

Faculté des Sciences et Techniques
Settat

THÈSE DE DOCTORAT

Pour l'obtention de grade de Docteur en Biologie

Formation Doctorale : Biologie, Santé et Environnement

Spécialité : Biochimie et Biotechnologie de la reproduction animale

Sous le thème

Effet de l'âge, la saison, le Safran et l'huile d'olive sur la production et la conservation du sperme chez le bélier de la race Boujaâd

Présentée par :

Abdelmoughit BADI

Soutenue le : 15/10/2020 à 10h

A la Faculté des Sciences et Techniques de Settat devant le jury composé de :

Pr. Abdel khalid ESSAMADI	PES	Université Hassan 1er	Président
Pr. Rachida CADI	PES	Université Hassan II-Ain Chok	Rapporteur
Pr. Mohammed El KHASMI	PES	Université Hassan II- Ben M'Sik	Rapporteur
Pr. Riad EL KEBBAJ	PH	Université Hassan 1er	Rapporteur
Pr. Naima HAMIDALLAH	PES	Université Hassan 1er	Examineur
Dr. Bouchra EL AMIRI		Chercheur à INRA-CRRA de Settat	Co-Directeur de thèse
Pr. Boubker NASSER	PES	Université Hassan 1er	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2020/2021

Avant-propos

La présente thèse est réalisée dans le cadre du projet dans les domaines prioritaires de la recherche scientifique et du développement technologique intitulé : « **Caractérisation et cryoconservation de la semence des ressources génétiques ovines : un préalable à la création d'une banque de gènes à l'INRA Maroc** » (de référence **PPR-2015/47**) financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Formation et le CNRST-Maroc. Elle est intitulée **Caractérisation des paramètres de reproduction chez le bélier Boujaâd : une approche intégrée pour l'amélioration et la conservation de la race.**

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé dans les laboratoires suivants :

- ❖ Laboratoire de fourrages et des productions animales au Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settât sous la direction Scientifique **du Docteur Bouchra EL AMIRI.**

- ❖ Laboratoire de Biochimie et Neurosciences (LBN) à la Faculté des Sciences et Technique, Université Hassan 1^{er}, Settât, Maroc, sous la direction Scientifique de Monsieur le **Professeur Boubker NASSER.**

Dédicace

Je dédie ce travail à tous ceux que j'aime, surtout :

À l'âme de mon très cher père, mon trésor inépuisable, tu as su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Merci d'avoir été toujours là pour moi, un grand soutien tout au long de mes études.

Que Dieu vous reposiez dans le paradis du signeur,

À Ma très chère mère : A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans. A une personne qui m'a tout donné sans compter. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma vive gratitude, mon intime attachement et ma profonde affection.

J'implore Dieu qu'il te procure santé et qu'il m'aide à te compenser tous les malheurs passés. Pour que plus jamais le chagrin ne pénètre ton cœur, car j'aurais encore besoin de ton amour.

A ma petite famille : mon cher petit Abderrahmane et ma chère petite Hiba, A ma très chère épouse Najam lamyae Tu as partagé avec moi les meilleurs moments et les moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes côtés, Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler.

Tu me voulais toujours le meilleur.

Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu.

Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect.

Je ne saurais et je ne pourrais vous remercier pour tous ce que vous avez faits pour moi jusqu'à présent.

Que Dieu vous protège.

A ma petite sœur : Hassnae, Aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à votre égard.

Je te souhaite tout le bonheur du monde

A mes frères : Mohamed et Oussama je n'oublierai jamais ces merveilleux moments passés ensemble, Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection en souvenirs de notre indéfectible union qui s'est tissée au fil des jours.

Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité

A la famille Najam : Mohamed, Ghizlane, Oussama, Nourddine Safae, Loubna, et à ma belle-mère Amina Serghini, Parce qu'il est impossible de trouver les mots qui peuvent exprimer mon amour, et ma reconnaissance pour vous, Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'avez offert depuis mon mariage, de tous les sacrifices que vous vous êtes imposés pour assurer notre vie de couple et notre bien-être, de votre tolérance, et de votre bonté exceptionnelle.

Vous restez pour moi le symbole d'un amour original et d'une parenté idéale.

J'espère toujours être à la hauteur de ce que vous attendez de moi, et ne jamais vous décevoir.

A toute ma famille : grand père, oncles, tantes et cousins, Je vous dédie ce travail en témoignage de mon amour et mon attachement.

A notre équipe de recherche : en particulier, Anass Ben moula et Kaoutar elkhali.

A Une Dame que je respecte : Ech-Chibiyah Zahiri

Toutes et à tous mes amis(es)

Tous ceux qui ont participé de loin ou de près à l'élaboration de ce modeste travail.

Abdelmoughit Badi

Remerciements

Mes remerciements s'adressent à DIEU, notre créateur tout puissant qui m'a donné la volonté, la patience et ma fourni l'énergie nécessaire pour mener à bien ce travail.

L'issue de cette thèse, j'aimerais remercier tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, ont participé à sa réalisation.

*J'exprime mes plus vifs remerciements, ma reconnaissance toute particulière et ma gratitude, à l'égard de mon encadrante **Docteur Bouchra El Amiri** du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settat. Grâce à sa patience son soutien continu ses précieux conseils et sa disponibilité mon travail a pu aboutir.*

*Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude au **Professeur Boubker Nasser** directeur du centre d'Etudes Doctorales ainsi que mon directeur de thèse et mon encadrant universitaire pour son encouragement, ses conseils et remarques et aussi pour sa disponibilité, je le remercie d'abord pour m'avoir fait confiance, en acceptant de m'encadrer et de me diriger, c'est grâce à son soutien que j'ai pu continuer mes études supérieures, en espérant que ce travail soit à la hauteur de ses souhaits et attentes, et aussi pour le bon suivi de mes formations doctorales et pour toute l'aide administrative.*

Mes remerciements s'adressent également au Centre Régional de la Recherche Agronomique de Settat, pour m'avoir accordé la permission de réaliser mon sujet de recherche au sein de son honorable établissement.

*Merci au **Professeur Naima Hamidallah**, du Laboratoire de biochimie neurosciences, Faculté des Sciences et techniques de Settat pour son soutien et son aide.*

*Je souhaite remercier le **Professeur Abdelkhalid Essamadi** chef du laboratoire de Biochimie et neurosciences à la Faculté des sciences et techniques Hassan 1^{er} de Settat.*

*Je remercie également **les membres du jury** pour avoir accepté d'évaluer ce travail et contribué à son amélioration malgré leurs charges respectives.*

*Je souhaite aussi remercier les membres de l'équipe du Laboratoire de Production Animale à l'INRA-CRRA-Settat : **Anass Benmoula, Kaoutar Elkhafil**, ainsi pour **Abdelati Ouamani, Allai Laarbi** et **Zineb Moussafir**, un grand merci pour votre bonne humeur, votre disponibilité et votre aide.*

*Je tiens par ailleurs, à remercier l'ensemble du personnel de l'INRA de Settat avec une reconnaissance particulière à **M^{me} Mounaia Sibaoueih, Mr. Mohamed Meftah, Mr. Abderahim Lakrad** pour leurs soutiens lors de mon séjour au laboratoire*

*Je ne peux oublier d'adresser mes remerciements les plus vifs et sincères à tous les professeurs et **les enseignants** de la Faculté des sciences et techniques Hassan 1^{er} de Settat, que j'ai beaucoup appris d'eux,*

Mes Sincères remerciements à toutes et à tous

Résumé

Pour longtemps, la race Boujaâd est restée confinée sur une aire géographique très restreinte. Sa diffusion à grande échelle, ainsi, son amélioration génétique, nécessitent le développement d'un programme d'insémination artificielle (IA). L'une des étapes cruciales pour ce programme serait la production et la conservation d'un sperme de haute valeur génétique.

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente thèse qui vise d'une part, la caractérisation de la reproduction, ainsi, l'amélioration de la production et de la conservation du sperme chez deux groupes de béliers de la race Boujaâd (matures et âgés).

Dans la première étude, nous avons comparé les mesures de la circonférence scrotale, ainsi, la qualité initiale du sperme à savoir, le volume d'éjaculat, la concentration en spermatozoïdes, la motilité individuelle et massale, et la résistance du sperme à la conservation après dilution dans le Lait écrémé ou dans le Tris jaune d'œuf, tel que, la mobilité totale et progressive, la peroxydation lipidique, le pourcentage d'anomalies et d'intégrité de la membrane, ainsi le dosage des protéines, lipides et cholestérol du plasma séminale de deux groupes de béliers matures (3 ans, n= 5) et âgés (6 ans, n=3) durant une année.

Dans la deuxième étude, le sperme des béliers (âgés, n=2 et matures, n=5) de la race étudiée a été collecté et conservé dans le lait écrémé à 15°C et dans le Tris jaune d'œuf à 5°C, avec ou sans l'ajout d'extrait aqueux de safran(60µg/ml) pendant 24h.

Dans la troisième étude, nous avons testé l'effet de la supplémentation de l'alimentation de deux groupes de béliers (âgés, n=4 et matures, n=6) par l'ajout de l'huile d'olive sur la production du sperme et sa conservation dans le lait écrémé, ainsi, le dosage des protéines, lipides et cholestérol du plasma séminale. Alors que, la quatrième étude a été pour but d'étudier l'effet de l'ajout d'extrait aqueux de safran (60µg/ml) dans le lait écrémé sur la qualité du sperme conservé dans le lait écrémé à 15°C pendant 24h chez deux groupes de béliers (âgés, n=4 et matures, n=6) ayant reçu la supplémentation alimentaire en huile d'olive.

Les résultats obtenus ont révélé la capacité des béliers matures à produire un sperme d'une qualité suffisante pour la réalisation de l'insémination artificielle avec une bonne aptitude à la conservation liquide tout au long de l'année par apport aux béliers plus âgés. Ceci a été d'autant plus sûr en particulier pendant l'automne et l'été.

Par ailleurs, l'ajout d'extrait aqueux de safran dans le lait écrémé ou dans le tris jaune d'œuf a significativement amélioré la mobilité, la viabilité, l'intégrité de la membrane et a diminué la peroxydation lipidique après 24h de conservation. De plus, une amélioration très significative de la mobilité progressive et de la linéarité, au début et après 24h de conservation dans le Tris jaune d'œuf a été notée.

Le traitement alimentaire des béliers en huile d'olive a montré une nette amélioration de la qualité de production et de conservation du sperme à partir d'une semaine de traitement chez les deux groupes de béliers. Ainsi, l'ajout d'extrait aqueux de safran au sperme de béliers traités avec de l'huile d'olive et conservé dans le lait, a amélioré d'avantage la qualité de la conservation du sperme chez le groupe âgé par rapport au groupe matures.

Mots clés : Béliers Boujaâd-Maroc ; saison ; qualité du sperme ; production et conservation du sperme, huile d'olive, extrait aqueux de safran.

Abstract:

The Boujaâd race remained confined to a very restricted geographical area. Its large-scale dissemination and genetic improvement require the development of an artificial insemination (AI) program. One of the crucial steps for this program would be the production and conservation of sperm of high genetic value.

It is in this context that the present thesis is inscribed which aims on the one hand, the characterization of reproduction and the improvement of the production and conservation of sperm in two groups of Boujaâd breed rams (mature and old).

In the first study, we compared the measurements of the scrotal circumference, thus, the initial quality of the sperm namely, the ejaculate volume, the sperm concentration, the individual and mass motility, and the resistance of the sperm to storage after dilution in skimmed milk or in tris egg yolk, such as total and progressive mobility, lipid peroxidation, percentage of membrane abnormalities and integrity, as well as the determination of proteins, lipids and cholesterol seminal plasma from two groups of mature (3 years, n = 5) and old (6 years, n = 3) rams for one year.

In the second study, the semen from two groups (old, n = 2 and mature, n = 5) was collected and stored in skim milk at 15 °C or tris egg yolk at 5 °C, with or without the addition of aqueous saffron extract (60 µg / ml) for 24 hours.

In the third study, we tested the effect of supplementing the diet of two groups of rams (old, n = 4 and mature, n = 6) with the addition of olive oil on the production of sperm and its preservation in skimmed milk, thus, the determination of proteins, lipids and cholesterol of the seminal plasma.

While, the fourth study was aimed at studying the effect of the addition of aqueous extract of saffron (60µg / ml) in skimmed milk on the quality of sperm preserved in skim milk at 15 °C for 24 hours from two groups of rams (old, n = 4 and mature, n = 6) who received food supplementation with olive oil.

The results obtained revealed the ability of mature rams to produce sperm of sufficient quality for the achievement of artificial insemination with good ability to retain liquid throughout the year by intake of older rams. This was especially safe in the fall and summer.

