Graham, 2010).

#### **b) Mise en paillette, bouchage et impression**

Après introduction du code d'identification dédié à chaque échantillon selon l'origine de la semence dans le logiciel relié à l'automate MRS3, l'échantillon contenu dans un flacon est introduit dans la chaîne de production et l'aspiration automatique de la semence traitée dans les paillettes démarre. Le bouchage des paillettes s'en suit par pression thermique. L'impression des codes sur les paillettes pour la traçabilité s'effectue à la fin de l'opération. Par la suite, les paillettes contenant la semence traitée sont mises sur des chariots avant de les introduire dans la machine de refroidissement programmable.

**Tableau 1 : Identification des paillettes**

Echantillon	Identification des paillettes	
	Milieu AD	Milieu AD C
<b>1</b>	T1 andro-bouc	T1 andro-cl-bouc
<b>2</b>	T2 andro-bouc	T2 andro-cl-bouc
<b>3</b>	Arb Andro	Arb Andro-cl
<b>4</b>	Alp Andro	Alp Andro-cl

**1**= Ep1 ; **2** = Ep2 ; **3**= Ej1 ; **4**=Ej2

### c) Equilibration

L'équilibration consiste à laisser les paillettes dans la vitrine réfrigérante à +4°C pendant une durée déterminée afin de permettre la stabilisation de la semence traitée avant qu'elles ne confrontent les basses températures c'est-à-dire -196°C.

**Tableau 2 : temps d'équilibration pour chaque échantillon**

Echantillons	Temps d'équilibration
<b>1</b>	<b>14h</b>
<b>2</b>	<b>14h</b>
<b>3</b>	<b>1h30</b>
<b>4</b>	<b>1h</b>

### d) Congélation

Nous avons utilisé la méthode classique ou la congélation lente. Puisque le laboratoire est déjà doté de la machine de refroidissement programmable. Après 7 minutes d'incubation où la température chute de 4°C à -140°C, les paillettes sont entreposées, directement, dans la bombonne d'azote liquide à -196°C.

**e) Décongélation**

Suite à la congélation, les paillettes sont retirées de l'azote liquide et décongelées au bain-Marie à 37°C pendant 30 secondes.

**f) Evaluation de la semence après congélation par CASA**

L'évaluation de la qualité de la semence après décongélation est effectuée grâce au système **CASA** qui permet d'analyser les paramètres de qualité de la semence : VSL (pour la qualité de la semence) ; VCL, ALH, BCF (pour estimer la capacitation de la semence). Pour cela, une microgoutte est retirée de chaque paillette est mise sur cellule MAKLER (SEFI-medecine instrument) pour être observer sous microscope à contraste de phase optique trioculaire (Nikon, Eclipse E200). Le système CASA est équipé d'une plaque chauffante à 37°C et d'une caméra numérique Basler Vision Technologies, Allemagne). La caméra est reliée à un ordinateur par une interface IEEE 1394. Les séquences vidéos sont analysées et enregistrées en utilisant un logiciel). SCA (Sperm Class Analyser 4.0, 2014, Microptic SL, Barcelone, Espagne).

## II. Résultats

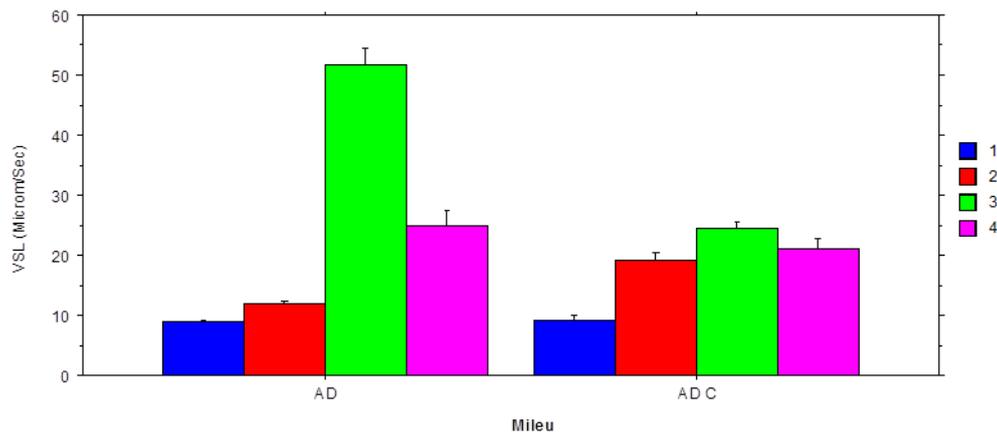
La qualité de la semence avant congélation a été estimée sur la base de la motilité massale et la mobilité individuelle. Seule la semence ayant obtenu un score supérieur à 3,5 a été retenue pour la congélation.

Suite à la congélation-décongélation, chaque échantillon est évalué par le système CASA. Les données recueillies sont introduits dans le logiciel de statistiques (STATVIEW) et traduites en histogrammes et tableaux récapitulatifs.

**Tableau N° 3 : variations des différentes conditions appliquées aux échantillons.**

	Temps Transport	T°	Temps avant manipulation	Temps d'équilibration
Ej1 AD (3)	15min	37°C	15min	1h30
Ej1 AD C (3)	15min	37°C	15min	1h30
Ej2 AD (4)	15min	37°C	15min	1h
Ej2 ADC (4)	15min	37°C	15min	1h
Ep2 AD C (2)	30min	4°C	3h30	14h
Ep2 Ad (2)	30min	4°C	3h30	14h
Ep1 ADC (1)	30min	37°C	1h	14h
Ep1 AD (1)	30min	37°C	1h	14h

Le tableau N°3 résume les différentes conditions subies par les différentes semences.



**Figure N° 1 : graphe représentatif de la variation de la VSL entre les quatre échantillons selon le milieu utilisé (AD ou ADC)**

Selon le graphe (figure N°1), la meilleure VSL est enregistrée pour l'échantillon 3 (Ej1) et l'échantillon 4 (Ej2). Quant aux échantillons issus de la semence épидидymaire, la VSL est plutôt faible ce qui traduit une mauvaise qualité de la semence après congélation-décongélation.

**Tableau N°4 : Résultats comparatives de la VSL en fonction des deux milieux pour chaque échantillon**

Unpaired Means Comparison for VSL  
 Grouping Variable: Milieu  
 Split By: Te  
 Hypothesized Difference = 0

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
AD, ADC: Total	-4,531	3322	-4,936	<,0001	-6,041	-3,021
AD, ADC: 1	-,111	1048	-,151	,8800	-1,318	1,097
AD, ADC: 2	-7,352	684	-6,392	<,0001	-9,246	-5,458
AD, ADC: 3	27,110	959	10,794	<,0001	22,974	31,245
AD, ADC: 4	3,885	625	1,371	,1708	-,782	8,553

Selon le tableau N°4, la VSL varie globalement entre le protocole AD et le protocole ADC.

Cette variation n'est statistiquement significative ( $p < 0,0001$ ) en faveur de l'Andromed® seul que pour les échantillons 2 et 3.

