

RESUME DE LA THESE DE DOCTORAT

L'élevage des animaux constitue l'une des plus anciennes occupations des gens, et l'élevage des ovins a été pratiqué dès temps les plus reculés dans l'histoire du développement des humains, commençant avec l'appivoisement des ancêtres des ovins actuels. Ainsi, les traces archéologiques les plus anciennes portant sur l'appivoisement des ovins ont été trouvées en Irak, datant du VII-e millénaire av.J.-C. et prouvant l'importance et le rôle de cette espèce dans le développement de l'être humain moderne.

Notre ouvrage, RECHERCHES VIDEO-MORPHOMETRIQUES SUR LES SPERMATOZOÏDES DE BELIER, suit les normes méthodologiques en vigueur et contient deux grandes parties : la Ière partie, représentée par des recherches tirées de la littérature de spécialité comprend quatre chapitres, comme suit: IMPORTANCE, ORIENTATIONS ET PERSPECTIVE DE L'ELEVAGE DES OVINS A L'ECHELLE MONDIALE, REPRODUCTION DES BELIERS (*Ovis aries*), TECHNIQUES DE REPRODUCTION ASSISTÉE CHEZ LES OVINS, EVALUATION DU MATERIEL SEMINAL POUR L'INSEMINATION ARTIFICIELLE.

La IIe Partie comprend nos recherches originales et se compose de quatre chapitres: BUT DES RECHERCHES, LIEU DE DEROULEMENT DES RECHERCHES, MATERIEL BIOLOGIQUE ET METHODES DE TRAVAIL, RESULTATS SUR L'EXAMEN MACROSCOPIQUE DU SPERME, RESULTATS SUR L'EXAMEN MICROSCOPIQUE USUEL, RESULTATS SUR L'EXAMEN MORPHOMETRIQUE DU MATERIEL SEMINAL.

La thèse de doctorat s'achève avec des conclusions et des recommandations, ainsi qu'avec une liste de sources bibliographiques.

L'étude a été réalisé auprès de I.C.D.C.O.C. Palas Constanța (Institut de recherche et de développement pour ovins et caprins de reproduction) Roumanie, et dans le Laboratoire de Réproduction Animale, au cadre de la Faculté de Zootechnie, à l'Université de Sciences Agronomiques et de Médecine Vétérinaire de Bucarest. Toutes les procédures de travail et de soin des animaux utilisés dans notre étude ont été faites suivant les protocoles de travail, sans affecter l'environnement et le bien-être des animaux.

On a utilisé pour l'étude 20 béliers Merinos (*Ovis aries*) âgés de 2-6 ans. Ces béliers font partie d'un effectif de recherche établi et élevé sur l'exploitation I.C.D.C.O.C. Palas Constanța. Les béliers ont été élevés dans des conditions nutritionnelles uniformes et, afin d'éviter les différences liées à l'énergie partitionnée vers la croissance de la laine entre béliers, tous les animaux ont été tondus trois mois environ avant le début de l'intervalle de collecte du matériel séminal.

Les animaux étudiés proviennent de la même population de base. Tous les béliers ont été repartis en trois groupes expérimentaux, selon leur âge: 6 jeunes mâles (âgés de moins de trois ans), 9 adultes (3-4 ans) et 5 vieux mâles (âgés de plus de quatre ans).

Les béliers étudiés appartiennent à la race Merinos de Palas, l'une des races roumaines natives.

Dans le Ier chapitre on a décrit, sur la base de la littérature de spécialité, l' **IMPORTANCE, LES ORIENTATIONS ET LA PERSPECTIVE DE L'ELEVAGE DES OVINS A L'ECHELLE MONDIALE**. Nous avons présenté des aspects concernant la diffusion des ovins dans le monde entier, des données sur la production agricole globale du domaine des ovins, l'effectif global des ovins, quantifié à plus de 1 milliard de têtes, dont 19 % en Asie et Afrique, ainsi que des données sur la consommation d'aliments et d'agriculture spécifiques aux ovins. On a présenté la classification des 10 premiers pays éleveurs d'ovins, l'évolution de la population d'ovins dans le monde entier, exprimée en milliers de têtes, la distribution en pourcentages des ovins par continents, des données sur la production de lait et de viande de mouton, ainsi que les tendances mondiales dans le domaine de l'élevage des moutons.