Furthermore, the addition of aqueous saffron extract in skimmed milk or in tris egg yolk significantly improved mobility, viability, membrane integrity and decreased lipid peroxidation after 24 hours of storage. In addition, a very significant improvement in progressive mobility and linearity, at the start and after 24 hours of storage in the tris egg yolk sort was noted.

The dietary treatment of rams in olive oil showed a marked improvement in the quality of production and storage of sperm after one week of treatment in both groups of rams.

Thus, the addition of aqueous extract of saffron to the semen of rams treated with olive oil and preserved in milk, further improved the quality of sperm preservation in the elderly group by providing mature.

Key words: Boujaâd-Maroc rams; season; semen quality; production and storage of sperm, olive oil, aqueous saffron extract.

خلاصة

لفترة طويلة، ظلت سلالة بوجعد محصورة في منطقة جغرافية جذ محدودة. ولنشر هذه السلالة على نطاق واسع، وكذلك تحسينها الوراثي، وجب تطوير برنامج التلقيح الاصطناعي (AI). و يعتبر إنتاج حيوانات منوية ذات قيمة وراثية عالية و تخزينها بجودة عالية إحدى الخطوات الحاسمة لإنجاح هذا البرنامج.

وفي هذا الإطار، تناقش الأطروحة التالية من جهة، دراسة إنتاج الحيوانات المنوية وتخزينها على مدار السنة، وكذلك تحسين إنتاج الحيوانات المنوية تخزينها عند مجموعتين من الكباش من سلالة بوجعد (مجموعة ناضجة وأخرى كبيرة السن).

في الدراسة الأولى، قمنا بمقارنة قياسات محيط الخصية، وكذلك جودة السائل المنوية من حيث حجم السائل المنوي، وتركيز الحيوانات المنوية، والحركة الفردية والجماعية للحيوانات المنوية، ومقاومتها للتخزين بعد تخفيفها في الحليب منزوع الدسم أو صفار البيض، عن طريق قياس الحركة الكلية والتقدمية، أكسدة الدهون، نسبة تشوهات الحيوانات المنوية وكذلك سلامة الغشاء، بالإضافة لتحديد البروتينات والدهون والكوليسترول في بلازما السائل المنوية مجموعتين من الكباش الناضجة (3 سنوات ، $n = 5$) والمسنة (6 سنوات ، $n = 3$) لمدة سنة كاملة.

في الدراسة الثانية، تم جمع السائل المنوي للكبش المسنة، ($n = 2$) والناضجة، ($n = 5$) للسلالة المدروسة وتخزينها في الحليب خالي الدسم عند درجة $15^{\circ}C$ مئوية وفي تريس صفار البيض عند 5 درجات مئوية مع أو بدون إضافة مستخلص الزعفران المائي (60 ميكروغرام / مل) لمدة 24 ساعة.

في الدراسة الثالثة اختبرنا تأثير إضافة زيت الزيتون للنظام الغذائي لمجموعتين من الكباش (المسنة، عدد = 4 والناضجة، عدد = 6) على جودة إنتاج السائل المنوي وحفظه في الحليب منزوع الدسم، وكذلك تحديد البروتينات والدهون والكوليسترول في بلازما السائل المنوية. بينما هدفت الدراسة الرابعة إلى دراسة تأثير إضافة المستخلص المائي للزعفران (60 ميكروغرام / مل) في الحليب منزوع الدسم على جودة الحيوانات المنوية المحفوظة من مجموعتين من الكباش، المسنة، (عدد=4) والناضجة، (عدد = 6) اللذين تلقوا زيت الزيتون كمكمل غذائي .

أظهرت النتائج قدرة الكباش الناضجة على إنتاج حيوانات منوية ذات جودة كافية لتحقيق التلقيح الصناعي مع قدرة جيدة على مقاومة ظروف التخزين السائل طوال السنة مقارنة مع الكباش المسنة وبشكل خاص في فصلي الخريف والصيف.

علاوة على ذلك، أدت إضافة مستخلص الزعفران المائي في الحليب منزوع الدسم أو في تريس صفار البيض إلى تحسن كبير في الحركة وسلامة الغشاء وخفض أكسدة الدهون بعد 24 ساعة من التخزين. بالإضافة إلى ذلك، لوحظ تحسن كبير في الحركة إلى الامام والاستقامة في البداية وبعد 24 ساعة من التخزين في صفار البيض.

أظهرت إضافة زيت الزيتون كمكمل غذائي للكبش تحسناً ملحوظاً في جودة إنتاج وتخزين الحيوانات المنوية ابتداء من الأسبوع الأول عند مجموعتي الكباش. وكذلك، أدت إضافة المستخلص المائي للزعفران إلى الحليب لتخزين السائل المنوي للكبش المعالجة بزيت الزيتون كمكمل غذائي ، إلى تحسين جودة وقدرة الحيوانات المنوية على مقاومة ظروف التخزين خصوصاً لدى مجموعة الكباش المسنة.

الكلمات المفتاحية: سلالة الكباش بوجعد المغرب؛ الموسم؛ جودة السائل المنوي؛ إنتاج وتخزين الحيوانات المنوية ؛ زيت الزيتون ؛ مستخلص الزعفران المائي.

Liste des abréviations

-A-

A^{1%}_{1cm}	Quantité de picrocricine, safranal et crocine.
AAT	Amino acide transférase
ABN	Anomalies
AGPI	Acides gras polyinsaturés
AGMI	Acides gras monoinsaturés
AGS	Acides gras saturés
ALH	Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm)
ANOC	Association Nationale Ovine et Caprine
ANOVA	Analyse de variance
ATP	Adénine triphosphate
ALP	Phosphatase alcaline

-B-

BCF	Fréquence de battement
BCSP	Composition biochimique du plasma séminal
BHT	Butyle hydroxy toluène
BSP	Protéines d'adhésion au sperme (Binder of sperm protein)

-C-

CASA	Analyseurs de sperme assistés par ordinateur
CAT	Catalase
Chol	Cholestérol

-D-

DAO	Dérivés actifs de l'oxygène
DHA	Acide docosahexaénoïque
D.o	Densité optique

-E-

E^{1%}_{1cm}	Pouvoir colorant, aromatique et saveur
EAS	Extrait aqueux de safran

-F-

FBC	Fréquence de croisement de trajectoire (battement /s)
FSQ	Qualité du sperme frais

-G-

GMQ	Gains moyens quotidiens
GOT	Oxaloacétique glutamique
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Forme réduite du glutathion
GSSG	Forme oxydée du glutathion

-H-

H-A	Béliers âgés traités par huile d'olive
H-A+S	Béliers âgés traité par huile d'olive et conservé avec le safran
HDL	Lipoprotéines de haute densité
H-M	Béliers matures traités par huile d'olive
H-M+S	Béliers matures traités par huile d'olive et conservé avec le safran
HOST	Test de gonflement hypo-osmotique

-I-

INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
IA	Insémination Artificielle

-L-

LDL	Lipoprotéines de basse densité
LDH	Lactate déshydrogénase
LIN	Linéarité de la trajectoire
Lipid-T	Lipide total
LOOH	Peroxyde de lipides

-M-

MC	Masse de la capsule
MDA	Malon-dialdéhyde
MI	Mobilité Individuel
MM	Mobilité Massale
mOsm	Milli-osmole
MP	Motilité Progressive
MSC	Motilité des spermatozoïdes conservés
MT	Mobilité Totale

-P-

PBS	Solution saline du tampon phosphate
PS	Plasma séminal
Prot-T	Protéine totale

-R-

ROS	Réactive Oxygène Species
------------	--------------------------

-S-

SC	Circonférence Scrotale
SHA	Sperme du bélier âgé traité par huile d'olive
SHAS	Sperme du bélier âgé traité par huile d'olive et conservé avec l'extrait de safran
SHM	Sperme du bélier mature traité par huile d'olive
SHMS	Sperme du bélier mature traité par huile d'olive et conservé avec l'extrait de safran
SM	Lait écrémé de vache
SOD	Superoxyde dismutase
SPC	Concentration des Spermatozoïdes
Spz	Spermatozoïdes
SRT	Rectitude
STM	Sperme du bélier témoin mature
STA	Sperme du bélier témoin âgé
STAS	Sperme du bélier témoin âgé conservé avec l'extrait de safran,
STMS	Sperme du bélier témoin mature conservé avec l'extrait de safran

-T-

T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxine
TAC	Capacité antioxydante totale
TBARS	Acide Trichloracétique
TEY	Tris jaunes d'œuf

-V-

VAP	Vitesse de trajectoire moyenne (en $\mu\text{m/s}$)
VCL	Vitesse curvilinéaire (en $\mu\text{m/s}$)
VIAB	Viabilité
VE	Volume d'éjaculat
VSL	Vitesse linéaire (en $\mu\text{m/s}$)

-W-

WOB	Oscillation
------------	-------------

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Performance de reproduction de la race Boujaâd (Chikhi et Boujenane, 2003).	7
Tableau 2 : Les effets de l'âge, de la saison, et l'interaction âge × saison.....	70
Tableau 3: Effets de la saison sur la circonférence Scrotale et les paramètres de qualité du sperme (concentration et la Viabilité) chez les béliers Boujaâd (moyenne ± SEM)	70
Tableau 4 : Effets de l'âge sur la circonférence scrotale et la viabilité du sperme chez les béliers Boujaâd (moyenne ± SEM).....	71
Tableau 5 : Effets de la saison et de l'âge sur les paramètres de qualité du sperme (volume d'éjaculat, mobilité massale et individuelle, anomalie) et les paramètres biochimiques du plasma séminal (protéines totale, cholestérol, lipides totale) chez les béliers Boujaâd (moyenne ± SEM)	71
Tableau 6 : Valeurs moyennes globales, de la mobilité totale et de la progression des spermatozoïdes à différentes durées de conservation à 15 ° C (0, 8 et 24h) et pendant les quatre saisons de l'année chez les deux groupes d'Âge de béliers (moyenne ± SEM).	73
Tableau 7 : Coefficients de corrélation entre la circonférence scrotale (SC), la qualité de la semence fraîche (QSF) et la motilité des spermatozoïdes conservés (MSC) (après 0, 8 et 24 heures de conservation) à l'état liquide à 15°C chez les béliers de la race Boujaâd	75
Tableau 8 : Coefficients de corrélation entre la circonférence scrotale (SC), la qualité du sperme frais (FSQ) et la composition biochimique du plasma séminal (BCSP) chez les béliers de la race Boujaâd.	76
Tableau 9 : Coefficients de corrélation entre la composition biochimique du plasma séminal (BCSP) et la motilité du sperme conservé (MSC) (après 0, 8 et 24 heures) chez des béliers Boujaâd	77
Tableau 10 : Les effets de l'âge, du diluant, de la durée de conservation et de l'interaction × âge, dilueurs × durée de conservation, âge × durée de conservation et âge × Dilueurs × durée de conservation sur la motilité, intégrité membranaire, les anomalies, la viabilité et la peroxydation lipidique.....	78
Tableau 11 : Effet du groupe d'âge sur la qualité du sperme conservé à l'état liquide à 5 °C (moyenne ± ESM)	78
Tableau 12 : Qualité des spermatozoïdes pendant le stockage dans le lait écrémé et dans le Tris jaune d'œuf à 5 °C chez les deux groupes de béliers d'âge différents	80
Tableau 13 : Viabilité des spermatozoïdes (VIAB%) pendant le stockage à 5 °C	81
Tableau 14 : Effet de la saison sur les formes de la mobilité, l'intégrité de la membrane et la peroxydation lipidique chez les deux groupes de bélier de différent âge.....	81
Tableau 15. Détermination de l'humidité, la saveur, le pouvoir aromatique et colorant, et le pourcentage en Crocine de l'extrait aqueux de Safran	88
Tableau 16 : La teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans l'EAS.....	89
Tableau 17 : Le degré de signification concernant l'effet d'EAS, l'effet d'âge et la combinaison EAS * Age, à 0h et après 24 heures le stockage dans le SM à 15 °C	93
Tableau 18 : Effet du SM supplémenté avec l'EAS (moyenne ± SEM) sur la conservation du sperme chez les deux groupes d'âge de bélier à 15 °C	93