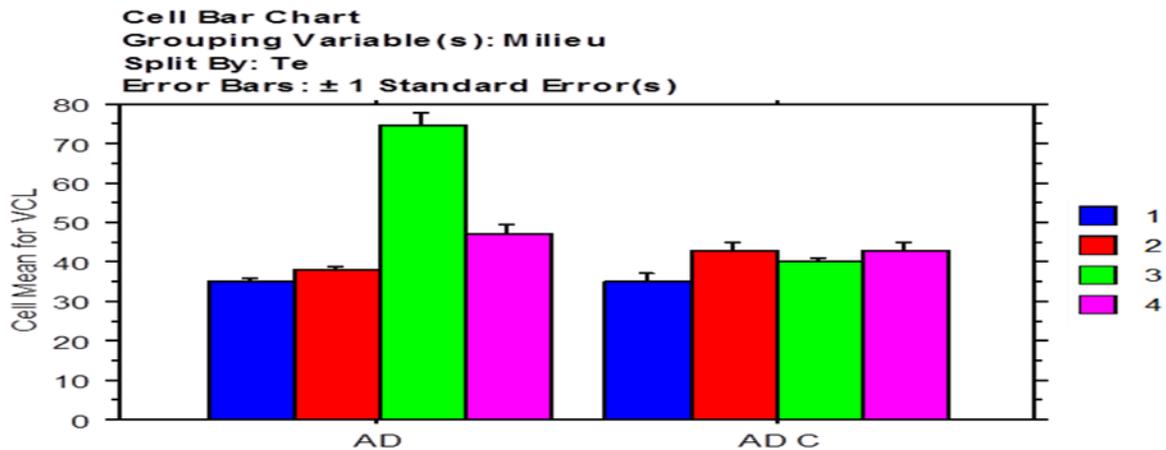
**Tableau N°5 : Variation de VSL en fonction du milieu pour les différents types de semence**

**Unpaired Means Comparison for VSL**  
**Grouping Variable: Sperme**  
**Split By: Milieu**  
**Hypothesized Difference = 0**

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
Ej, Ep: Total	16,448	3322	18,964	<,0001	15,021	17,875
Ej, Ep: AD	26,087	1892	21,162	<,0001	24,058	28,116
Ej, Ep: AD C	9,770	1428	5,824	<,0001	7,009	12,530

Selon le tableau N°5, il existe une variation statistiquement significative ( $p < 0,0001$ ) de la VSL entre l'éjaculat et le sperme épидидymaire en milieu AD, ainsi qu'en milieu AD C.

L'échantillon 3 en provenance du bouc de population Arabya, présente une meilleure VSL que l'échantillon 4 provenant du bouc de race Alpine.



**Figure N° 2 : Graphe représentatif de la variation de la VCL entre les quatre échantillons selon le milieu utilisé (AD ou AD C)**

La VCL selon la figure N°2 est plus importante pour les éjaculats tout en restant élevée pour la semence épидидymaire.

La VCL la plus élevée concerne l'échantillon 3 (Ej1).

**Tableau N°6 : Résultats comparatives de la VCL en fonction des deux milieux pour chaque échantillon**

**Unpaired Means Comparison for VCL**

**Grouping Variable: Milieu**

**Split By: Te**

**Hypothesized Difference = 0**

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
AD, ADC: Total	1,442	3322	1,256	,2091	-,447	3,332
AD, ADC: 1	-,181	1048	-,086	,9316	-3,647	3,286
AD, ADC: 2	-5,412	684	-2,284	,0227	-9,315	-1,509
AD, ADC: 3	34,967	959	12,880	<,0001	30,497	39,437
AD, ADC: 4	4,327	625	1,312	,1900	-1,106	9,760

Selon le tableau N°6, les valeurs de la VCL quoique élevées pour tous les échantillons, elle ne varie pas selon le milieu utilisé.

**Tableau N°7 : Variation de la VCL en fonction du milieu pour les différents types de semence**

**Unpaired Means Comparison for VCL**

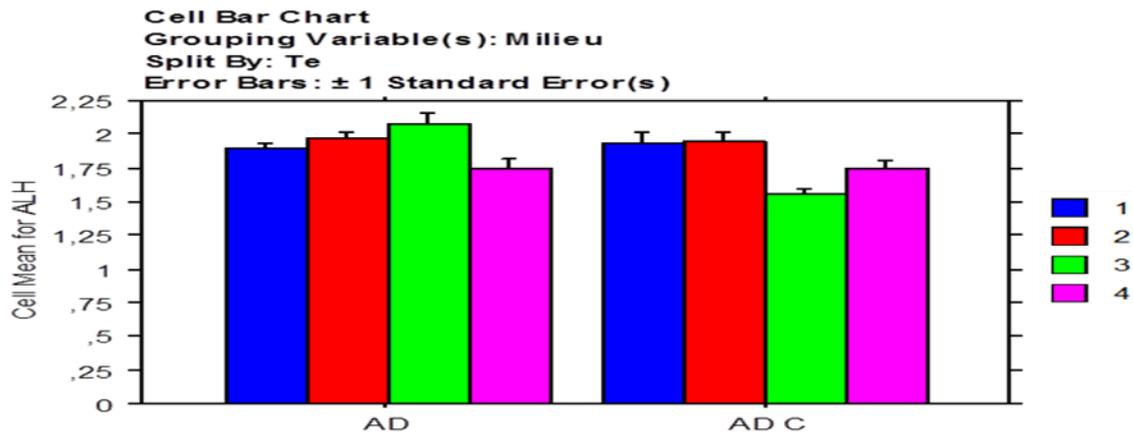
**Grouping Variable: Sperme**

**Split By: Milieu**

**Hypothesized Difference = 0**

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
Ej, Ep: Total	9,659	3322	8,578	<,0001	7,806	11,511
Ej, Ep: AD	22,802	1892	13,341	<,0001	19,989	25,615
Ej, Ep: AD C	2,091	1428	1,043	,2970	-1,208	5,390

Selon le tableau N°7, il existe une variation statistiquement significative ( $p < 0,001$ ) de la VCL entre la qualité des éjaculats et celle de la semence épидидymaire.



**Figure N° 3 : Graphe représentatif de la variation de l'ALH entre les quatre échantillons selon le milieu utilisé (AD ou AD C)**

La figure N°3 montre que l'ALH la plus importante concerne la semence épидидymaire.

**Tableau N°8 : Résultats comparatives de l'ALH en fonction des deux milieux pour chaque échantillon**

Unpaired Means Comparison for ALH  
 Grouping Variable: Milieu  
 Split By: Te  
 Hypothesized Difference = 0

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
AD, AD C: Total	,225	3322	6,306	<,0001	,166	,284
AD, AD C: 1	-,033	1048	-,365	,7148	-,182	,116
AD, AD C: 2	,021	684	,211	,8332	-,141	,183
AD, AD C: 3	,515	959	7,658	<,0001	,404	,625
AD, AD C: 4	,008	625	,090	,9284	-,134	,150

Selon le tableau 8, il existe dans l'ensemble, une variation significative ( $p < 0,0001$ ) de l'ALH entre le milieu AD et le milieu AD C.

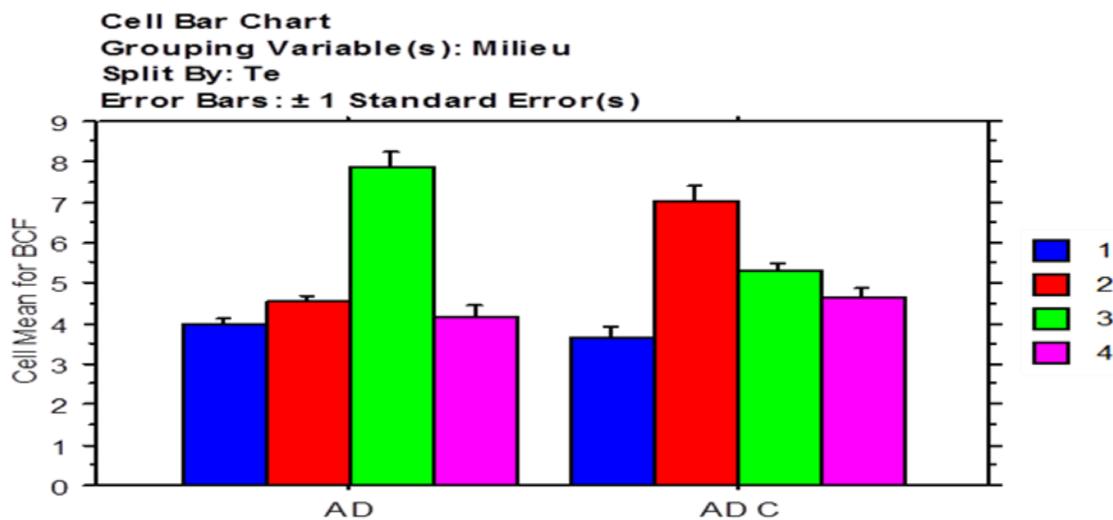
Par contre, la variation significative de l'ALH entre le milieu AD et le milieu AD C ne concerne que l'échantillon 3 (Ej1).