Le Iie chapitre, **LA REPRODUCTION DES BELIERS (*Ovis aries*)** présente des aspects de la reproduction chez les ovins, les particularités anatomiques des testicules, du pénis et les particularités physiologiques génitales chez le bélier; on a également décrit largement le processus de la spermatogénèse. On a détaillé les mécanismes d'éjaculation du sperme, les réflexes sexuels chez le bélier, la collecte du matériel séminal et l'action des facteurs environnementaux sur la production de sperme. Les facteurs qui agissent sur la qualité du sperme sont les suivants: la température, la lumière, la pression osmotique, la flore microbienne, la nutrition et l'attaque chimique. On a aussi expliqué la morphologie des spermatozoïdes et le réglage hormonal de la spermatogénèse.

Dans le IIIe chapitre, **TECHNIQUES DE REPRODUCTION ASSISTÉE CHEZ LES OVINS**, on a présenté le potentiel des techniques de reproduction assistée qui viennent à l'aide des éleveurs d'ovins afin d'optimiser la production et l'efficacité de la reproduction des troupeaux. Des aspects portant sur des techniques de reproduction assistée, telles les inséminations artificielles (AI)

et la multiple ovulation et le transfert d'embryons (MOET) y sont expliqués, ainsi que des arguments qui permettent aux exploitants de produire des béliers, des moutons et de la viande d'agneau à un prix de coût efficace. Les techniques de reproduction assistée chez les ovins (TRA), telles l'insémination artificielle (AI) et la production d'embryons in vitro et le transfert d'embryons (IVEP) peuvent contribuer significativement, appliquées d'une manière correspondante, à optimiser et assurer une production animale efficace (Byrne et al., 2012). Dans le souschapitre 3.1 il y a des données sur l'insémination artificielle chez les moutons – avantages et inconvénients, suivie de la présentation MOET dans le souschapitre 3.2., ainsi que, dans le souschapitre 3.3. le sexage du sperme par l'ADN.

Le chapitre IV présente d'une manière très détaillée L'EVALUATION DU SPERME POUR L'INSEMINATION ARTIFICIELLE. On y présente les deux méthodes de collecte du sperme, la méthode du vagin artificiel AV et la méthode de l'électro-éjaculation EEJ, ainsi que la possibilité de récolte du sperme au niveau épидидymal. On continue avec l'évaluation du sperme par examens macroscopiques, microscopiques et morphométriques ; on y présente aussi la possibilité de la CRYOCONSERVATION du matériel séminal. Le chapitre IV s'achève avec des recherches antérieures sur les facteurs qui influent sur la qualité du sperme.

La IIe Partie, les recherches originales, personnelles, commence avec des explications sur LE BUT DES RECHERCHES, LE LIEU DE DEROULEMENT DES RECHERCHES, LE MATERIEL BIOLOGIQUE ET LE PROTOCOLE DU TRAVAIL, qui constituent le contenu du CHAPITRE Ve. On y a inclus des données et des photos concernant le matériel biologique, le protocole de travail étant très détaillé.

LE CHAPITRE VIe, RESULTATS SUR L'EXAMEN MACROSCOPIQUE DU SPERME, offre des résultats originaux détaillés sur les caractéristiques du matériel séminal évalué par examen macroscopique. L'examen macroscopique a été fait sur le matériel séminal brut, la plupart des caractéristiques étant évaluées dans le verre collecteur. Par l'évaluation macroscopique on a eu en vue les paramètres suivants : le volume de l'éjaculat, la couleur et l'odeur du sperme, la consistance du matériel séminal et son pH, ainsi que le mouvement en vagues du sperme.

Le chapitre VIIe, RESULTATS SUR L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DU SPERME contient aussi des résultats originaux et des comparaisons avec d'autres recherches dans ce domaine. L'examen microscopique porte sur les caractéristiques suivantes : densité du sperme, concentration

en spermatozoïdes du sperme, motilité des spermatozoïdes et examen morphologique du sperme, ci-inclus le pourcentage de spermatozoïdes vivants, normaux et anormaux.

Le chapitre VIIIe, RESULTATS SUR L'EXAMEN MORPHOMETRIQUE DU SPERME, représente la partie principale de notre recherche. Il comprend des recherches vidéo-morphométriques sur le matériel séminal des 20 béliers étudiés. On a réalisé des déterminations morphométriques à l'aide du système ISAS CASA, composé du logiciel ISAS, UB203i microscope à contraste de phase à épi-fluorescence, appareil photo et ordinateur.