Tableau 19 : Le degré de signification concernant l'effet d'EAS, de l'âge et la combinaison EAS * âge, pendant 24 heures de stockage dans le TEY à 5 °C.....	95
Tableau 20 : Effet du TEY supplémenté avec l'EAS (moyenne ± SEM) sur la conservation du sperme chez les deux groupes d'âge de bélier à 5 °C.....	96
Tableau 21 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive pendant six semaines sur la masse, la Circonférence Scrotale et la production du sperme chez le bélier Boujaâd.....	100
Tableau 22 : Effet de la durée de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la qualité du sperme de béliers Boujaâd.....	101
Tableau 23 : Effet de la durée du traitement par l'huile d'olive sur le Poids, Circonférence scrotale, et la qualité initiale du sperme chez les deux groupes contrôles.....	103
Tableau 24 : Effet de la durée du traitement par l'huile d'olive sur le Poids, la SC, et la qualité initiale du sperme chez les deux groupes Test.....	104
Tableau 25 : Effet du traitement alimentaire par l'huile d'olive sur la composition biochimique du plasma séminal des béliers Boujaâd.....	107
Tableau 26 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive et l'ajout d'EAS dans le dilueur (SM) sur les formes de mobilité des spermatozoïdes à 0h de conservation à 15°C chez le bélier Boujaâd.....	108
Tableau 27 : Le degré de signification concernant l'effet de l'âge, d'EAS, de la supplémentation par l'huile d'olive et la combinaison d'EAS * huile d'olive, à 0 heure de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les béliers Boujaâd.....	109
Tableau 28 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive et/ou l'ajout d'EAS dans le dilueur SM sur les formes de la motilité des spermatozoïdes après 24h de conservation chez les béliers Boujaâd.....	111
Tableau 29 : Le degré de signification concernant l'effet de l'âge, d'EAS, de la supplémentation par l'huile d'olive et la combinaison d'EAS * huile d'olive, après 24 heures de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les béliers Boujaâd.....	112
Tableau 30 : Le degré de signification concernant l'effet de la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive et l'ajout d'EAS à 0 heure de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les deux groupes d'âge de béliers Boujaâd.....	113
Tableau 31: Le degré de signification concernant l'effet de la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive et l'ajout d'EAS après 24 heures de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les deux groupes d'âge de béliers Boujaâd.....	113

Liste des Figures

Figure 1: Importance des principales ressources génétiques ovines (en milliers de têtes).....	6
Figure 2: Localisation géographique des principales races ovines au Maroc selon l'ANOC	6
Figure 3: la race Boujaâd : A- Bélier ; B- Brebis	7
Figure 4: Système reproducteur du bélier (Baril, 1993)	8
Figure 5 : Schéma explicatif de l'appareil reproducteur du bélier	9
Figure 6: Le testicule et d'un tube séminifère, en coupe transversale lieu de la Spermatogenèse chez les mammifères.	11
Figure 7: Principe de la régulation physiologique de l'axe gonadotrope male	11
Figure 8: Structure d'un spermatozoïde. A) Schéma d'un spermatozoïde. B) Schéma de la tête d'un spermatozoïde.....	12
Figure 9: A- Structure de la β -lactoglobuline (Crowther et al., 2016), B- Structure de l' α - lactalbumine (Jøhnke et al., 2012).	28
Figure 10 : Modèle « à sous-unités » de micelle de caséine du lait (Walstra, 1990).	28
Figure 11: Mécanisme de protection des spermatozoïdes par le lait d'après (De Menezes et al., 2016)	29
Figure 12 : Mécanisme de protection des spermatozoïdes par le jaune d'œuf adapté par Manjunath et al. (2002).	32
Figure 13 : Les dérivés actifs de l'oxygène ou (ROS) et noyau du spermatozoïde (adapté de Noblanc et al., 2012).....	36
Figure 14: Principaux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS (Favier, 2006).....	39
Figure 15 : les polyphénols : A-Structures chimiques des acides hydroxy benzoïques (Bruneton, 2008). B-Structures chimiques des acides hydroxy cinnamiques (Han et al., 2007 ; Chira et al., 2008). C-Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).....	40
Figure 16 : (a) aspect général de <i>Crocus sativus L.</i> (Arvy et Gallouin, 2003) ; (b) stigmates obtenus après émondage	45
Figure 17 : Structures moléculaires de l'acide Polyxène du safran (Crocétine) et de son ester déglycosylée (crocine), de l'aldéhyde monoterpène (safranal) et de sa forme glycosidique (Picrocrocine). (Alavizadeh, et al., 2014)	46
Figure 18 : Quelques effets pharmacologiques du safran et de ses constituants. (Alavizadeh, et al., 2014)	47
Figure 19 : l'olivier marocaine de la région du Lqalaa.	48
Figure 20 : Les groupes d'âge de béliers Boujaâd	55
Figure 21 : Spectre d'absorption UV- Vis caractéristique d'extrait aqueux de safran	89
Figure 22 : Effet de la concentration en EAS sur la mobilité totale (MT) & progressive (MP) dans le SM : fig. a et b et dans le TEY : fig. c et d.....	91

Figure 23: Effet de la durée du traitement sur le pourcentage de la MT du sperme à t0h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache	105
Figure 24: Effet de la durée du traitement sur le pourcentage de la MT du sperme après 24h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache	106
Figure 25: Effet de la durée de traitement sur le pourcentage de la MP du sperme à t0h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache	106
Figure 26: Effet de la durée du traitement sur le pourcentage de la MP du sperme après 24h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache	106
Figure 27 : Représentation de cinq types de trajets de spermatozoïdes de bélier (Varner et al., 1991)	123
Figure 28 : Trajectoires analysées par les analyseurs de sperme assistés par ordinateur (computer assisted semen analyser, CASA). (Ponthier et al., 2014).	123
Figure 29 : Terminologie des différents paramètres mesurés par le système CASA (Amann et al., 2014)	124

Table des matières

Avant-propos	
<i>Dédicace</i>	
<i>Remerciements</i>	
Résumé	
Abstract:.....	
خلاصة	
Liste des abréviations.....	
Liste des Tableaux.....	
Liste des Figures	
Introduction générale.....	1
A. Partie: Revue bibliographique	4
1. La race ovine Boujaâd.....	5
2. Anatomie de l'appareil génital du bélier	7
2.1. Les glandes annexes de l'appareil génital mâle	8
a. Prostate.....	8
b. Les vésicules séminales	8
c. Les glandes bulbo-urétrales	9
3. Physiologie de l'appareil reproducteur du bélier	10
3.1. Production du sperme.....	10
a. Spermatogenèse	10
c. Le Spermatozoïde	12
d. La membrane plasmique des spermatozoïdes	13
e. Capacitation des spermatozoïdes et réaction de l'acrosome	14
f. Le plasma séminal.....	15
4. Facteurs qui influencent la production du sperme	20
4.1. L'Age	20
4.2. La saison	21
4.3. La photopériode, la mélatonine et les hormones thyroïdiennes.....	21
4.4. L'alimentation.....	23
5. La conservation de la semence du bélier	25
5.1. La conservation à l'état liquide de la semence du bélier	25
a. Principe de la conservation à l'état liquide de la semence de bélier	26
b. Les différents dilueurs utilisés	26

5.2.	L'Effet de la conservation sur la qualité du sperme.....	34
a.	La fluidité membranaire.....	34
b.	Le stress oxydatif des spermatozoïdes.....	35
5.3.	Les constituants qui améliorent la conservation de la semence chez le bélier	40
6.	Les plantes médicinales	44
6.1.	Le safran et ses biomolécules actives	44
6.2.	L'olivier et ses biomolécules actifs.....	47
a.	L'olivier	47
b.	Huile d'olive	48
B : Partie expérimentale		54
I.	Animaux, localisation et alimentation.....	55
II.	Expérimentations	55
	Expérimentation 1 : Effet de la variation saisonnière sur la production et la conservation du sperme de bélier de la race Boujaâd.....	55
	Expérimentation 2 : Effet de l'ajout d'EAS dans de dilueur sur la conservation du sperme de bélier Boujaâd	56
	Expérimentation 3 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la production et la conservation du sperme de bélier Boujaâd	56
	Expérimentation 4 : Effet de l'ajout d'EAS au sperme de bélier ayant reçu une supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la conservation du sperme de deux groupes d'âge de bélier Boujaâd.....	57
III.	Analyses	57
III.1.	La circonférence scrotale	57
III.2.	Collecte et évaluation du sperme	57
a.	Collecte du sperme.....	57
b.	Evaluation du sperme.....	57
c.	Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes	58
d.	Viabilité (VIAB)	59
e.	Anomalies (ABN)	59
f.	Intégrité de la membrane (HOST)	59
g.	Peroxydation lipidique (MDA).....	60
h.	L'analyse biochimique du plasma séminale	60
III.3.	Préparation des dilueurs	62
a.	A base de lait écrémé de vache	62
b.	A base de tris jaune d'œuf.....	62
III.4.	Conservation de la semence	62
III.5.	Préparation des extraits aqueux de safran (EAS).....	62
a.	Préparation de l'EAS pour la conservation.....	63

b. Détermination des principales caractéristiques par des méthodes Spectrophotométrie UV / visible	63
III.6. Caractérisation de l'extrait aqueux de Safran	64
a. Humidité.....	64
b. La détermination de la qualité du safran	64
c. Le pourcentage en crocine.	64
d. Détermination de la teneur en polyphénols et flavonoïdes	64
III.7. Analyse statistique	65

C -Partie : Résultats & Discussions.....68

Chapitre 1 : Effet de la variation saisonnière et de l'âge avancé sur la production, la conservation du sperme et la composition biochimique du plasma séminal, chez les béliers Boujaâd..... 69

1. Effet de la variation saisonnière sur la circonférence scrotale et les caractéristiques du sperme chez les deux groupes d'âge.....	69
2. Effet de la saison et de l'âge sur la composition biochimique du plasma séminal.....	72
3. Effet de l'âge et de la variation saisonnière sur la conservation du sperme à l'état liquide	72
4. Corrélation entre les paramètres de qualité de la semence fraîche, de la composition du plasma séminal et de la mobilité des spermatozoïdes conservée.....	74
5. Effet des dilueurs (SM et TEY) sur la conservation du sperme à 5°C chez les deux groupes d'âges de béliers.....	77

Chapitre 2. Amélioration de la conservation du sperme par l'addition d'extrait aqueux de safran (EAS) aux dilueurs (SM et TEY) chez le bélier Boujaâd 88

I.1. Caractérisation de l'EAS	88
1. La détermination de la qualité du safran	88
2. Spectre d'absorption UV-Vis caractéristique d'extrait aqueux de safran.....	88
3. La teneur en polyphénols et flavonoïdes.....	89
II.2. L'effet de la concentration de l'extrait aqueux de safran (EAS)	90
1. Conservation du sperme à 15 °C dans le Lait écrémé (SM)	90
2. Conservation du sperme à 5 °C dans le Tris jaune d'œuf (TEY)	90
III.3. Effet de l'EAS et de l'âge, sur la conservation du sperme à l'état liquide chez le bélier	92
1. Conservation du sperme dans le SM à 15 °C.....	92
2. Conservation du sperme à 5 °C dans le TEY à 5°C.....	94

Chapitre 3 : Amélioration de la production et de la conservation du sperme par la supplémentation alimentaire en huile d'olive en absence et en présence de l'EAS chez le bélier Boujaâd.....	100
I. Résultats.....	100
I.1. Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur le poids, la circonférence Scrotale, la production du sperme et sa conservation	100
I.2. Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la conservation du sperme dans le SM à 15°C.....	105
I.3. Effet de la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive sur les paramètres biochimiques du plasma séminale.....	107
I.4. Effet de l'ajout d'EAS dans le dilueur SM, sur la conservation du sperme de béliers supplémentés en huile d'olive.....	107
a. Effet du traitement en huile d'olive.....	107
b. Effet des deux traitements sur la conservation du sperme selon l'âge de bélier ..	110
II. Discussion :	114
III. Conclusion générale.....	118
IV. Perspectives	120
Annexes 1 : Spécifications chimiques du safran en filaments coupés et en poudre. .	121
Annexe 2 : Analyse du Safran de Taliouine.	122
Annexe 3: le système CASA	123
Publications & Communications	126
Références Bibliographiques.....	131

Introduction générale

Au Maroc, l'élevage ovin, fortement ancré dans les traditions joue un rôle socioéconomique et rituel très important. En effet, selon le Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime (MAPM, 2017), le cheptel ovin est estimé à plus de 19,5 Millions de têtes, constitué de 95% de races locales représentées par cinq principales races standards à savoir : Timahdite, Beni Guil, Sardi, D'man et Boujaâd, qui sont essentiellement des races de parcours. Suite à la demande en viande ovine qui ne cesse de croître, le Maroc est demandé d'augmenter sa production d'environ 2,5% par an (Boulanouar et al., 2006). La race Boujaâd possède des caractéristiques favorables à sa promotion. Elle montre des paramètres de croissance intéressants, une qualité de viande meilleure par rapport aux autres races Marocaines et la capacité de faire face à des conditions environnementales difficiles liées à l'eau, à l'agriculture et au climat (Chikhi et Boujenane, 2003). Cependant, selon le Ministère de l'Agriculture Marocain, l'effectif de cette race est estimé à environ 230 000 dont 200 000 brebis, soit 1,4% de l'effectif total des ovins à l'échelle nationale (MAPM, 2017). Cette race est limitée dans la zone de Bejaâd, et soumise à la pression de deux races locales qui sont la Sardi et la Timahdit, représentées par une population importante (plus de 2×10^6 têtes chacune), situées géographiquement dans les régions de Chaouia-ourdigha et du Moyen-Atlas, respectivement. Malheureusement, les performances de reproduction de la race Boujaâd sont mal connues, faute de ne pas avoir bénéficié d'un programme de recherche visant sa caractérisation, son amélioration génétique. Ainsi cette race peut énormément contribuer à l'amélioration de la production de viande ovine au Maroc. Cependant, il faut remédier à certains problèmes qui l'entravent en milieu réel comme l'insuffisance de béliers reproducteurs de qualité et l'absence de connexion entre élevages. En effet, les animaux à haut potentiel se trouvent généralement chez des éleveurs sélectionneurs (ANOC) et ils ne sont interchangeable qu'à l'intérieur de ce réseau. Pour pouvoir profiter de ces animaux, l'insémination artificielle (IA) est la méthode de diffusion du progrès génétique par excellence (Malafosse, 1990). Elle est à la fois rapide et permet l'élargissement de la base de la sélection par l'utilisation d'un nombre réduit de mâles sur un grand nombre de femelles. Par ailleurs, l'utilisation de l'IA permet la connaissance de la paternité des produits et l'augmentation des connexions entre les troupeaux, ce qui se répercute favorablement sur la précision de l'évaluation génétique. L'IA permet de réaliser des accouplements raisonnés (saisonniers) chez les animaux sans faire appel au transfert de ces derniers dans le cas d'un schéma de sélection à noyau ouvert.