**Tableau N°9 : Variation de l'ALH en fonction du milieu pour les différents types de semence**

Unpaired Means Comparison for ALH  
 Grouping Variable: Sperme  
 Split By: Milieu  
 Hypothesized Difference = 0

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
Ej, Ep: Total	-,226	3322	-6,389	<,0001	-,284	-,168
Ej, Ep: AD	-,035	1892	-,605	,5453	-,130	,060
Ej, Ep: ADC	-,317	1428	-5,457	<,0001	-,413	-,222

Le tableau 9, nous montre qu'il existe globalement une variation significative ( $p < 0,0001$ ) de l'ALH entre les éjaculats et la semence épидидymaire, notamment pour le milieu AD C.



**Figure 4 : Graphe représentatif de la variation du BCF entre les quatre échantillons en fonction du milieu (AD ou ADC)**

La figure 4 montre une BCF importante pour tous les échantillons.

**Tableau N°10 : Résultats comparatives de la BCF en fonction du milieu pour chaque échantillon**

**Unpaired Means Comparison for BCF**

**Grouping Variable: Milieu**

**Split By: Te**

**Hypothesized Difference = 0**

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
AD, ADC: Total	-,517	3322	-3,503	,0005	-,759	-,274
AD, ADC: 1	,355	1048	1,298	,1946	-,095	,805
AD, ADC: 2	-2,469	684	-6,793	<,0001	-3,067	-1,870
AD, ADC: 3	2,539	959	6,725	<,0001	1,917	3,161
AD, ADC: 4	-,456	625	-1,291	,1971	-1,038	,126

Selon le tableau 10, il n'existe pas de variation significative ( $p < 0,0001$ ) de la BCF entre les deux milieux utilisés en général. Cependant, c'est le contraire pour les échantillons 2 et 3.

**Tableau N°11 : Variation de BCF en fonction du milieu pour les différents types de semence**

**Unpaired Means Comparison for BCF**

**Grouping Variable: Sperme**

**Split By: Milieu**

**Hypothesized Difference = 0**

	Mean Diff.	DF	t-Value	P-Value	90% Lower	90% Upper
Ej, Ep: Total	,915	3322	6,283	<,0001	,675	1,154
Ej, Ep: AD	1,528	1892	7,235	<,0001	1,181	1,876
Ej, Ep: ADC	-,030	1428	-,107	,9146	-,494	,434

Selon le tableau 11, une variation significative ( $p < 0,0001$ ) de la BCF est observée en milieu AD pour les éjaculats et la semence épидидymaire.

**Tableau N° 12 : Récapitulatif des résultats descriptifs des différents paramètres pour les différents échantillons et en fonction du milieu.**

	VCL	ALH	BCF	VSL	APPRECIATION
<b>Ej1 AD</b> (3)	↗	↗	↗	↗	<b>BONNE</b>
<b>Ej1 ADC</b> (3)	↗	↗	↗	↘	Faible
<b>Ej2 AD</b> (4)	↗	↗	↗	↘	Faible
<b>Ej2 ADC</b> (4)	↗	↗	↗	↘	Faible

## Résultats

---

Ep2 <b>ADC</b> (2)	↗	↗	↗	↘	Faible
Ep2 <b>AD</b> (2)	↗	↗	↗	↘	Faible
Ep1 <b>ADC</b> (1)	↗	↗	↗	↘	Faible
Ep1 <b>AD</b> (1)	↗	↗	↗	↘	Faible

### III. Discussion

L'objectif de cette étude est d'appliquer le milieu de cryoconservation, Andromed®, chez l'espèce caprine en Algérie. Ce milieu est déjà utilisé, par le CNIAAG, pour la conservation de la semence bovine. Comme il est, aussi, indiqué pour la semence de l'espèce caprine, nous l'avons utilisé, pour la première fois en Algérie, pour la semence de boucs issus d'élevages locaux. Par ailleurs, nous avons tenté, dans un second temps, d'introduire un additif cryoprotecteur, la cyclodextrine, dans le but d'améliorer le milieu de cryoconservation.

Au vu des résultats obtenus, il est possible de conserver la semence caprine en Algérie. En effet, après décongélation, tous les échantillons des différents types de semence (éjaculés ou épидидymaires) et des différentes races (Alpine et Arabya) ont montré une mobilité mais à des niveaux différents. En effet, le meilleur résultat est obtenu pour la semence éjaculée de la population Arabya, qui a montré une VSL importante indicatrice de la bonne qualité du sperme. Par ailleurs, ces résultats sont en faveur d'Andromed®, utilisé seul, indiquant que la cyclodextrine en association avec l'Andromed® n'améliore pas la qualité de la semence.

Certains auteurs ont rapporté l'effet bénéfique de la cyclodextrine. En effet, une fois ajoutée dans le milieu de congélation, elle améliore la qualité de la semence et augmente sa fertilité (Zeng et Terada, 2001).

Dans le cas de notre étude, nous n'avons pas observé cet effet positif bien au contraire les paramètres de qualité sont diminués. Ceci pourrait être expliqué par une éventuelle interaction entre un composant lipophile existant dans d'Andromed®, qui empêcherait la stabilisation de la membrane phospholipidique, d'où une capacitation prématurée importante démontrée par une BCF, VCL, et ALH élevés.

Une différence importante dans la qualité de la semence, entre l'éjaculat en provenance du bouc Arabya et celui issu du bouc de race Alpine en faveur du premier. Cette différence de qualité pourrait être expliquée par le fait que le bouc de population autochtone Arabya ne soit pas affecté par le photopériodisme et, par conséquent, sa semence pourrait être produite durant toute l'année tout en conservant sa qualité. En revanche, le bouc de race Alpine, saisonné dans sa région d'origine (Delgadillo *et al.*, 1991 ;Tuli et Holtz, 1995), garderait cette saisonnalité et auquel cas il se retrouve en contre-saison sexuelle (Gérard Brice, 2003).

Les résultats de nos expérimentations indiquent aussi que la semence éjaculée est meilleure en qualité que celle issue de l'épididyme. En effet, tous les paramètres de qualité VCL, BCF, ALH se sont révélés élevés avec une VSL basse. Ces résultats pourraient être dus à un temps d'équilibration trop élevé (14h) avant la congélation.

Par ailleurs, la semence épидидymaire Ep1 s'est révélée statistiquement meilleure en qualité que celle de l'Ep2. Ceci pourrait être dû au temps d'attente avant traitement de l'Ep2 supérieure de 2h 30 par rapport l'Ep1.

La semence épидидymaire Ep2 en milieu associant la cyclodextrine à l'Andromed® a montré les résultats les plus bas en qualité. Ceci semble être dû à un temps d'exposition à la cyclodextrine qui dépasse largement ce qui est recommandé à savoir 1h-3h (Corteel, 1974).

### **IV. Conclusion**

D'après nos résultats, il est possible de congeler, en Algérie, la semence de l'espèce caprine avec le milieu Andromed® utilisé habituellement par le CNIAAG pour le bovin.

L'ajout de la cyclodextrine qui est un cryoprotecteur améliorant la qualité de la semence, n'a pas été bénéfique et ce quel que soit le type d'éjaculat et la race/population caprine utilisés durant l'expérimentation.

La collecte de la semence avec un vagin artificiel nécessite un entraînement préalable des boucs et l'usage de l'électro-éjaculateur est très contraignant aussi bien pour l'opérateur que pour l'animal lui-même.

Un temps d'équilibration élevé, dépassant les normes admises (1-3h), se répercute négativement sur la qualité de la semence.

La population Arabya donne de meilleurs résultats dans les conditions qui ont prévalu dans notre expérimentation.