Au moyen de ISAS v1, dans notre étude les caractéristiques morphométriques des spermatozoïdes ont été réalisées sur des frottis colorés. On a enregistré les données à la Faculté de ZOOTECHNIE, U.S.A.V.M. Bucarest. La morphométrie ISASv1 a donné les suivants paramètres morphométriques : dimensions de la tête du spermatozoïde ou paramètres primaires (surface, longueur, largeur et périmètre), dimensions de forme ou paramètres dérivés (ellipticité, élongation, rugosité, régularité). Les paramètres morphométriques mesurés sont présentés dans des tableaux et graphiques et les données ont été traitées statistiquement.

Le CHAPITRE IXe, CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS, achève notre thèse de doctorat.

Tous les paramètres morphologiques et morphométriques du sperme obtenus durant l'étude ont enregistré des variations considérables (on a inclus l'amplitude de la variation pour chaque caractéristique).

Les valeurs du volume de l'éjaculat ont varié entre 1.4096 ± 0.081753 mL et 1.8224 ± 0.067367 mL. La plus basse valeur du volume de l'éjaculat a été enregistrée dans le groupe de béliers âgés de plus de 4 ans (1.59312 ± 0.022755348 mL), tandis que la valeur la plus élevée a été enregistrée dans le groupe de béliers âgés de 3-4 ans, ($1.729688889 \pm 0.026386997$ mL). Il y a des différences significatives en ce qui concerne le volume de l'éjaculat entre les épreuves des béliers plus jeunes par rapport à celles des béliers plus âgés, et des différences très significatives entre la catégorie des béliers âgés de 3-4 ans par rapport à la catégorie de ceux âgés de plus de 3 ans. Selon la méthode de collecte, les valeurs moyennes du volume de l'éjaculat ont été plus grandes dans le cas des éjaculats obtenus par la méthode du vagin artificiel comparativement à la méthode de l'électro-éjaculation. On a enregistré des différences très significatives entre les épreuves obtenues par les deux méthodes de collecte, vagin artificiel et électro-éjaculation.

La couleur du matériel séminal a été normale, blanc jaunâtre, pour tous les éjaculats analysés. En étroite corrélation avec la couleur a été également l'odeur du sperme, dans tous les cas une odeur de protéine, odeur d'œuf frais.

La consistance du matériel séminal a enregistré des valeurs comprises entre 3.32 et 3.72, sur une échelle de 0 à 5. Les valeurs moyennes de la consistance du matériel séminal par rapport à l'âge des béliers ont été comme suit : les plus grandes chez les béliers adultes, suivis par les béliers plus jeunes, sous 3 ans, la valeur la plus basse étant enregistrée chez les béliers plus âgés. La valeur moyenne de la consistance du matériel séminal par rapport à la méthode de collecte a relevé le fait que la consistance du matériel séminal a été plus grande dans le cas de l'utilisation du vagine artificiel et plus faible dans le cas de l'utilisation de l'électro-éjaculation. La valeur la plus basse du pH du matériel séminal a été de 6.8488 ± 0.012715 , tandis que la valeur la plus élevée de celui-ci a été de 7.1672 ± 0.028528 . La plus faible valeur de ce paramètre a été enregistrée chez les béliers adultes. Des valeurs plus élevées ont été enregistrées dans le groupe de béliers plus âgés, tandis que pour les béliers les plus jeunes on a enregistré une valeur de 7.098267 ± 0.010749 . Les différences entre les valeurs enregistrées pour les éjaculats obtenus par les deux techniques de collecte du sperme sont faibles.

Le mouvement en vagues du matériel séminal par rapport à l'âge des béliers a varié entre 3.6 ± 0.048639 , dans la catégorie des béliers plus âgés, et 0.052118 ± 3.648889 , dans la catégorie des béliers adultes. En guise de conclusion, on peut affirmer la supériorité des résultats obtenus par la méthode de collecte avec vagine artificiel, comparativement à la méthode de collecte par électro-éjaculation.

Les valeurs de la motilité du sperme ont été comprises entre $80.6 \pm 1.235584\%$ et $90.4 \pm 0.369685\%$. La valeur la plus élevée de la motilité du sperme a été enregistrée chez les béliers de 3-4 ans, tandis qu'une valeur plus faible de la motilité du sperme a été enregistrée chez les béliers plus âgés. La différence entre les deux méthodes de collecte ne représente que 0.59%, en faveur de la méthode à vagine artificiel.