Cependant, cette technique est basée sur la qualité de production et de conservation du sperme à l'état liquide ou congelé. De même, la qualité de production et de conservation des spermatozoïdes dépend, entre autres d'un certain nombre de facteurs intrinsèques, à savoir l'âge (Saadi et al., 2016 ; Belkhiri et al., 2017a) et extrinsèques tels que, la saison de prélèvement (Abecia et al., 2016 ; Al-Anazi et al., 2017 ; Benmoula et al., 2017), l'alimentation (Tabbaa et al., 2006 ; Aller et al., 2012), le type de dilueur (Kulaksiz et al., 2012 ; Benmoula et al., 2018b), la durée de conservation (O'Hara et al., 2010), la température du stockage (Allai et al., 2015) et la concentration de dilution (Waterhouse et al., 2004) pour ne citer que cela.

Dans le présent travail, nous avons mené différentes études pour contribuer à l'amélioration et la promotion de la race Boujaâd considérée comme race menacée. Ainsi, nous avons démarré l'étude par une caractérisation de la saisonnalité chez deux groupes de béliers (Matures vs. Âgés). Par la suite, nous avons testé l'effet d'un anti-oxydant pour améliorer la qualité de la semence et sa conservation chez le bélier Boujaâd. En fin, nous avons testé l'ajout de l'huile d'olive dans l'alimentation des béliers âgés afin d'améliorer la production et la conservation de la semence.

Nous postulons que l'amélioration du taux de réussite de l'IA de cette race passe par le développement de la production et l'optimisation du procédé de conservation de sa semence surtout chez les béliers âgés. En l'ajoutant à la bonne qualité de la semence des béliers jeunes, nous pourrions rapidement améliorer la génétique chez cette race.

Objectif global

L'objectif principal de la présente thèse est d'une part, étudier l'effet de la saison et de l'âge avancé sur la production et la conservation du sperme chez le bélier de race Boujaâd. D'autre part, améliorer la production et la conservation du sperme en particulier chez les béliers âgés par la variation de la composition du dilueur (addition d'un anti-oxydant) ou par la supplémentation de l'alimentation en huile d'olive.

Objectifs spécifiques

* Etudier l'effet de la saison et de l'âge avancé sur la circonférence scrotale, la production et la conservation du sperme chez le bélier Boujaâd.

* Etudier l'effet de l'addition d'extrait aqueux de safran aux dilueurs (SM : lait écrémé et TEY : Tris jaune d'œuf), sur la conservation du sperme des béliers âgés.

* Etudier l'effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la production et la conservation du sperme des béliers âgés.

* Etudier l'effet de l'addition d'extrait aqueux de safran au dilueur (SM), sur la conservation du sperme de béliers ayant reçu une supplémentation alimentaire en huile d'olive.

Après une introduction explicative de la problématique, du contexte et des objectifs, le manuscrit de cette thèse est articulé en 3 différentes parties qui seront présentées comme suit :

- La première partie, représente une étude bibliographique, présentant un rappel sur la race Boujaâd, le rôle des biotechnologies, les outils et les moyens en relation avec la reproduction et de la conservation du sperme de bélier. En plus, des connaissances actuelles relatives aux facteurs qui affectent la production et la conservation du sperme. Ainsi, les biomolécules qui améliorent la production et les conditions de stockage du sperme à savoir l'extrait aqueux de safran et l'huile d'olive.

- La seconde partie décrira la méthodologie suivie pour la réalisation des objectifs.

- La troisième partie, concerne la présentation des résultats obtenus et leurs discussions, cette partie comporte trois chapitres :

Chapitre I : Effet de l'âge avancé et de la variation saisonnière sur la circonférence scrotale, la production du sperme et sa qualité durant la conservation à l'état liquide.

Chapitre II : Evaluation des effets d'extrait de safran sur la conservation de la semence chez le bélier.

Chapitre III :

- Effets de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la production et la conservation du sperme de bélier.

- Effet de l'addition d'extrait aqueux de safran au dilueur (SM), sur la conservation du sperme de béliers ayant reçu une supplémentation alimentaire en huile d'olive.

Enfin, le manuscrit de cette thèse s'achève par une conclusion générale et des perspectives.

Partie 1 :

Revue bibliographique

1. La race ovine Boujaâd

La race Boujaâd, d'origine arabe, connue dans le passé sous le nom de race Tadla (Bourfia, 1989) et appelée aussi « *Race jaune* » en relation avec la couleur de sa tête est présente sur les plateaux de Kasbat Tadla, Oued Zem, Khouribga et Bejaâd d'où elle a tiré son nom. Depuis sa reconnaissance officielle en 1987, elle fait l'objet d'un programme d'amélioration génétique. Elle est considérée actuellement parmi les cinq principales races rustiques du Maroc. Son effectif est estimé à environ 230 000 têtes dont 200000 brebis, soit 1,4% de l'effectif total des ovins à l'échelle nationale (MAPM, 2017) (Figure 1) et se trouve principalement dans la zone de Bejaâd (Figure 2).

Cette race est caractérisée par un corps régulier, relativement de grande taille (Figure 3) allant jusqu'à 90 cm chez le mâle et 80 cm chez la femelle. Le poids de la brebis varie entre 45 et 65 kg et celui du mâle entre 75 à plus de 100 kg. La robe est de couleur blanche, avec une tête de couleur jaune très pâle, large et légèrement bombé avec des cornes puissantes moyennement ouvertes en spirale chez le bélier contre une tête à chanfrein droit sans cornes ou assez fine chez la femelle. L'encolure est longue, épaisse et porte un léger fanon. Le dessus est assez large, ainsi un garrot ressorti. La couleur de la toison est blanche légèrement jaunâtre, tassée, homogène, sans jarre, ni fibres colorées (Chikhi et Boujenane, 2005). Une laine peu jarreuse et ne descend pas au-dessous du coude et du jarret. De même cette race présente des potentialités très prometteuses qu'il est possible d'exploiter pour l'augmentation de la production de viande au Maroc (Chikhi et Boujenane, 2003) (Tableau 1). Cependant, le poids moyen de la toison est de 1,9 kg, variant de 1,6 à 3,5 kg (Boujenane, 1999). Les brebis ont un taux de fertilité élevé 98% (Chikhi et Boujenane, 2003) qui augmente avec l'âge de 87% à 100% avec une performance plus élevée à un âge plus de 78 mois (Chikhi et Boujenane, 2005). La durée de gestation varie de 150,6 jours chez les femelles à moins de 30 mois et 152,1 à plus chez celle de 78 mois (Chikhi et Boujenane, 2003).

Les productivités numérique et pondérale à 90 jours des brebis ayant agnelé sont en moyenne de 1,24 agneaux et 26,9 kg respectivement avec un poids à la naissance de 3,89 kg. Les vitesses de croissance des agneaux (gains moyens quotidiens) sont de 213g/j entre 0-30j et 190g/j entre 30 -90j (Chikhi et Boujenane, 2003).

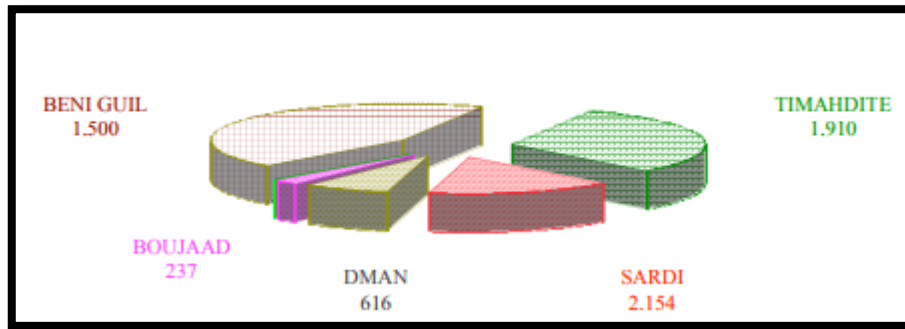


Figure 1: Importance des principales ressources génétiques ovines (en milliers de têtes)
 (Http://www.anoc.ma/les-races/races-ovines/boujaad/ le 31/1/2018)

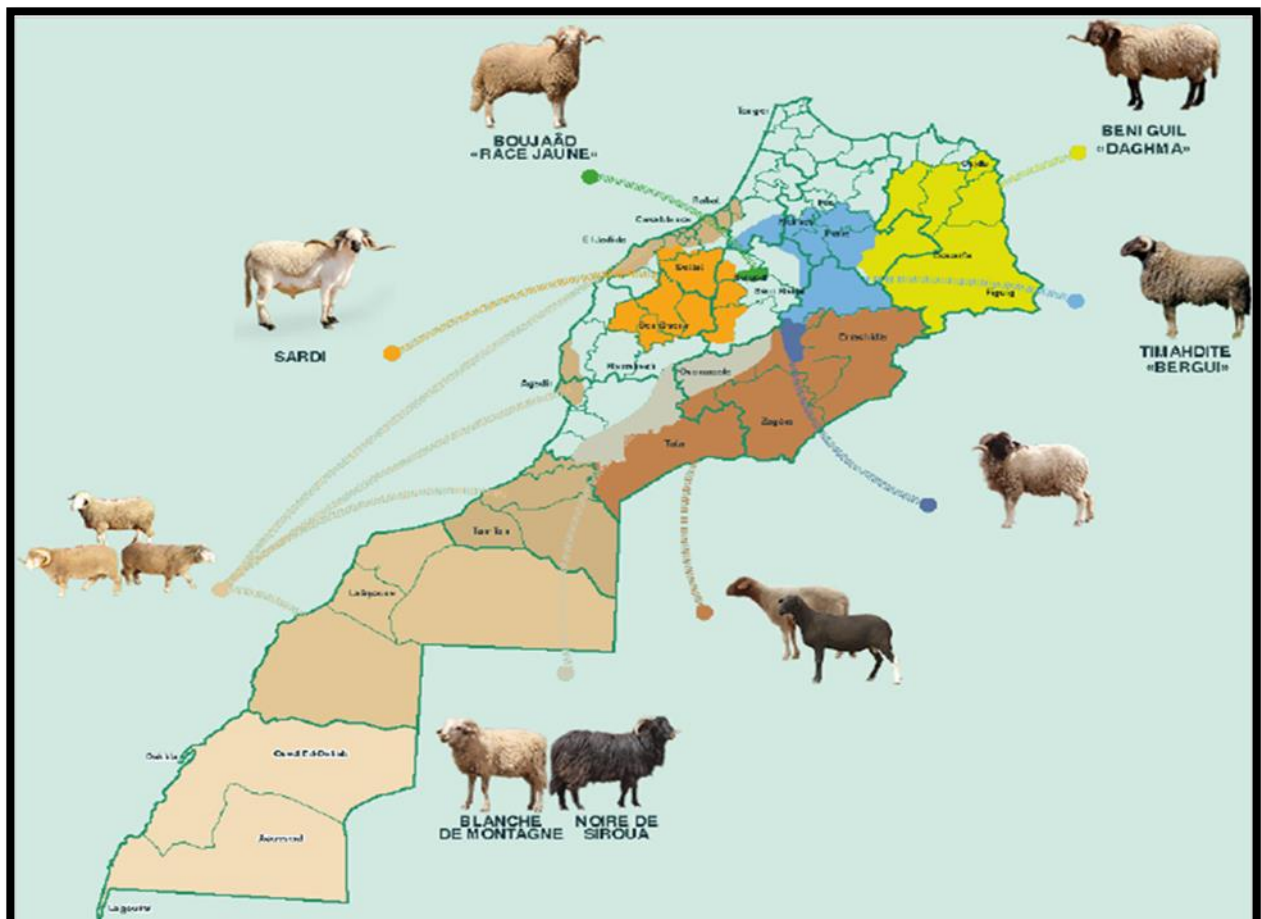


Figure 2: Localisation géographique des principales races ovines au Maroc selon l'ANOC
 http://www.anoc.ma/page2.htm (31/1/2018)



Figure 3: la race Boujaâd : A- Bélier ; B- Brebis

(Photos d'un bélier et d'une brebis de la race Boujaâd, prisent en Mai 2017 d'un élevage dans la région Bejaâd)

Tableau 1 : Performance de reproduction de la race Boujaâd (Chikhi et Boujenane, 2003).