### **V. Recommandations**

Suite à notre travail expérimental et les résultats qui en ont découlés, nous recommandons les points suivants :

- Réaliser d'autres expériences sur un plus grand effectif pour confirmer les résultats obtenus.
- Procéder à l'insémination artificielle des chèvres à partir de la semence qui s'est révélée de meilleure qualité afin d'en étudier la fertilité.
- Entraîner les boucs pour la récolte de la semence avec le vagin artificiel afin d'éviter les contraintes lors de l'utilisation de l'électro-éjaculateur.
- Etudier la variabilité de la qualité de la semence durant les différentes saisons de l'année en étudiant le statut oxydatif de la cellule spermatique et définir le meilleur moment de l'année où l'on peut avoir une semence de meilleure qualité.

# Références bibliographiques

**Aamdal J., Lyngset O., Fossum K., 1965** : Toxic effect of lysolecithin on sperm. Nord. Vet. Med, pages: 633-639.

**Abbas k., Madani T., Ben cheick E.H., Meraouche L., 2002** : Systèmes d'élevage associés à l'agriculture dans les hautes plaines de Sétif: étude des caractéristiques des exploitations agricoles ayant des caprins. Recherche Agronomique n° 10, 79-94.

**Alary V., Corniaux, C. and Gautier, D., 2011** : Livestock's Contribution to Poverty Alleviation: How to Measure It?

**Alexandre G., Arquet R., FLEURY J., Troupé W., Boval M., Archimède H., Mahieu M., Mandonnet N., 2012** : Systèmes d'élevage caprins en zone tropicale : analyse des fonctions et des performances. In : Elevage caprin. Baumont R., Sauvart D. (Eds). Dossier, INRA Prod. Anim., 25, 305-316.

**Ali J and Shelton JN, 1993** : Successful vitrification of day-6 sheep embryos. J Reprod Fertil 99, 65-70.

**Allaf M., Benmimoude M., Drafli A., 2004**: les caprins en Algérie.

**Allimant M., 2010** : Actualités sur les méthodes d'évaluation de la qualité de la semence de l'étalon. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude- Bernard, Lyon, pages : 138.

**Alvarez, J.G. et Storey, B.T., 1992** : Evidence for increased lipid peroxidative damage and loss of uperoxide dismutase activity as a mode for sublethal cryodamage to human sperm during cryopreservation. J. Anrol., 13, 232-241.

**Andersson L., Carrière F., Lowe M.E., Nilsson A., Verger R., 1996** : Pancreatic lipase-related protein 2 but not classical pancreatic lipase hydrolyses galactolipids. Biochim. Biophys. Acta, pages : 236-240.

**ANSEJ, 2012**, élevage de caprins.

**Awad, M.M., 2011**: Effects of sub-optimal glycerol concentration and cholesterol-loaded cyclodextrin in a Tris-based diluent on cryopreserved ram sperm longevity and acrosomal integrity. Small Rumin. Res. 100, 164–168. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.05.011.

**Badis, A., Laouabdia-Sellami, D., Guetarni, M. Kihal and R. Ouzrout, 2005**: Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales Arrabia et Kabyle. Sci. Technol. ; 23/30-37. Cité par Me Ghazi Fatima.

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

**Baril G., Chemineau H P., Cognie Y., Guerin Y., Leboeuf Y., Orguer P., Vallet J-C., 1993** : Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Etude FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), pages : 97-98, pages 101-106.

**Batista M., Niño T., Alamo D., Castro N., Santana M., González F., Cabrera F., Gracia A., 2009** : Successful artificial insemination using semen frozen and stored by an ultrafreezer in the Majorera goat breed. *Theriogenology* 71: 1307-1315.

**Belmiloud R., 2007** : contribution de la production laitière caprine à la satisfaction des besoins de consommation des populations cas de la Wilaya de Ghardaïa.

**Benaissa M., 2008** : contribution à l'étude des performances zootechniques de deux populations caprins locales (Arabia,Cherkia) dans la région des Oasis et Algérienne.

**Bengoumi M., Ameziane El Hassani T., 2013**: Evolution and efficacy of transfer of technologies in small ruminant production systems in North Africa. In: Chentouf M. (Ed), Lopez-Francos (Ed), Gabina M. (Ed). 8th International Seminar FAO-CIHEAM Network on Sheep and Goats "Technology creation and transfer in small ruminants: roles of research, development services and farmer associations." Tangier, Morocco, 11 to 13 June 2013. *Options Méditerranéennes : Série A.* n. 108, pp. 15-24.

**Blache, D., Martin, G.B., 2009.** Focus feeding to improve reproductive performance in male and female sheep and goats—how it works and strategies for using it. In: Papachristou, T.G., Parissi, Z.M., Ben Salem, H., Morand-Fehr, P. (Eds.), *Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats.* CIHEAM-IAMZ/FAO/NAGREF, Zaragoza, pp. 351–364.

**Brice G., 2003** : Le désaisonnement lumineux en production caprine. Institut de l'Elevage, pages 3-11.

**Corteel J.M., Baril G., 1974** : Viabilité des spermatozoïdes de boucs conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal: effet du glucose. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 14, pages: 741-745.

**Corteel J.M., Baril G., 1975** : Effet du «lavage» sur la conservation des spermatozoïdes de boucs à basse température. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys*, pages: 525-528.

**Corteel J. M., 1980** : Effets du plasma séminal sur la survie et la fertilité des spermatozoïdes conservés in vitro. *Reproduction Nutrition Développement*, pages 1111-1114.

**Courbiere B, Caquant L, Mazoyer C., Franck M., Lornage J., Salle B., 2009**: Difficulties improving ovarian functional recovery by microvascular transplantation and whole ovary vitrification.

**Deka B.C., Rao A.R., 1986** : Effect of glycerol level in Tris-base extender and equilibration period on quality of frozen goat semen. *Theriogenology* 26, pages: 231-238.

**Dekkiche Y., 1987** : Etudes des paramètres zootechniques d'une race caprine améliorée (Alpine) et deux populations locales (MAKATIA et ARBIA) en élevage intensif dans une zone steppique (Laghout). Thèse. Ing. Agro; INA. El Harrach. Cité 1986 par Mannalah I., 2012.

**Delgadillo J.A., Leboeuf B., Chemineau P., 1991** : Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*, pages: 755-770.

**Denis B., 2000** : La chèvre un animal à découvrir. 7th international conference on Goats, France, pages 1009-1011.

**DJari m.S., Ghribeche M.T., 1981** : Contribution à la connaissance de la chèvre de Touggourt et à l'amélioration de son élevage. Mémoire de fin d'études, ITA Mostaganem.

**Drobnis E.Z., Crowe L.M., Berger T., Ancho doguy T.J., Overstreet J.W., Crowe J.H., 1993** : Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. *J. Exp. Zool*, pages: 7

**Fantazi K., 2004** : Contribution à l'étude du polymorphisme génétique des caprins d'Algérie. Cas de la vallée de Oued Righ (Touggourt). Thèse de Magister I.N.A. Alger, 145p.

**F.A.O. 2000** : Base de données sur les ressources génétiques mondiales, f.a.o pp 91-99.

**FAO, 2010** : Profil fourrager Algérie par Nedjraoui D

<http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/counprof/algeria/algerie.htm>, en 2001, mise à jour 2012.

Consulté le 13/06/2016.

**F.A.O. 2013** : Rapport national.

**F.A.O. 2014** : Données statistique sur l'élevage.

**Fleming A.D., Yanagimachi R., 1981** : Effects of various lipids on the acrosome reaction and fertilizing capacity of guinea pid spermatozoa with special reference to possible involvement of lysophospholipids in the acrosome reaction. Gamete. Res. Pages: 253-273.

**Guessas H.M., Semar S., 1998** : Réflexion sur la mise en place d'un centre géniteur caprin dans la région de Ghardaia. Thèse. Ing. Agro.INA.El Harrach. Alger.