Les valeurs moyennes de la concentration du matériel séminal ont varié entre $1.1224 \pm 0.029128 \times 10^9$ spermatozoïdes/mL et $2.8412 \pm 0.029031 \times 10^9$ spermatozoïdes/mL. La valeur la plus élevée de la concentration du sperme a été enregistrée chez les béliers de 3-4 ans. La concentration du matériel séminal en cellules spermatiques a été de $2.1178 \pm 0.0033516 \times 10^9$ spermatozoïdes/mL pour la méthode de collecte AV et de $2.102828 \pm 0.057555 \times 10^9$ spermatozoïdes/mL pour la

méthode EEJ. On a obtenu des différences significatives en ce qui concerne la concentration du sperme entre des épreuves différentes selon l'âge des béliers.

La valeur maximale enregistrée des cellules spermatiques normalement morphologiques a varié entre $91.96 \pm 0.329039\%$ et $85.44\% \pm 0.583324$, la valeur la plus élevée de ce paramètre étant enregistrée chez les béliers adultes. Selon la technique de collecte, les valeurs des cellules spermatiques normalement morphologiques ont été plus grandes dans le cas de la méthode EEJ, par rapport à la méthode AV, même si les deux valeurs ne diffèrent pas significativement.

La plus grande valeur moyenne des cellules spermatiques anormalement morphologiques a été de $14.96 \pm 0.717589\%$, tandis que $8.04 \pm 0.329039\%$ a été la valeur la plus basse. Selon l'âge des béliers, ce paramètre a enregistré la valeur la plus basse chez les béliers de 3-4 ans. On a compté plus de cellules spermatiques anormales dans le cas de l'AV que dans celui de l'EEJ.

Les valeurs moyennes de la longueur de la tête des spermatozoïdes ont été comprises entre $7.4276 \pm 0.029537 \mu\text{m}$ et $7.9064 \pm 0.016237 \mu\text{m}$. La plus basse valeur a été enregistrée chez les béliers âgés de plus de quatre ans, suivis par les béliers adultes. Des différences significatives ont été obtenues en ce qui concerne la longueur de la tête du spermatozoïde entre les épreuves des béliers plus jeunes par rapport aux béliers plus âgés et, aussi, entre les béliers de 3-4 ans et ceux plus âgés. On n'a pas enregistré de différences entre les béliers de 3-4 ans et ceux âgés de moins de trois ans. On a constaté la supériorité de la longueur de la tête des spermatozoïdes en faveur de la méthode de collecte par électro-éjaculation, par rapport à la méthode de collecte par vagine artificiel. On n'a pas enregistré de différences entre les données obtenues par le regroupement des épreuves en fonction des méthodes de collecte, méthode AV et méthode EEJ.

La plus basse valeur moyenne de la largeur de la tête des spermatozoïdes a été enregistrée chez les béliers plus jeunes, $4.3078 \pm 0.009706 \mu\text{m}$, suivis par les béliers plus âgés, avec une valeur moyenne de $4.51232 \pm 0.004808 \mu\text{m}$. La valeur moyenne la plus élevée a été notée chez les béliers adultes de 3-4 ans, étant de $4.609556 \pm 0.007886 \mu\text{m}$. Des différences significatives ont été obtenues en ce qui concerne la largeur de la tête du spermatozoïde entre les épreuves de sperme selon l'âge des béliers, mais on n'a pas remarqué de différences entre les méthodes de collecte.

La supériorité des béliers adultes en ce qui concerne la surface de la tête du spermatozoïde par rapport aux jeunes et, aussi par rapport aux vieux, peut être remarquée par des différences significatives. La valeur moyenne de la surface de la tête des spermatozoïdes a été plus grande dans le cas de la méthode EEJ, que dans le cas de la méthode AV.

Les valeurs du périmètre de la tête du spermatozoïde ont été comprises entre $17.04829 \pm 0.065817 \mu\text{m}$ et $19.26479 \pm 0.031957 \mu\text{m}$. On a enregistré la valeur la plus élevée moyenne du périmètre de la tête des spermatozoïdes chez les béliers adultes, suivis par les béliers âgés de plus de 4 ans. En analysant les valeurs du périmètre de la tête des spermatozoïdes selon la méthode de collecte, on pourrait remarquer que les valeurs rapportées en mesurant le périmètre de la tête des spermatozoïdes par la méthode EEJ ont été supérieures à celles obtenues par la méthode AV.