Performance	Bélier	Brebis
Taille adult (cm)	90	80
Fertilité	98±1,3	
Prolificité	1,25	
Taille de la portée à la naissance	1,29	
Taille de la portée au sevrage	1,24	
GMQ 0-30j (g/j)	213	
GMQ 30-90j (g/j)	190	
Poids à la naissance (kg)	3,89	
Masse à 90j (kg)	21,8	
Masse adulte (kg)	80 à 100	55 à 65
Viabilité 0-90 j (%)	92	
Durée de gestation des brebis	151,4±2,1	

2. Anatomie de l'appareil génital du bélier

Le système de reproduction d'un mammifère mâle comprend trois parties avec des fonctions différentes (Baronne, 2001) :

- une partie glandulaire représentée par les deux testicules dont le rôle est la formation des spermatozoïdes et l'élaboration des hormones mâles telle que la testostérone.

- une partie tubulaire : les voies spermatiques qui acheminent les spermatozoïdes de l'intérieur des testicules par l'épididyme vers l'extérieur par le conduit déférent jusqu'à l'urètre.

- une partie uro-génitale, commune aux voies urinaire et génitale, composée elle-même de deux parties : l'urètre pelvien, situé dans le bassin, où de nombreuses glandes sécrétrices qui jouent un rôle dans la maturation des spermatozoïdes se terminent.

Ainsi, l'urètre pénien qui aboutit au méat urinaire auquel s'ajoutent des formations érectiles annexes volumineuses (Figure 4).

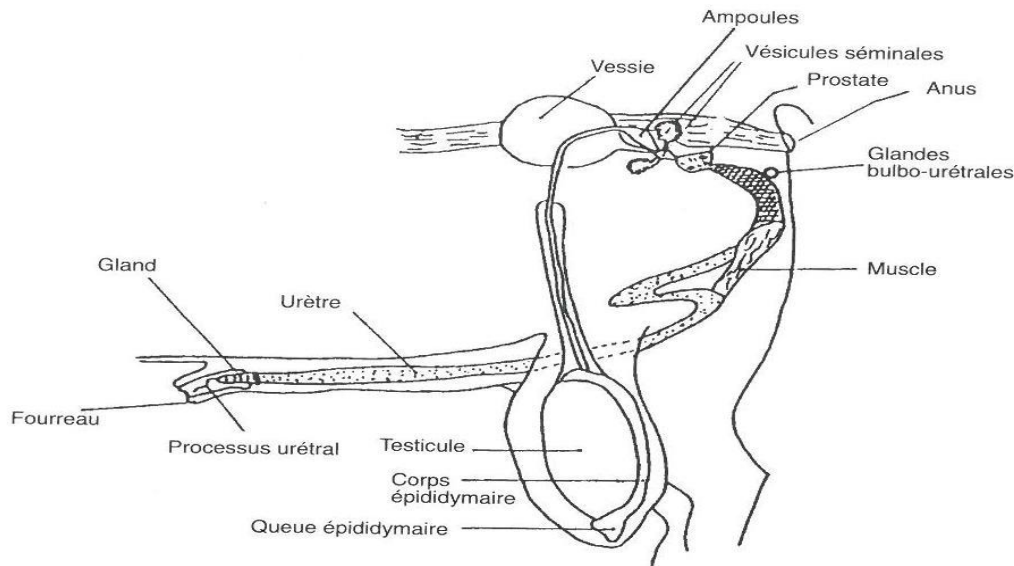


Figure 4: Système reproducteur du bélial (Baril, 1993)

2.1. Les glandes annexes de l'appareil génital mâle

Les glandes annexes incluent la prostate, les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales. Elles produisent le liquide séminal qui se mélange avec les spermatozoïdes pour former la semence ou le sperme (Thibault, 2001).

a. Prostate

C'est une glande unique bilobée qui se situe sur le col de la vessie de part et d'autre de l'urètre. Dans chaque lobule, des glandes tubulo-alvéolaires de type séreux déversent dans la lumière des sécrétions qui sont acheminées par des canaux dans l'urètre (Baronne, 2001) (Figure 5). Le liquide prostatique est riche en acides aminés et en enzymes (phosphatases alcalines et acides). Il permet le nettoyage de l'urètre avant et pendant l'éjaculation. Il fournit des minéraux au sperme qui neutralisent l'acidité liée au métabolisme des Spz due à la production de lactate et du CO₂ et déclenche la mobilité des Spz. L'activité de la prostate est sous la dépendance d'androgènes (Banerjee et al., 2018).

b. Les vésicules séminales

Les deux vésicules séminales (ou glandes vésiculaires), sont des glandes tubulo-alvéolaires qui ressemblent à de petites poches bulbeuses situées juste au-dessus de la prostate, situées de part et d'autre de l'insertion des conduits déférents avec le conduit commun ou conduit éjaculateur qui débouche dans l'urètre.

Les cellules épithéliales des vésicules séminales sont androgéno-dépendantes, elles sécrètent le plasma séminal, un liquide alcalin riche en protéines (enzymes, inhibiteurs d'enzymes, protéines structurales) et du mucus gélatineux, épais et blanc, composé entre autres de fructose, d'acide citrique et de prostaglandines. Ces dernières jouent un rôle dans les contractions des voies génitales femelles en favorisant la migration des Spz dans les voies femelles (Baronne, 2001) (Figure 5).

c. Les glandes bulbo-urétrales

Appelées aussi glandes de Cowper, elles déversent leur sécrétion dans l'urètre membraneux. Le principal composant de la sécrétion des glandes bulbo-urétrales est la sialomucine, un liquide albumineux transparent responsable de la gélification de la semence après son émission. Les sécrétions des glandes bulbo-urétrales permettent de lubrifier le pénis et le vagin mais surtout de protéger et nettoyer l'urètre des restes d'urine avant l'éjaculation (Baronne, 2001).

Le rôle majeur de ces glandes est de produire un plasma séminal qui apporte de l'énergie aux Spz qui permet la dilution des gamètes afin d'activer leur mobilité progressive, d'assurer leur transfert dans le tractus génital femelle et de maintenir leur pouvoir fécondant. Cependant, des études ont montré des taux de fécondation élevés avec des Spz prélevés de l'épididyme chez les Bovins (Cunha et al., 2019), ainsi qu'une possibilité d'utiliser des Spz épидидymaires récupérés jusqu'à 24 heures après le décès de l'animal pour l'insémination artificielle ou fécondation *in vitro* chez les ovins (Bergstein-Galan et al., 2017). En revanche, des différences durant la conservation ont été enregistrées entre le sperme éjaculé et celui prélevé de l'épididyme (Bertol et al., 2013 ; Bergstein-Galan et al., 2017).

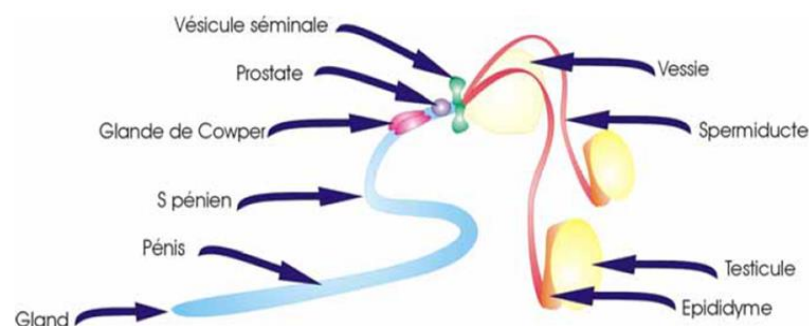


Figure 5 : Schéma explicatif de l'appareil reproducteur du bélier

3. Physiologie de l'appareil reproducteur du bélier

Le sperme est le mélange de produits testiculaires (spermatozoïdes (Spz)) par un phénomène appelé Spermatogenèse et les sécrétions des différentes glandes annexes (plasma séminal (PS)) élaborées au cours de la progression des spermatozoïdes dans les différentes parties du tractus génital.

3.1. Production du sperme

a. Spermatogenèse

C'est la formation de Spz à partir de cellules souches (spermatogonies) dans les tubes séminifères se déroule en quatre étapes et selon trois évolutions majeures :

- La multiplication infinie par mitose qui donne des spermatogonies actives ($2n$).
- La réduction du nombre de chromosomes (phase d'accroissement) qui débute à la puberté sous l'effet de la testostérone et qui se caractérise par une accumulation des réserves avec concentration en mitochondries et enzymes.
- Le changement complet de l'aspect de la spermatogonie qui comporte deux phases : la maturation et la différenciation où la spermatide se métamorphose en Spz (n) fonctionnel qui transite dans l'épididyme pour finir sa maturation (Dacheux et Dacheux, 2001) (Figure 6).

A la fin de ce processus, on obtient des Spz formés d'une cellule hautement différenciée de 50 à 80 μ M de longueur, comportant trois parties principales : la tête, la pièce intermédiaire et le flagelle. Dont le flagelle peut être divisé en quatre segments distincts suivants : la pièce de connexion (le cou), la pièce médiane, la pièce principale et l'embout (Cummins et al., 1985). La largeur et la longueur de la tête du sperme varient en raison des variations de la taille et de l'organisation de l'acrosome et des noyaux (Mortimer, 2018). En général, la taille et la forme du Spz varient selon les espèces (Fawcett 1970 ; Gage, 1998). Les volumes mitochondriaux étaient positivement corrélés avec le contenu en ATP et les vitesses de déplacement des Spz (Gu et al., 2019). La production de Spz est continue au cours de la vie de l'animal. La durée de la spermatogenèse est d'environ 49 jours chez le bélier. Le temps de transit moyen dans l'épididyme est de 8 jours (Hochereau et al., 1964). Cela signifie que la durée de la spermatogenèse est d'environ deux mois. C'est pourquoi ce délai doit être pris en compte pour mesurer l'effet de différents facteurs sur la spermatogenèse et la fonction testiculaire. Le stockage des Spz peut durer jusqu'à trois semaines et se fait essentiellement dans la queue de l'épididyme (70%). Ils peuvent aussi être stockés dans le canal déférent (2 %). Les Spz non éjaculés sont résorbés ou éliminés dans les urines.

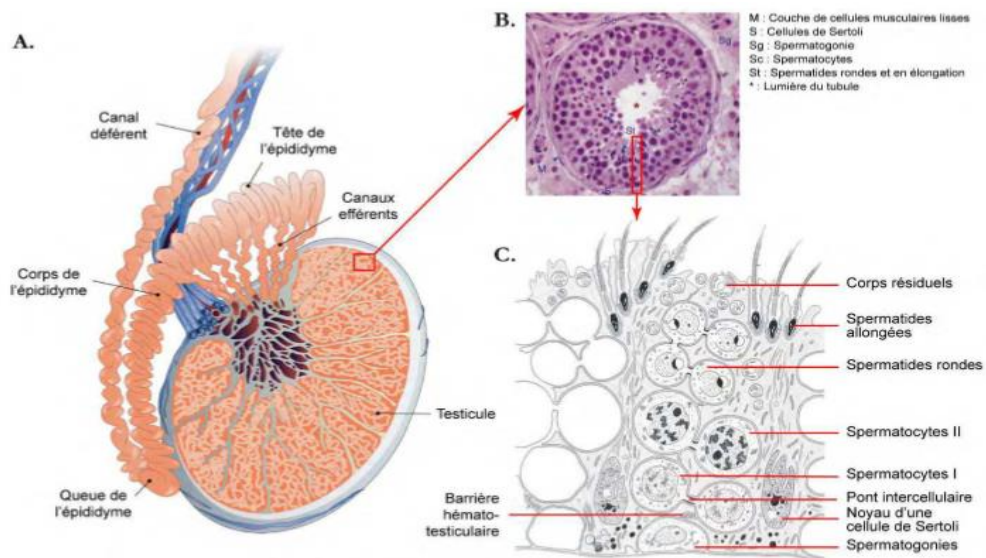


Figure 6: Le testicule et d'un tube séminifère, en coupe transversale lieu de la Spermatogenèse chez les mammifères.