**Hafid N., 2006** : L'influence de l'âge, de la saison et de l'état physiologique des caprins sur certains paramètres sanguins. Mémoire de Magistère en Sciences vétérinaires, Univ de Batna, 101p.

**Hartree E.F., Mann T., 1961** : Phospholipids in ram semen. Metabolism of plasmalogen and fatty acids. J.Biochem, pages: 464-476.

**Hellal F., 1986** : Contribution à la connaissance des races caprines algériennes: Etude de l'élevage caprin en système d'élevage extensif dans les différentes zones de l'Algérie du nord, Thèse. Ing. Agro.INA. El Harrach. Alger.

**Herrero, M., Gerber, P., Vellinga, T. , Garnett, T. , Leip, A., Opio, C., Westhoek, H.J., Thornton, P.K., Olesen, J., Hutchings, N., Montgomery, H., Soussana, J.-F., Steinfeld, H., McAllister, T.A. , 2011** : Livestock and greenhouse gas emissions: The importance of getting the numbers right, Animal Feed Science and Technology, Volumes 166–167, 23 June 2011, Pages 779-782, ISSN 0377-8401, 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.083.

**Hinsch E., Hinsch1 K-D, Boehm JG 1, Schill1 W-B et Mueller-Schloesser F, 1997**: Functional Parameters and Fertilization Success of Bovine Semen Cryopreserved in Egg-yolk Free and Egg-yolk Containing Extenders

**Iritani A., Nishikawa Y., Nagasawa S., 1964** : Studies on the egg-yolk coagulating enzyme in goat semen. VII. Variations in the enzyme activity of the semen between breeding season and non-breeding season, and in each ejaculate collected three times successively. Jpn. J. Anim. Reprod.

**Karagiannidis A., Varsakeli S., Karatzas G., 2000** : Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology* pages: 1285-1293.

**Kundu C.N., Chakraborty J., Dutta P., Bhattacharyya D., Ghosh A., Majumder G.C., 2000** : Development of a simple sperm cryopreservation model using a chemically defined medium and goat cauda epididymal spermatozoa. *Cryobiology*, pages: 117-125.

**La Falci V.S.N., Tortorella H., Rodrigues J.L., Brandelli A., 2002** : Seasonal variation of goat seminal plasma proteins. *Theriogenology*, pages: 1035-1048.

**Leboeuf B., Restall B., Salamon S., 2003** : Production et conservation de la semence de boucs pour l'insémination artificielle. *INRA Prod. Anim*, pages: 91-99.

**Lusignan M.F., 2011** : Étude du mécanisme de protection des spermatozoïdes de mammifères par le lait. Thèse présentée à la Faculté de Médecine en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D) en Biochimie.

**Luyet, Basile J. - Gehenio, Marie Pierre, 1940** : Life and death at low temperatures, Publication info: Normandy, Mo., *Biodynamica*, 1940. Contributed by: MBLWHOI Library

**Madani T., Yakhlef H., Abbache N., 2003** : Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture en Algérie, Les races bovines, ovines, caprines et camelines. Alger 22-23/01/2003. Recueil des Communications Atelier N°3 «Biodiversité Importante pour l'Agriculture» MATE-GEF/PNUD Projet ALG/97/G31.p 44-51.

**Maher G., 2012** : Comparaison des techniques de cryoconservation de la semence chez le bouc et d'insémination artificielle chez la chèvre. Mémoire pour l'obtention du grade de Maître ès science, Faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université Laval, pages 14-20, 25-27, 29-43, 64-66, 74.

**Mazur P., 1963** : Kinetics of water loss from cells at subzero temperatures and the likelihood of intracellular freezing. *J. Gen. Physiol.* 47, pages: 347-369.

**McGann, L., Stevenson M., Muldrew K, Schchar N., 1988** : Kinetics of osmotic water movement in chondrocytes isolated from articular cartilage and applications to cryopreservation. *J. Orthop. Res*

6 :109-115.

**Medeiros C.M.O., Forell F., Oliveira A.T.D., Rodrigues J.L., 2002** : Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Theriogenology* 57, pages : 327-344.

**Molinia F.C., Evans G., Maxwell W.M.C., 1994** : In vitro evaluation of zwitterion buffers in diluents for freezing ram spermatozoa. *Reprod. Nutr. Dev*, pages: 491-500.

**Mortimer, D., 1994** : *Practical Laboratory Andrology*. Oxford University Press, New York, USA. pp 66–69.

**Orgueur P., Mimouni , Leboeuf B. \*, Signoret J.P., 1988** : INRA, Station de Physiologie de la Reproduction, Laboratoire de Comportement animal, Centre de Recherches de Tours, Nouzilly, F 37380 Monnaie \* INRA, Station Expérimentale d'Insémination artificielle, F 86480 Rouillé.

**Ortavant R., Pelletier J., Ravault J.P., Thimonier J., Volland-Nail P., 1985** : Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxf. Rev. Reprod. Biol*, pages: 45.

**Ortiz-de-Montellano M., Galindo-Maldonado F., Cavazos-Arizpe E.O., Aguayo-Arceo A.M., Torres-Acosta J.F.J., Orihuela A., 2007**: Effect of electro-ejaculation on the serum cortisol response of Criollo goats (*Capra hircus*). *Small. Ruminant*, pages: 228-231.

**Pegg, 2015** : Article Principles of Cryopreservation. Livre : *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. Part 1.

**Pelletier J., Chemineau P., Delgado J.A., 1988** : Seasonality of sexual activity and its photoperiodic control in the adult ram and he-goat. *Proc. 11th Intl Cong. Anim. Reprod. A.I.*, 25-30 June 1988, Dublin, Vol 5, pages :211-219.

**Pellicer M.T., 1995** : Purificación y caracterización del componente de la secreción bulbouretral de macho cabrío implicado en el deterioro de la calidad de los espermatozoides diluidos en leche. Tesina de Licenciatura, Universidad de Murcia, page : 200.

**Pellicer M.T., Magallon T., Combarrous Y., 1997** : Deterioration of goat sperm viability in milk extenders is due to a bulbourethral 60-kilodalton glycoprotein with triglyceride lipase activity. *Biol. Reprod*, pages: 1023-1031.

**Pellicer-Rubio MT1, Combarous Y. 1998** : Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60.

**Polge, C., A. U. Smith, and A. S. Parkes, 1949** : Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures. *Nature* 164:666.

**Purdy P.H., 2006b** : A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant*, pages: 215-225.

**Rall WF, Fahy GM. , 1985** : Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 degrees C by vitrification.

**Rijsselaere T., Van Soom A., Tanghe S., Coryn M., Mae D., De Kruif A., 2005** : New techniques for the assessment of canine semen quality: A review. *Theriogenology*. Vol. 64, n° 3, pages : 706-719.

**Royere D., Barthelemy C, Hamamah S et Lansac J, 1996** : Cryopreservation of spermatozoa: a 1996 review. Reproductive Biology Unit, Department of Obstetrics, Gynecology and Human Reproduction, CHU Bretonneau, Faculte de Medecine, Universite F Rabelais, 27 044 Tours Cedex, France.

**S. A. Kadi, F. Hassini, N. Lounas et A. Mouhous, 2013** : Département des sciences agronomique, faculté des sciences Biologiques et sciences agronomiques, Université M. MAMMERI. Tizi-Ouzou 15000 (Algérie).

**Sawyer D.E., Brown D.B., 1995** : The use of an in vitro sperm activation assay to detect chemically induced damage of human sperm nuclei. *Reprod. Toxicol.* pages: 351-357.

**Sebaa A., 1992** : Le profilage génétique visible de la chèvre de la région de Laghouat, Thèse Ing. Etat. Inst. Agro Blida, 48p.

**Sias B., 2000** : Etudes des lipases pancréatiques apparentées de type2 (PLRP2): Clonage, production, caractérisation biochimique et cinétique. DEA Nutrition aspects moléculaires et cellulaires, Université Aix-Marseille II.