On pourrait conclure que les valeurs enregistrées en ce qui concerne l'ellipticité de la tête ont été comprises entre 1.635451 ± 0.00757 et 1.817234 ± 0.008555 . L'ellipticité de la tête des spermatozoïdes a enregistré des valeurs différentes pour les trois catégories d'âge, avec des différences significatives. Les valeurs plus élevées de l'ellipticité indiquent le fait que les spermatozoïdes des béliers jeunes sont plus minces. Les spermatozoïdes à têtes plus elliptiques nagent plus vite. Les valeurs moyennes de l'ellipticité de la tête des spermatozoïdes selon la méthode de collecte du matériel séminal ont enregistré des différences faibles.

L'indice de l'élongation de la tête du spermatozoïde a varié durant l'étude entre 0.240967 ± 0.002164 et 0.289929 ± 0.002122 . Ainsi, on pourrait tirer la conclusion que la valeur la plus élevée de l'indice d'élongation de la tête du spermatozoïde a été enregistrée chez les plus jeunes béliers. Plus l'indice d'élongation de la tête du spermatozoïde est proche de zéro, plus la tête du spermatozoïde est ronde. La valeur moyenne de l'indice d'élongation de la tête du spermatozoïde dans le cas de l'utilisation de la méthode du vagin artificiel a été de 0.259293 ± 0.00092 , tandis que la valeur moyenne de l'indice d'élongation de la tête du spermatozoïde en cas de l'utilisation de la méthode de l'électro-éjaculation a été de 0.257642 ± 0.001452 , la différence ne représente que 1%, cette valeur n'apportant pas de différences significatives entre les méthodes AV et EEJ.

Les valeurs moyennes de la rugosité de la tête du spermatozoïdes ont été comprises entre 1.267035 ± 0.001221 et 1.448358 ± 0.001012 . L'utilisation de la méthode du vagin artificiel a donné des cellules spermatiques ayant une valeur plus faible en ce qui concerne l'indice de rugosité que l'utilisation de l'électro-éjaculation.

La valeur de cet indice étant plus basse, les têtes des spermatozoïdes sont plus amorphes ou irrégulières.

La régularité de la tête du spermatozoïde varie de 0.743154 ± 0.000006 à 0.788751 ± 0.0000826 . Compte tenant de l'âge des béliers, l'étude relève le fait que la valeur la plus élevée de la régularité de la tête a été notée chez les béliers plus jeunes. Dans ce cas, la méthode de l'électro-

éjaculation donne des valeurs supérieures par rapport à celles obtenues par la méthode du vagin artificiel. On a obtenu des différences significatives selon la régularité de la tête du spermatozoïde entre les épreuves de sperme en fonction de l'âge des béliers.

L'évaluation microscopique a démontré que la plupart des paramètres n'enregistrent pas de différences significatives entre le sperme collecté chez des béliers d'âges différents, à l'exception du volume de l'éjaculat, entre béliers adultes et les deux autres catégories, et, aussi, entre les méthodes de collecte. L'évaluation macroscopique a démontré que la plupart des paramètres n'enregistrent pas de différences significatives entre le sperme collecté chez des béliers d'âges différents, à l'exception de la concentration du sperme. L'analyse morphométrique indique des différences significatives entre les catégories d'âge pour la largeur, la surface, le périmètre de la tête du spermatozoïde et les indices d'ellipticité, d'élongation et de régularité. Le manque de différences significatives a indiqué que d'autres facteurs peuvent influencer sur la différence remarquée entre les deux méthodes de collecte. Les résultats obtenus pour cette partie de l'étude soulignent la possibilité de continuer les recherches afin de corréliser les caractéristiques morphométriques du sperme de bélier au taux de conception des femelles pour déterminer s'il est nécessaires d'inclure les traits morphométriques dans les testes de qualité pour le sperme.

Généralement, les paramètres morphométriques mesurés sur des éjaculats frais de bélier dans cette étude sont en concordance avec ceux retrouvés chez plusieurs chercheurs en ce qui concerne la longueur de la tête, -la surface, - le périmètre, l'ellipticité, l'élongation, la rugosité et la régularité (Martí et al., 2011; Maroto-Morales et al., 2012; Yániz et al., 2012, Boshoff, 2014).