- A. Schéma d'un testicule relié au canal déférent par l'intermédiaire de l'épididyme (Belleannée et al., 2012)
- B. Coupe histologique transversale de testicule humain montrant un tubule séminifère (Clermont et al., 2009).
- C. Schéma de la paroi d'un tubule séminifère présentant 2 cellules de Sertoli en contact avec des cellules germinales aux principaux stades de différenciation de la spermatogenèse (Holstein, 1994).

b. Régulation hormonale de la spermatogenèse

La sécrétion de testostérone et la production des spermatozoïdes sont stimulées par deux gonadostimulines hypophysaires, FSH et LH. La production de ces hormones dépend elle-même de la sécrétion pulsatile de gonadolibérine, ou GnRH, une neurohormone hypothalamique (Figure 7).

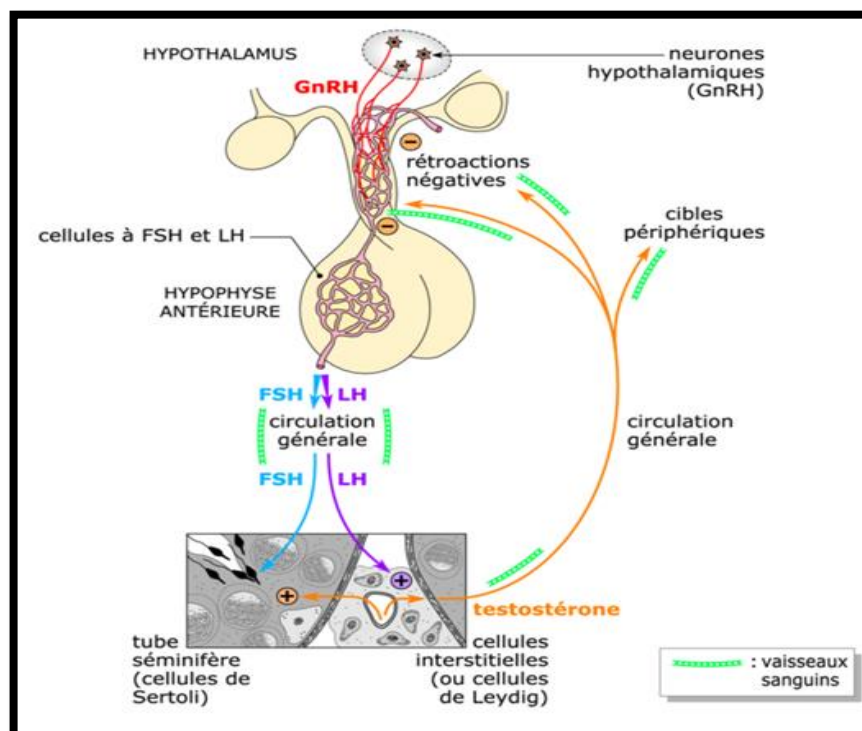


Figure 7: Principe de la régulation physiologique de l'axe gonadotrope male
https://www.cap-concours.fr/sanitaire-et-social/concours-paramedicaux/reviser/la-regulation-de-la-fonction-reproductrice-cc_bio_06/image-t_t204i04 le 20/12/2020

L'hypothalamus est un centre nerveux qui subit des influences du reste du système nerveux. Il permet ainsi la mise en relation entre environnement et reproduction.

Le taux de testostérone est maintenu à un niveau sensiblement constant grâce à la rétroaction négative que cette hormone exerce sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Il en résulte un freinage de l'activité de ce complexe et, par conséquent, une baisse de la production des gonadostimulines puis de celle de la testostérone. À l'inverse, si la concentration de testostérone diminue, il y a production accrue de gonadostimulines. Le taux de testostérone ne varie ainsi que dans des limites étroites.

De plus, par son action sur les cibles périphériques, l'hormone mâle est indispensable au bon fonctionnement du tractus génital, au maintien des caractères sexuels secondaires ainsi qu'à la spermatogenèse (Brice et al., 1995).

c. Le Spermatozoïde

Un spermatozoïde est constitué de deux parties : la tête et le flagelle (Figure 8).

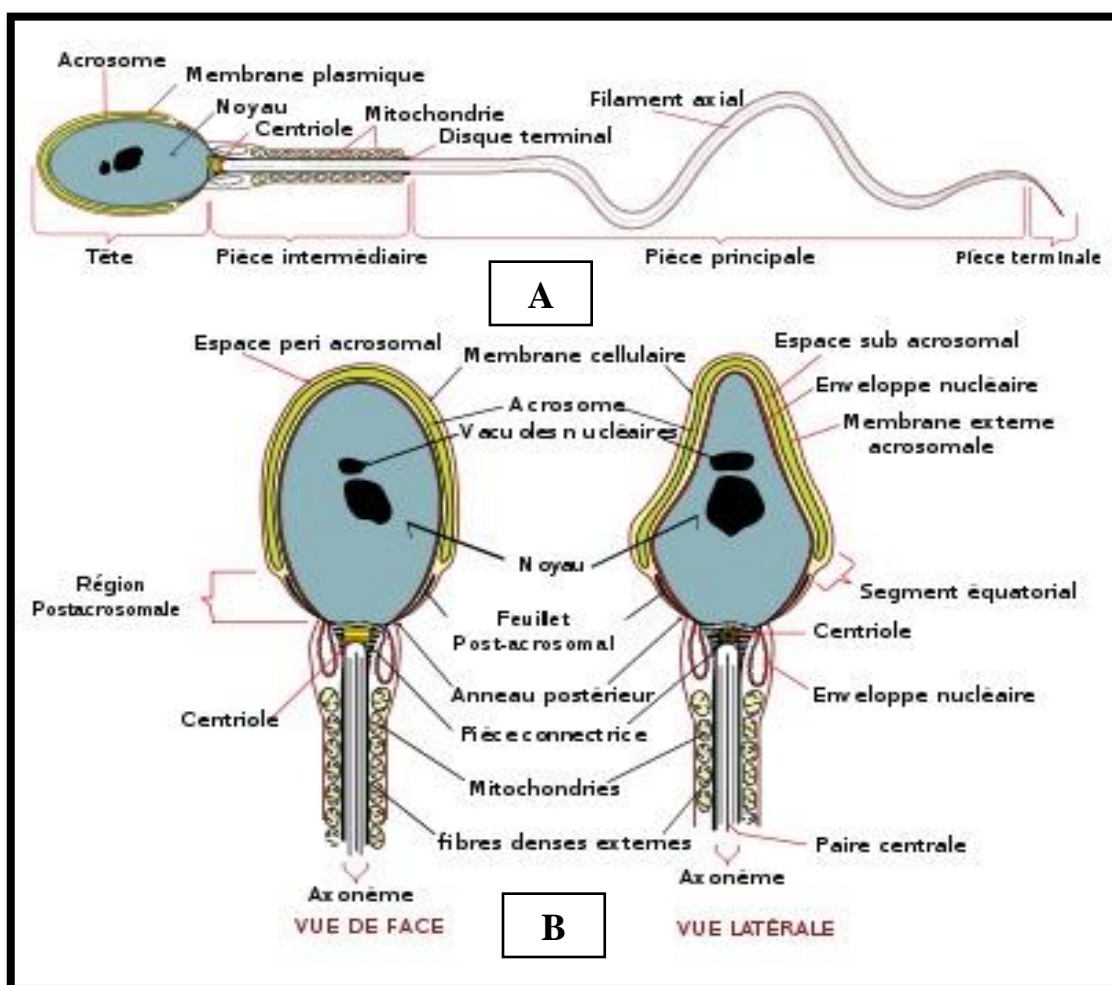


Figure 8: Structure d'un spermatozoïde. A) Schéma d'un spermatozoïde. B) Schéma de la tête d'un spermatozoïde.

https://www.dakaractu.com/Le-sperme-en-chiffres_a14502.html le 20/12/2020

La tête est composée d'un noyau, un acrosome, une faible quantité de cytoplasme et de composantes cytosquelettiques (Knobil et Neill, 1988). L'acrosome est une organelle dérivant de l'appareil de Golgi et il est situé dans la partie antérieure de la tête du spermatozoïde. Il est constitué de deux membranes : une membrane intérieure qui suit la partie antérieure du noyau et une membrane extérieure qui est accolée à la membrane plasmique. L'acrosome contient plusieurs enzymes protéolytiques nécessaires à la fusion entre le spermatozoïde et l'ovocyte. Certaines de ces enzymes ne sont retrouvées que chez les spermatozoïdes de mammifères, telles que l'hyaluronidase (glycosidase) et l'acrosine (protéase à sérine). L'acrosome contient également d'autres enzymes en plus petite concentration qui sont fréquemment retrouvées dans les lysosomes primaires (Knobil et al., 1988). Le flagelle du spermatozoïde lui permet de se mouvoir dans le tractus génital femelle et atteindre l'ovocyte afin de le féconder. Il est composé de quatre parties distinctes : la pièce connective, la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale (Eddy et al., 2003) (Figure 8). La pièce connective est située entre la tête et la pièce intermédiaire, dans une zone que l'on nomme le col, qui a pour fonction de lier la tête au flagelle. La pièce intermédiaire contient une couche de mitochondries qui entoure les structures cytosquelettiques. La pièce principale est entourée d'une couche fibreuse qui est unique aux spermatozoïdes et qui sert d'échafaudage aux protéines des voies de signalisation qui sont possiblement impliquées dans la maturation, la motilité, l'hyperactivation et/ou la réaction de l'acrosome (Eddy et al., 2003). Le flagelle contient un axonème central qui va de la tête jusqu'à la partie terminale de la queue, formé par un complexe de microtubules, entouré au niveau de la pièce intermédiaire par des fibres denses extérieures. L'ATP est utilisée comme source d'énergie afin de permettre le mouvement du flagelle (Eddy et al., 2003).

d. La membrane plasmique des spermatozoïdes

La membrane plasmique du spermatozoïde est divisée en différents domaines dont la composition et la fonction varient. La membrane plasmique de la tête est segmentée en trois parties : l'acrosome antérieur, le segment équatorial et la région post-acrosomique. Le flagelle du spermatozoïde est divisé aussi en quatre parties qui sont entourées par la membrane plasmique. La composition en lipides de la membrane des spermatozoïdes de mammifères varie d'une espèce à l'autre (Hinkovska et al., 1986). La composition phospholipidique des membranes plasmiques des spermatozoïdes présente un intérêt particulier en raison de la participation des phospholipides aux processus de capacitation et de fusion dans la réaction acrosomale. Toutefois, les principales fractions phospholipidiques des membranes plasmiques des spermatozoïdes de bélier sont la phosphatidylcholine (PC), la sphingomyéline (SM) et la phosphatidyléthanolamine (PE), avec environ 56%, 13% et 12% respectivement des phospholipides totaux.

Les fractions PC et PE contiennent respectivement 40 et 20% de dérivés diacylés, tandis que les 60 et 80% correspondants sont présentés par des éther phospholipides (Hinkovska et al., 1986).

Les membranes plasmiques des spermatozoïdes de bélier contiennent un pourcentage comparativement élevé de phosphatidylglycérol (PG) et de diphosphatidylglycérol (DPG) environ 5,8 et 7,8% respectivement. Les rapports cholestérol / phospholipide (CH / PL) et SM / PC sont plus élevés, d'environ 0,360 et 0,236 respectivement. Ainsi le rapport acide gras saturés / insaturés est de l'ordre de 0,24. Les principaux acides gras saturés de la PC sont l'acide palmitique (16 : 0) et stéarique (18 : 0) étaient régnant, alors que les acides gras polyinsaturés comme acides ocosahexaéniques (22 : 6, n-3), docosapentaénique (22 : 5, n-6) et l'achidonique (20 : 4, n-6), sont plus abondants dans les molécules PC (Hinkovska et al., 1986).

La composition et l'organisation de la membrane plasmique du spermatozoïde sont modifiées lors de son transit dans l'épididyme, pendant l'éjaculation et durant son passage dans le tractus génital femelle.

e. Capacitation des spermatozoïdes et réaction de l'acrosome

Les spermatozoïdes fraîchement éjaculés ne possèdent pas encore leur pouvoir fécondant. Ils doivent subir plusieurs modifications biochimiques et physiologiques qui ont lieu dans le tractus génital femelle afin d'être capable d'enclencher la réaction de l'acrosome qui est nécessaire à la fécondation. L'ensemble de ces changements est connu sous le nom de capacitation et a été décrit pour la première fois par Austin et Chang (Austin, 1951 ; Chang, 1951). Durant la capacitation, il y a une augmentation des ions Ca^{2+} , HCO_3^- and Na^+ à l'intérieur du spermatozoïde, ainsi qu'une augmentation intracellulaire du pH. De plus, il y a une diminution du ratio cholestérol/phospholipide de la membrane, une perte de certaines protéines présentes à la surface du spermatozoïde, une production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), une augmentation de l'AMP_c intracellulaire, ainsi qu'une augmentation de la phosphorylation sur tyrosine de certaines protéines (Travis et Kopf, 2002 ; Jha et al., 2003).