**Smith A.H., Polge C., 1950** : Survival of spermatozoa at low temperatures. *Nature* (London), pages : 166, 668-671.

**Spallanzani L. 1776** : Opuscoli di Fisica Animale e vegetabile [...] aggiuntevi alcune lettere

relative ad essi opuscoli dal celebre Signor Bonnet di Ginevra e da altri scritte all'Autore. Modena.

**Takoucht A., 1998** : Essai d'identification de la variabilité génétique visible des populations caprines de la Vallée de M'ZAB et des Montagnes de l'ZHAGGAR, Thèse Ing. Etat. Inst. Agro Blida, 52p.

**Thibault C., Levasseur M.C., 2001** : La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses éd, Pari, pages: 928.

**Thirstrup K., Verger R., Carriere F., 1994** : Evidence for pancreatic lipase subfamily with new kinetic properties. *Biochemistry*, pages : 2748-2756.

**Tuli R.K., Holtz W., 1992** : The effect of season on seminal characters in Boer goat bucks in the Northern temperate zone. In: R.a.i.g. production (ed.), pages : 1195-1200.

**Tuli R.K., Holtz W., 1994** : Effect of glycerolization procedure and removal of seminal plasma on post-thaw survival and got-release from Boer goat spermatozoa. *Theriogenology*, pages : 547-555

**Tuli R.K., Holtz W., 1995** : Effect of season on the freezability of Boer goat semen in the northern temperate zone. *Theriogenology*, pages: 1359-1363.

**Upreti G.C., Hall E.L., Koppens D., Oliver J.E., Vishwanath R., 1999** : Studies on the measurement of phospholipase A2 (PLA2) and PLA2 inhibitor activities in ram semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* Pages : 107-121.

**Walker., John M., 2015** : *Methods in Molecular Biology*. Part of the springer protocols database.

**Watson P.F., 1990** : Artificial insemination and the preservation of semen. In: L. G.E. (ed.). *Marshall's Reproduction*. Churchill Livingstone, Edinburg.

**Watson, P.F. 1995** : Recent developments and concepts in cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod.Fertil.Dev.* 7/871-891.

**Watson P.F., 2000** : The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 60-61, pages : 481-492.

**Zeng, W.X., Terada, T., 2000**: Freezability of boar spermatozoa is improved by exposure to 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Reprod Fertil Dev.* 12, 223-8. doi: 10.1071/RD00058.

**Zeng, W.X., Terada, T., 2001:** Effects of methyl-beta-cyclodextrin on cryosurvival of boar spermatozoa. *J. Androl.* 22, 111–118. doi: 10.1002/j.1939-4640.2001.tb02160.x

# Annexes

# Abbreviations

---

<b>AD :</b>	Andromed®
<b>AD C :</b>	Andromed®- Cyclodextrine
<b>ALH :</b>	Amplitude of Lateral Head Displacement
<b>BCF :</b>	Beat Cross Frequency
<b>BUSgp60 :</b>	bulbo-urétral sécrétion glycoprotéique de 55-60 kilodaltons
<b>CASA :</b>	Computer Assisted Semen Analysis
<b>CNIAAG :</b>	Centre Nationale d'insémination artificielle et de l'amélioration génétique.
<b>EYCE :</b>	egg yolk coagulating enzyme
<b>ITELV :</b>	Institut des Techniques d'Elevages
<b>PLA2 :</b>	phospholipase A2.
<b>VCL :</b>	Curvilinear Velocity
<b>VSL :</b>	Straight-Line Velocity

# Formule

---

## **Formule 1 : $A = \epsilon \times l \times c$**

### **Notons que :**

$A$  : l'absorbance de la solution.

$c$  : la concentration de l'échantillon, en *mol/L*.

$l$  : l'épaisseur de la solution traversée par le faisceau lumineux.

$\epsilon$  : Coefficient d'absorption molaire.

# Liste des figures

---

## Partie bibliographique

**Figure 1** : Représentation de la répartition mondiale du cheptel caprin selon FAO (2013)

**Figure2** : Répartition de la production caprine de viande (A) et de lait (B) dans le monde Selon le GEB-Institut de l'élevage et d'après FAO

**Figure 3** : Anatomie du tractus génital mâle du bouc

**Figure 4** : Physiologie de la reproduction du bouc

**Figure5** : Composant d'un spermatozoïde.

**Figure6** : Taux de survie cellulaire en fonction de la vitesse de refroidissement

**Figure 7** : Schéma représentant le trajet d'un spermatozoïde et les paramètres de mobilité générés par le CASA.

## Partie expérimentale

**Figure 1** : graphe représentatif de la variation de la VSL entre les quatre échantillons selon le milieu utilisé (AD ou ADC)

**Figure2** : Graphe représentatif de la variation de la VCL entre les quatre échantillons selon le milieu utilisé (AD ou AD C).

**Figure 3** : Graphe représentatif de la variation de l'ALH entre les quatre échantillons selon le milieu utilisé (AD ou AD C).

**Figure4** : Graphe représentatif de la variation du BCF entre les quatre échantillons en fonction du milieu (AD ou ADC).

# Liste des tableaux

---

## **Partie bibliographique**

**Tableau 1** : Effectif et répartition géographique

**Tableau 2** : Evolution de l'effectif caprin

**Tableau 3** : Composants du plasma séminal

**Tableau 4** : Effet des enzymes bulbo-urétrales

**Tableau 5** : Motilité massale

**Tableau 6** : Motilité individuelle

**Tableau 7** : Les facteurs physiques endommageant la semence lors de la congélation

## **Partie expérimentale**

**Tableau 1** : Identification des paillettes

**Tableau 2** : temps d'équilibration pour chaque échantillon

**Tableau 3** : variations des différentes conditions appliquées aux échantillons.

**Tableau 4** : Résultats comparatives de la VSL en fonction des deux milieux pour chaque échantillon

**Tableau 5** : Variation de VSL en fonction du milieu pour les différents types de semence

**Tableau 6** : Résultats comparatives de la VCL en fonction des deux milieux pour chaque échantillon  
Variation de la VCL en fonction du milieu pour les différents types de semence

**Tableau 7** : Variation de la VCL en fonction du milieu pour les différents types de semence

**Tableau 8** : Résultats comparatives de l'ALH en fonction des deux milieux pour chaque échantillon

**Tableau 9** : Variation de l'ALH en fonction du milieu pour les différents types de semence

**Tableau 10** : Résultats comparatives de la BCF en fonction du milieu pour chaque échantillon

**Tableau 11** : Variation de BCF en fonction du milieu pour les différents types de semence

**Tableau 12** : Récapitulatif des résultats descriptifs des différents paramètres pour les différents échantillons et en fonction du milieu.