Dans le tractus génital femelle, la capacitation des spermatozoïdes est initiée par les lipoprotéines de haute densité (HDL), qui sont des accepteurs de cholestérol, ainsi que les glycosaminoglycanes (héparane sulfate et chondroïtine sulfate (Lane et al., 1999 ; Thérien et al., 2005). *In vitro*, la capacitation des spermatozoïdes peut être induite par l'héparine (Thérien et al., 1995), un glycosaminoglycane. Les spermatozoïdes capités peuvent ensuite se lier à la zone pellucide qui entoure l'ovocyte via la protéine ZP3 et déclenchent la réaction de l'acrosome par la libération des enzymes hydrolytiques acrosomiques qui servent à digérer partiellement la zone pellucide.

Cette action favorise la fusion de sa membrane acrosomique externe avec la membrane plasmique (Wassarman et Litscher, 2008), qui se termine par la fécondation (Knobil et Neill, 1988).

f. Le plasma séminal

Du testicule à la queue de l'épididyme, les Spz subissent des modifications biochimiques et fonctionnelles qui conduisent à l'acquisition du pouvoir fertilisant. Lors de l'éjaculation et de leur dépôt dans le tractus génital féminin, les Spz sont transportés par un fluide biologique complexe appelé plasma séminale (PS) qui représente 95 à 98% du sperme (Vitku et al., 2017). Le PS résulte des sécrétions de plusieurs glandes du tractus génital masculin, à savoir l'épididyme, la prostate, les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales (Maxwell et al., 2007) qui sont étroitement régulées par les androgènes (Smith et Walker, 2014).

Cependant, sa composition principale en protéines, ainsi qu'en d'autres familles de molécules tels que les sucres, les lipides, les ions comme le magnésium, le calcium et le zinc (Morrel, 2011) suggère des interactions entre ces éléments et la surface du sperme qui assurent plusieurs fonctions biologiques (Rodríguez-Martínez et al., 2011) et a des effets positifs ou négatifs sur la qualité et la fertilité des Spz (Asadpour, 2012 ; Halenár et al., 2015 ; Halenár et al., 2017).

En plus d'être un moyen de transport permettant la pénétration d'un Spz dans l'ovule (Krakowski et al., 2015), le PS remplit plusieurs fonctions dont on cite : 1) il stimule la motilité des Spz pendant l'éjaculation (Błaszczyk et al., 2013), 2) il présente une source d'énergie sous forme de fructose pour les Spz lors de leur parcours (Morrel, 2011), 3) il protège contre les infections et les agents toxiques, ainsi de vaincre le milieu chimique et immunologique de la mucus vaginale (Vitku et al., 2017), 4) il joue un rôle indirect sur la reproduction via l'activation des mécanismes inflammatoires et immunitaires chez la femme (Schjenken et Robertson, 2014 ; Rath et al., 2016).

La composition du PS influence la qualité du sperme des étalons à l'état frais et post-décongelés (Usuga et al., 2017). Cette composition biochimique varie au sein de la même espèce, entre espèces, entre individus (Ackay et al., 2006 ; Yotov et al., 2014), au sein du même individu d'une collecte à l'autre (Aguirre et al., 2007 ; Juyena et al., 2011), de la saison au cours de laquelle le sperme est collectée (Abecia et al., 2016) et l'âge de bélier (Fraser et al., 2016).

La maturation des Spz dans l'épididyme consiste en l'acquisition progressive de la mobilité et de la liaison avec la zone pelliculaire lors de leur transit (Dacheux et Dacheux, 2013 ; Sullivan et Mieusset, 2016) suite aux mécanismes associés à l'activité de l'épididyme (Dacheux et al., 2012). Lors d'éjaculation, les Spz interagissent pendant une courte période avec le plasma séminal.

Une longue durée de contact entre les Spz avec le plasma séminal non dilué, induit leur mort rapide, alors que les Spz de l'épididyme peuvent être conservés non dilués dans le fluide épидидymale pendant plusieurs jours tout en conservant leur capacité de fertilisation (Abella et al., 2015 ; Bergstein-Galan et al., 2017). Cependant, une dilution du sperme permet d'éviter les effets négatifs du plasma séminal dont la concentration finale, variable selon les espèces, est généralement bénéfique pour la conservation du sperme à l'état liquide ou congelé (Kershaw-Young et Maxwell, 2011 ; Mata-Campuzano et al., 2015b).

L'origine et le profil du protéome plasmatique séminal varie entre les espèces de mammifères (Druart et al., 2013). En effet, il est principalement produit par l'épididyme (Guyonnet et al., 2011 ; Belleannee et al., 2012) au niveau des régions proximale et distale (Guyonnet et al., 2011 ; Belleannee et al., 2012). Chez les bovins la vésicule séminale est la source majeure des protéines du plasma séminal (Westfalewicz et al., 2017), ajoutées aux protéines d'origine épидидymale (Westfalewicz et al., 2017). Ces protéines s'interagissent avec les composants des membranes des Spz (Cornwall, 2014 ; Dacheux et al., 2016 ; Gadella, 2017).

Cependant, les protéines sont impliquées dans plusieurs mécanismes tels que la protection contre le stress oxydatif, les infections, la motilité des Spz, le maintien du pouvoir tampon (28,5%), le remodelage de la membrane plasmique, la capacitation des Spz, la réaction de l'acrosome, l'interaction spermatozoïdes-ovocyte, la fécondation (Poiani, 2006 ; Gadella, 2008), la fertilité (Druart et de Graaf, 2018), le développement embryonnaire (Moura et al., 2011) ainsi que la prévention contre les dommages induits par la variation de la température (Pérez-Pé et al., 2001). Certaines protéines pourraient avoir des effets négatifs sur le sperme chez le bélier, tels que la glycoprotéine alpha de zinc (Rickard et al., 2015) et les Binder of Sperm proteins (BSP) chez les bovins (D'Amours et al., 2010 ; Sarsaifi et al., 2015). Les protéines majoritaires du protéome plasmatique diffèrent d'une espèce à l'autre.

En effet, chez les équines les études récentes ont identifié 59 protéines dont la kallikréine E1 comme l'une des principales avec les BSP et les protéines sécrétoires riches en cystéine (HSP3, CRISP) (Druart et al., 2013). Chez le porc, des spermadhésines (Strzezek et al., 2005) et la fibronectine (Druart et al., 2013) parmi 536 protéines identifiées (Perez-Patino et al., 2016). Chez le chien, l'arginine estérase et la lactoferrine prostatique (Kikuchi et al., 2003) sur 268 protéines (Aquino Cortez et al., 2017). Le " β -nerve growth factor" ou β -NGF sur les 20 protéines identifiées, responsable d'induction d'ovulation, constitue respectivement 47% et 25% de la quantité totale de protéines dans le plasma séminal de l'Alpaga et Dromadaire (Druart et al., 2013). Il reste à signaler que le protéome plasmatique séminal chez l'Homme est le plus étudié avec plus de 2000 protéines identifiées par (Milardi et al., 2013 ; Gilany et al., 2015).

Chez le bélier, l'analyse du PS en utilisant des méthodes de spectrométrie de masse à haute résolution a permis d'identifier plus de 700 protéines avec une forte abondance de protéines de la famille Binder of Sperm (BSP1, BSP5, SPADH1, SPADH2), la famille des spermadhesines (bodhesin2) les bodhesines présents aussi chez le bouc (Souza et al., 2012). Les BSPs régulent la capacitation durant le transit des Spz montrant une relation négative avec la capacité de congélation et la fertilité chez les bovins (Leahy et de Graaf, 2012 ; Plante et al., 2015b ; Sarsaifi et al., 2015). Alors que, les protéines du liquide séminal acide telles que les spermadhésine (SPADH) protègent la membrane des spermatozoïdes contre les dommages causés par la cryoconservation (Somashekar et al., 2015, 2017).

D'autres protéines ont été identifiées, comme l'albumine qui protège les spermatozoïdes contre le stress oxydatif en piégeant les radicaux libres (Roche et al., 2008), la lactoferrine sécrétée par les cellules de sertoli, l'épithélium de l'épididymaire et par certaines glandes annexes (Sinha et al., 2013). De même, une lipoprotéine de haute densité (HDL) appelé l'Apolipoprotéine (A1), présente dans le PS de bélier et de bovin (Moura et al., 2011 ; Souza et al., 2012) capte le cholestérol et les phospholipides durant la capacitation des Spz induite par les BSPs (Manjunath et al., 1989), ainsi par d'autres protéines nouvellement identifiées comme UPF0762 (gène C6orf58) (Soleilhavoup et al., 2014).

En plus, Il existe une large gamme d'acides aminés dans le PS dont la plupart sont issus des testicules ou des épидидymes. Leurs concentrations augmentent après l'éjaculation en raison d'une activité protéolytique étendue qui a lieu dans le sperme (Mann, 1964). Ces acides aminés servent comme substrat facilement oxydable pour la production de l'énergie utilisée dans la motilité des Spz (Neumark et Schindler, 1967) comme l'arginine (Patel et al., 1998) ou pour l'intensification de l'activité de la transaminase oxaloacétiques glutamiques (GOT) (Flipse, 1960) comme l'acide glutamique à grande concentration dans le PS.

Pour protéger les Spz contre le stress oxydatif, les Spz et le PS contiennent plusieurs enzymes antioxydants tel que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion réductase (GR), la glutathion peroxydases (GPx) et la catalase (CAT).

De manière surprenante, le PS a une concentration plus élevée d'antioxydants que tout autre fluide biologique, y compris le sérum sanguin (Mann, 1964). Ces antioxydants présents dans le PS compensent principalement la déficience en enzymes cytoplasmiques. D'autres enzymes présentes dans le PS comme la GOT, l'aspartate aminotransférase (AAT), le pyruvate glutamique transaminase, l'alanine aminotransférase, la phosphatase alcaline (ALP) et la lactate déshydrogénase (LDH), sont utilisées comme bon indicateurs de la qualité du sperme car elles ont un effet sur la stabilité de la membrane plasmique (Sirat et al., 1996).

On pense que les sources possibles de ces enzymes sont les testicules, les Spz ou l'épididymes parce qu'ils montrent une corrélation positive avec la concentration en Spz et une corrélation négative avec le volume de sperme (Kareskoski et Katila, 2008). Le PS des ruminants contient des hormones comme les œstrogènes, la progestérone, la testostérone, l'hormone lutéinisante (LH), la prolactine et les prostaglandines. Les fonctions spécifiques de ces hormones dans le PS sont encore mal connues. Elles sont secrétées par les cellules de Leydig, de l'épididyme, de la vésicule séminale, de la prostate, ainsi que par des Spz (Hess et al., 2001). Le profil hormonal du PS varie selon les espèces, l'âge, la saison et même entre des individus de la même espèce (...etc.).

Le PS de bélier contient la prostaglandine qui stimule l'activité contractile du col et de l'utérus améliorant ainsi le transport des Spz dans cet organe (Juyena et Stelletta, 2011).

On note aussi la présence du fructose dans le PS des ruminants. Il est utilisé de préférence par les Spz pour produire de l'ATP nécessaire à leur motilité (Sanchez-Partida et al., 1999). Le fructose est synthétisé à partir du glucose selon la voie de la phosphorylation par l'intermédiaire de la sorbitol déshydrogénase et de l'aldose réductase (Agarwal et al., 2004). Il est secrété par les vésicules séminales (Buckett et Lewis-Jones, 2002) et stimulé par la testostérone (Kumar et Farooq, 1994) dont sa concentration dans le PS est corrélée positivement avec la motilité des Spz (Goeritz et al., 2003). La concentration en fructose dans le PS tend à augmenter pendant la saison de reproduction (Matsuoka et al., 2006).

La composition lipidique de la membrane plasmique et du PS est une caractéristique clé de la fonction des Spz. L'épididyme et la membrane des Spz pourraient être la source des lipides du PS (Pickett et Komarek, 1966). Les profils lipidiques comprennent le cholestérol, les phospholipides, les diglycérides et les triglycérides. Les phospholipides et le cholestérol ont une importance particulière dans la structure et la fonction de la membrane plasmique des Spz (Cross, 1998) et jouent un rôle important dans la structure, le métabolisme, la capacitation et la fécondation des ovocytes (Hafez, 1987).

De même, les lipides du PS jouent un rôle important dans la structure de la membrane des Spz, son métabolisme, sa capacitation et sa fertilité (Tavilani et al., 2008). Certains chercheurs ont rapporté la réduction de la concentration des Spz et celle de la motilité sont associées à une diminution de la teneur en lipides du plasma séminale (Taha et al., 2000).

En outre, la fonction du sperme dépend fortement de l'environnement ionique (Hamamah et Gatti, 1998). Des cations tels que Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} présents dans le PS, ont un rôle important dans l'équilibre osmotique et ils rentrent dans la composition de nombreuses enzymes (Cevik et al., 2007).