### Répartition mondiale du cheptel caprin

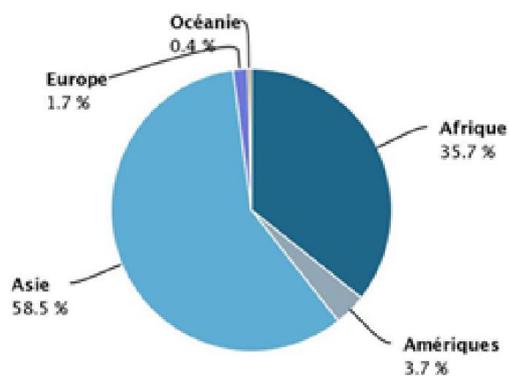


Figure 1 : Représentation de la répartition mondiale du cheptel caprin selon FAO 2013

### Effectif et répartition géographique des caprins en Algérie

Tableau 1 Répartition du cheptel caprin en Algérie (ITELV 2002)

13,2%	Dans les zones montagneuses.
28,3%	Dans la zone du tell.
30,7%	Dans les zones steppiques.
26,6%	Dans les zones du sud (oasis)

## **Evolution de l'effectif caprin**

Tableau N°2 : évolution de l'effectif caprin (FAO,2012)

Année	1990	1995	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2010
Nombre de tête par millier	2472	2780	3062	3027	3129	3281	3325	3451	3590	3800

## Aperçu général des productions dans le monde

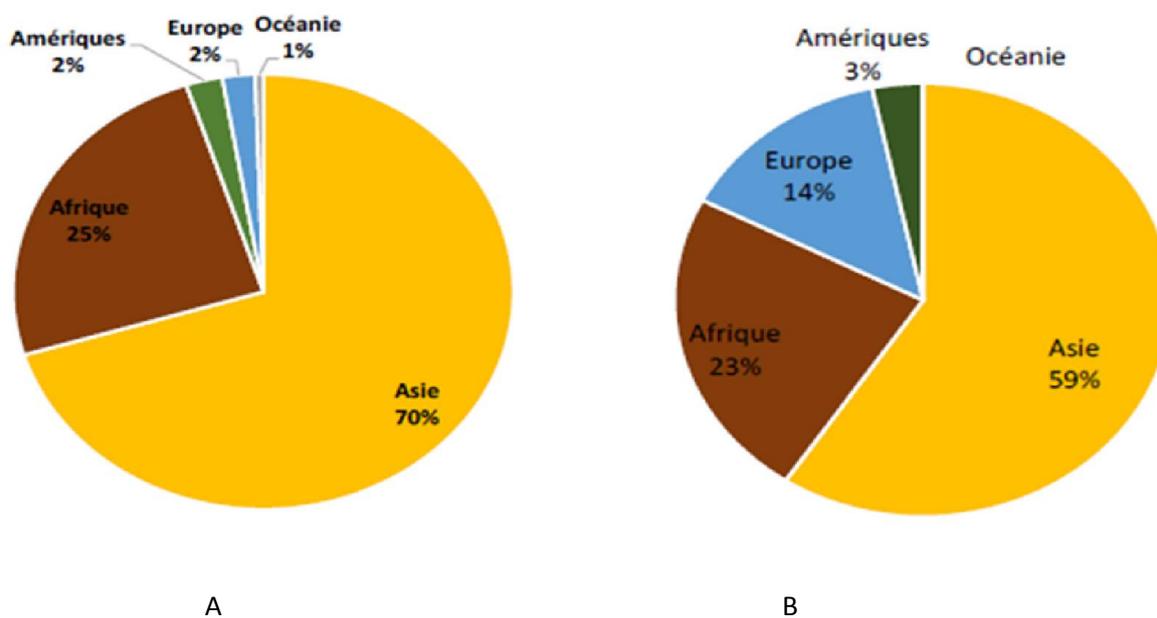


Figure 1 : Répartition de la production caprine de viande (A) et de lait (B) dans le monde

Selon le GEB-Institut de l'élevage et d'après FAO

## Anatomie

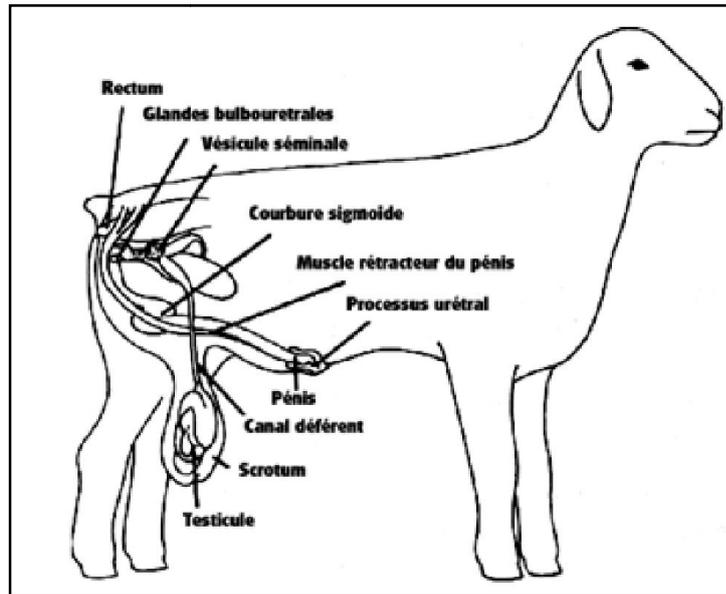


Figure 1 : anatomie du tractus génital du bouc (R.Boukhliq et al.,)

## Physiologie

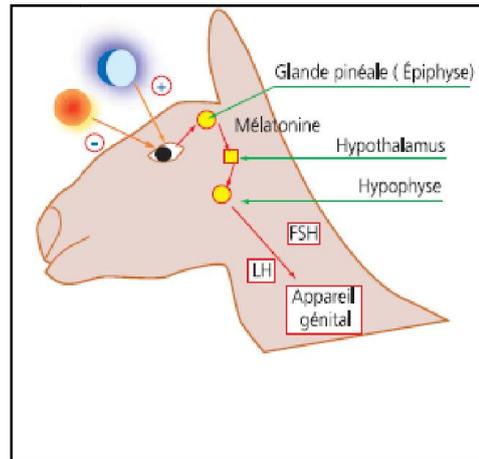
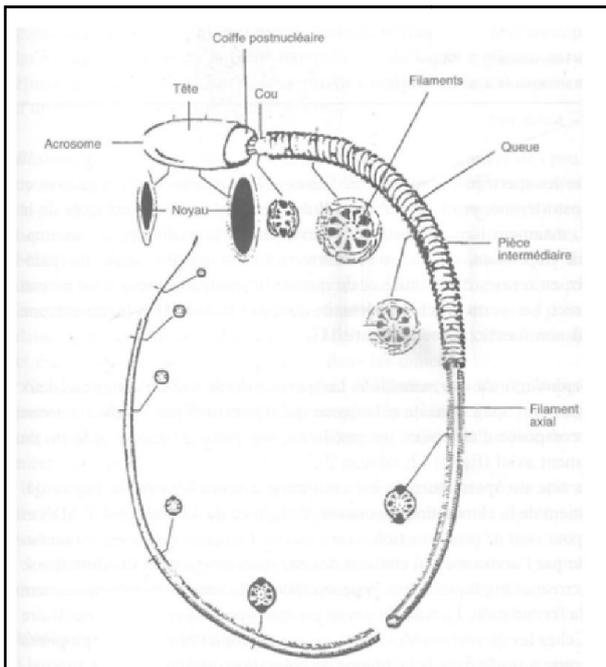
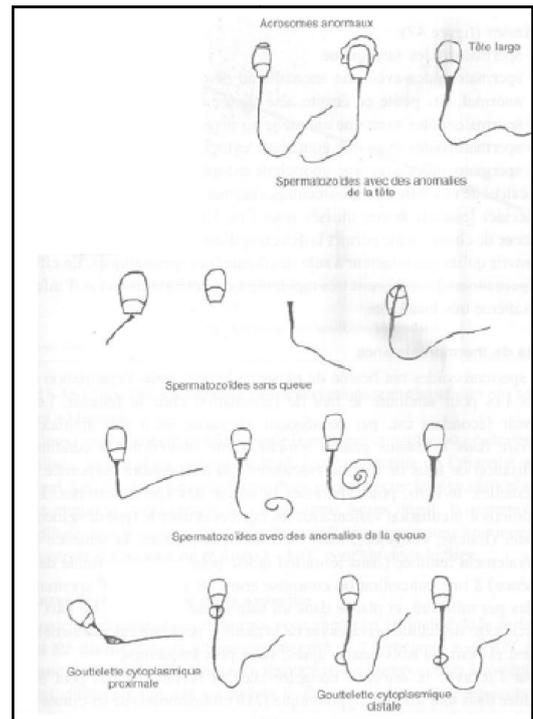


Figure 4 : Action du photopériodisme sur la physiologie de la reproduction du bouc

## Les spermatozoïdes



Composants d'un spermatozoïde. (Setchell,1977)



Anomalies des spermatozoïdes (FAO,1993)

## Plasma Séminal

Tableau 3 : composants du plasma séminal (Mendoza *et al.*, 1989)

Composants	Concentrations moyennes
Riboflavine	Jaune : 5,38µl/ml
(varie selon la concentration de la semence)	Jaune pâle : 3,09 µl/ml Blanc : 1,72µl/100ml
Fructose	857 mg/100ml
Acide citrique	331 mg/10ml
Acide lactique	73 mg/100ml
Glucose	6,7 mg/100ml
Glycérylphosphorylcholine	191 mg/100ml
L- α-Glycérophosphate	3,3 mg/100ml
Glycérol	1,76 mg/100ml

Tableau 4 : Taux de spermatozoïdes avec ruptures ou vésiculisations membranaires. Espèce caprine (Courtens et Corteel, non publié)

<i>Taux de spermatozoïdes avec ruptures ou vésiculisations membranaires. Espèce caprine (Courtens et Corteel, non publié)</i>		
— Spermatozoïdes éjaculés non lavés de mâles entiers .....	50,0 p. 100 (n 204)	***
— Spermatozoïdes éjaculés lavés de mâles entiers .....	14,0 p. 100 (n 148)	*
— Spermatozoïdes éjaculés non lavés de mâles cowperectomisés ..	6,5 p. 100 (n 289)	
— Spermatozoïdes éjaculés lavés de mâles cowperectomisés .....	0 p. 100 (n 300)	N. A.
Le milieu de dilution et de congélation est le même dans les 4 cas envisagés.		
*** = P < 0,001.		
* = P < 0,05.		
N. A. = Non analysé.		

## Techniques de cryobiologies usuelles

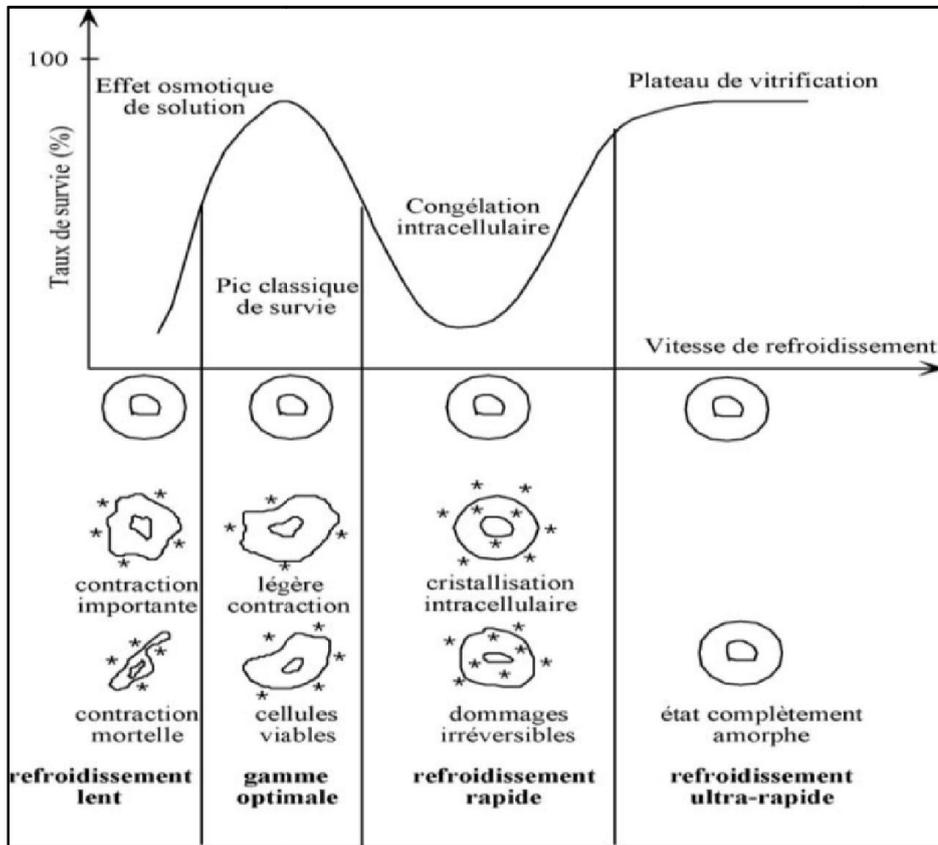


Figure 6 : taux de survie cellulaire en fonction de la vitesse de refroidissement (Baudot et al.)

## **Motilité massale**

Tableau 5 : motilité massale (FAO,1993)

Notes	Aspect des mouvements
0	Immobilité totale.
1	Mouvements individualisés.
2	Mouvements très lents.
3	Motilité massale générale de faible amplitude.
4	Motilité massale rapide, sans tourbillons.
5	Motilité massale rapide, avec tourbillons.

## **Motilité individuelle**

Tableau 6 : Motilité individuelle (FAO,1993)

Notes	Motilité individuelle
0	Pas de déplacement de spermatozoïdes.
1	Déplacement très lent ou pas de déplacement, tremblement du spermatozoïde, oscillation de la queue.
2	Déplacement lent, tremblement, mouvements inorganisés, quelques spermatozoïdes se déplacent plus rapidement.
3	Les spermatozoïdes effectuent des déplacements curvilinéaires sans tremblement.
4	Déplacement rapide, quelques cellules avec une trajectoire rectiligne, d'autre avec une trajectoire courbe.
5	Déplacement rectiligne et rapide des spermatozoïdes.

**CASA (Computer Assisted Semen Analysis) :**

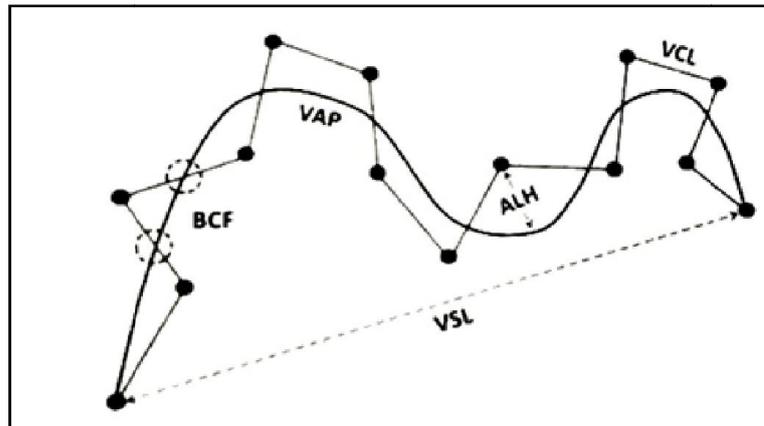


Figure 7: Schéma représentant le trajet d'un spermatozoïde et les paramètres de mobilité générés par le CASA. Les cercles noirs représentent les positions successives de la tête du spermatozoïde. (Gallego et al.,2013)

**Les facteurs physiques endommageant la semence lors de la congélation**

Tableau 7 : Les facteurs physiques endommageant la semence lors de la congélation (Maher, 2012)

Température °C	Impacts
37 à 15	« Choc thermique » (Bakhach <i>et al.</i> , 2007) Lésions cellulaires (Bakhach <i>et al.</i> , 2007)
5 à -15	Changements membranaires les plus intenses (Drobnis <i>et al.</i> , 1993)
0 à -25	Ralentissement de l'activité enzymatique cellulaire (Bakhach <i>et al.</i> , 2007)
0 à -80	Lésions cellulaires (Bakhach <i>et al.</i> , 2007) « Choc thermique » (Bakhach <i>et al.</i> , 2007)
-15 à -60	Majorité des dommages cellulaires (Mazur, 1963; Gao <i>et al.</i> , 1997)
≤ -40 à -130	Échanges physicochimiques gelés (Bakhach <i>et al.</i> , 2007)
≤ -130	Conservation cellulaire à long terme (Mazur, 1984; Medeiros <i>et al.</i> , 2002; Bakhach <i>et al.</i> , 2007)