Chez le sanglier, le sodium et le chlore sont les ions les plus abondants et, entre autres fonctions, ils influencent le métabolisme et donc la motilité des spermatozoïdes et la stabilité de la membrane, ce qui peut modifier la morphologie des spermatozoïdes (López-Rodriguez et al., 2013). Le potassium, un inhibiteur métabolique, diminue le métabolisme et la motilité des spermatozoïdes (Massanyi et al., 2003 ; Juyena et Stelletta, 2012).

Le Ca^{2+} et le Mg^{2+} se trouvent dans presque tous les systèmes enzymatiques. Ils sont considérés comme des marqueurs de la sécrétion de vésicules séminales (Wong et al., 2001). Le calcium, d'une importance capitale pour les variations de motilité des spermatozoïdes, est essentiel pour déclencher la réaction acrosomique (Juyena et Stelletta, 2012).

Le magnésium est impliqué dans presque toutes les réactions enzymatiques, et donc lié à la motilité du sperme et à la préservation de la membrane du sperme (Juyena et Stelletta, 2012; López-Rodriguez et al., 2013 ; Halo et al., 2018).

En outre, le Cu^{2+} , le Mn^{2+} , le Mg^{2+} et le Zn^{2+} agissent en tant que cofacteurs pour diverses enzymes associées à la qualité du sperme chez les rongeurs et les humains (Wirth et al., 2007 ; Singhi et al., 2010 ; Pipan et al., 2017). Ils sont impliqués dans la protection cellulaire contre les radicaux libres (Eghbali et al., 2008 ; Arinola et al., 2008). Cependant, il a été prouvé que le Zn^{2+} et le Mg^{2+} montrent une corrélation avec la fertilité (Shquirat et al., 2013 ; Zhao et al., 2016), l'oligospermie, l'asthénospermie et la prostatite (Yamaguchi et al., 2009). Le Mn^{2+} est l'un des puissants stimulateurs de la motilité (Lapointe et al., 1996), des taux sériques élevés de Mn^{2+} présentent un effet néfaste sur la morphologie et la motilité des Spz chez l'homme (Yuyan et al., 2012).

Le zinc stabilise la membrane plasmique des Spz (Lewis-Jones et al., 1996 ; Chia et al., 2000) et l'assemblage final de nucléoprotéines d'ADN en protégeant l'ADN contre la fragmentation (García-Contreras et al., 2011 ; Wani et al., 2017). Le Zinc est un marqueur de la fonction prostatique et joue un rôle dans le développement testiculaire tel que, la spermatogenèse, la concentration (Fallah et al., 2018), la capacitation, la réaction acrosomique (Eggert-Kruse et al., 2002) et la motilité des Spz (Khan et al., 2011 ; Fallah et al., 2018). Il contrôle aussi l'utilisation de l'énergie à travers les systèmes d'adénosine triphosphate ainsi que la régulation des réserves d'énergie, des phospholipides (Hidiroglou et Knipfel, 1984), préserve la fonction mitochondriale et agit comme un agent protecteur contre le stress oxydatif (Gavella et Lipovac, 1998 ; Guthrie et al., 2008) et contribue à l'activité antibactérienne de la SP (Juyena et Stelletta, 2012) du PS. Cependant, un faible apport en zinc pourrait entraîner un arrêt de la spermatogenèse (Cheah et al., 2011) et une faible concentration sérique en testostérone (Fallah et al., 2018).

D'autres ions comme le sélénium qui est un composant de la glutathion peroxydase, une enzyme aux propriétés antioxydantes dont la présence dans le SP a été associée à la viabilité, la fertilité *in vivo* (Barranco et al., 2016), la motilité, la morphologie des spermatozoïdes et à l'intégrité de l'ADN (Pipan et al., 2017).

Enfin, des niveaux plus élevés d'autres ions, y compris le fer et le cuivre, ont été corrélés positivement avec le nombre des Spz fonctionnels après stockage (Pipan et al., 2017).

4. Facteurs qui influencent la production du sperme

Plusieurs facteurs influencent la production du sperme et la libido des béliers notamment la saison, la durée d'éclaircissement, l'âge, l'alimentation, la santé et le stress. L'activité de production du sperme est maximale pendant les mois d'automne et d'été (période de la saison sexuelle), contre une diminution claire de la libido, de la circonférence scrotale, de la quantité et de la qualité de production de Spz, avec une baisse de la fertilité en hiver et en printemps (période de contre-saison sexuelle).

4.1. L'Age

Au début de la puberté, les animaux sont de trop petite taille pour effectuer correctement la saillie et manquent d'expérience (Meyer et al., 2004).

Chez le bélier, si la production de Spz commence à la puberté environ (100 à 150 jours) (Rassu et al., 2004). Les premiers cycles spermatiques sont incomplets, ce qui implique un sperme de mauvaise qualité et de faible fertilité. Ce n'est qu'à l'âge de 18 mois qu'il peut présenter une fécondité acceptable (Boukhliq, 2002).

L'âge du bélier est l'un des principaux facteurs contribuant aux différences dans la circonférence scrotale et les caractéristiques du sperme (Maksimovic et al., 2016), qui sont étroitement liées à la production totale de sperme (Etim, 2015).

Plusieurs études ont montré une amélioration de la qualité de la production du sperme avec l'âge après la puberté (Focșăneanu et al., 2014 ; Maksimovic et al., 2016) pour atteindre un plateau vers l'âge de 3 ans (Hassan et al., 2009). Mais cette capacité de production du sperme n'est pas toujours croissante car elle diminue avec le vieillissement du mâle (Bhakat et al., 2011). En effet, Chella et al. (2017) ont rapporté une diminution significative de la qualité d'éjaculation ainsi qu'une diminution de la résistance à la conservation avec l'âge avancé, confirmant les travaux de Štolc et al., (2009).

4.2. La saison

Les ovins sont largement connus comme des animaux à saisonnalité marquée de l'activité reproductrice, en particulier dans les latitudes et les altitudes les plus élevées. Cependant, plus la latitude est élevée, plus la photo-dépendance est grande, plus la période d'activité de reproduction est restreinte (Poulton, 1987).

Chez la plupart des races ovines, la saison de reproduction commence pendant l'été ou au début d'automne (Chemineau et al., 1992) et sa longueur varie largement d'une race à l'autre, mais en général, elle se termine pendant l'hiver (Hafez, 1952). A l'exception des régions équatoriales, les ovins sont exposés à des changements saisonniers qui affectent leur reproduction (Balthazart et Fabre-Nys, 2001 ; Malpaux, 2001). Les béliers sont capables de produire de la semence durant toute l'année. Cependant, des variations quantitatives et qualitatives ont été observées (Saadi et al., 2016 ; Al-Anazi et al., 2017 ; Belkadi et al., 2017).

Plusieurs études ont montré que les fluctuations saisonnières affectent l'activité hormonale (Zamiri et al., 2005 ; Aller et al., 2012), la gamétogénèse (Barenton et Pelletier, 1983), le poids corporel (Allaoui et al., 2014), la taille testiculaire (Allaoui et al., 2014 ; Olah et al., 2014 ; Belkhiri et al., 2017), la qualité de la production du sperme (Moghaddam et al., 2012 ; Pourseif et al., 2013), la composition du plasma séminal (Fraser et al., 2016), la composition en acides gras du sperme (Argov et al., 2007 ; Aurich et al., 2018), ainsi que la conservation du sperme (Perumal et al., 2015).

4.3. La photopériode, la mélatonine et les hormones thyroïdiennes

A des grandes latitudes, les animaux sont exposés à des changements des conditions environnementales (la température, l'éclairement et l'alimentation) qui influencent leur reproduction (Chalivoixa, 2010). Le changement de la photopériode est nécessaire pour la synchronisation saisonnière de la reproduction des ovins (Chalivoixa, 2010).

L'information photopériodique perçue par la rétine de l'œil est acheminée par plusieurs étapes nerveuses (hypothalamus et ganglions cervicaux) à la glande pinéale qui la traduit en un signal hormonal en synthétisant et en sécrétant la mélatonine. Comme c'est la photopériode qui contrôle les variations saisonnières de l'activité sexuelle chez les ovins, la mélatonine est donc une substance clé qui module la reprise ou l'arrêt de la reproduction. Pendant la saison à jours courts ou l'administration de longue durée de la mélatonine induit l'activité sexuelle chez les brebis. Au contraire, la saison à jours longs ou l'administration de courte durée de mélatonine inhibe l'activité sexuelle. Cela signifie que la mélatonine est capable de reproduire l'effet de la photopériode chez la brebis, dans les conditions naturelles (Castonguay, 2018).

La glande pinéale est la source principale de la mélatonine. Elle est synthétisée à partir du tryptophane et de la sérotonine, sous l'effet de plusieurs enzymes dont l'activité est commandée par la perception jour/nuit. Cette hormone est sécrétée exclusivement de façon pulsatile durant l'obscurité (100 à 500 pg/ml dans la nuit). Finalement, elle est métabolisée dans le foie, les reins et le cerveau et est excrétée dans l'urine.

La mélatonine agirait en augmentant la sécrétion de la GnRH. Son effet sur la GnRH n'est pas direct. Il impliquerait différents neurotransmetteurs (dopamine, sérotonine noradrénaline) qui joueraient le rôle de relais entre les cellules cibles de la mélatonine dans l'hypothalamus et les cellules sécrétrices de GnRH (neurones à GnRH) (Castonguay, 2018).

Chemineau et al. (1996b) et Rosa et al. (2012) ont montré que chez les petits ruminants, l'implantation de la mélatonine ou le traitement photopériodique provoquent la croissance testiculaire et l'amélioration de la production du sperme. Ainsi, la supplémentation de la mélatonine dans le milieu de conservation réduit le stress oxydatif et améliore la résistance des Spz à la conservation (Medrano et al., 2017).

De même, les hormones thyroïdiennes jouent un rôle clé dans le développement de la croissance, comme elles sont impliquées dans l'expression des événements neuroendocriniens qui participent à la rythmicité saisonnière de la reproduction (Bechtold et Loudon, 2007). Woitkewitsch (1940), a découvert chez l'étourneau (*Sturnus vulgaris*), que la thyroïdectomie empêche la diminution de l'activité testiculaire et prolonge indéfiniment la saison de reproduction.

Chez les ovins, de nombreuses études ont montré que les hormones thyroïdiennes participent à l'arrêt de la période de reproduction saisonnière (Nicholls et al., 1988). Cette action inhibitrice de l'axe reproducteur montre l'existence d'une rythmicité saisonnière (Thrun et al., 1996). De même, un apport d'hormone thyroïdienne à des animaux thyroïdectomisés entre décembre et juin, provoque la restauration de l'état d'anoestrus saisonnier (Billings et al., 2002). Cependant, le passage d'un traitement lumineux à jours courts à un traitement à jours longs, a été associé à une augmentation de l'expression de la diodine 2 (Dio2) (catalyse la conversion de la T4 en T3 dans le cerveau) avec une augmentation locale de la T3 (Yen, 2001 ; Yasuo et al., 2006).

Chez le hamster Djungarian, la reproduction pendant les jours longs, on a enregistré une inhibition de l'expression de la Dio2 pendant les jours courts (Watanabe et al., 2004), comme le cas du bélier (Hanon et al., 2008). Par contre, cette expression est inhibée pendant les jours longs chez des animaux de jours courts comme le bouc (Yasuo et al., 2006). Cependant, l'action de la photopériode sur l'expression de la Dio2 serait régulée par la mélatonine chez les hamsters Djungarian et Syrien (Watanabe et al., 2004 ; Revel et al., 2006).

4.4. L'alimentation

Il existe une forte relation entre la nutrition et la reproduction (Ghorbankhani et al., 2015). Ce mécanisme semble étroitement lié aux concentrations périphériques de leptine (Counis et al., 2001), hormone principalement synthétisée et sécrétée par le tissu adipeux, impliquée dans la régulation centrale de plusieurs fonctions telle que l'activité reproductrice (Blache et al., 2006). Brown. (1994) rapporte que les apports énergétiques élevés ont des effets bénéfiques sur l'avancement de la puberté et la production de sperme, avec une augmentation de la taille des testicules. Cependant, la consommation excessive peut avoir des effets nocifs sur la reproduction. De même, des restrictions énergétiques ou protéiques sont plus néfastes sur la production de la semence chez les prépubères que chez les adultes (Maurya et al., 2016), alors qu'une restriction sévère peut même conduire à des lésions irréversibles des gonades à l'âge pré-pubertaire et transitoires chez les adultes (Nicolino et Forest, 2001). De même, une restriction alimentaire pendant la période fœtale ou à l'âge pré-pubertaire entraîne une baisse très significative du nombre de cellules de Sertoli par tube séminifère et par testicule à l'âge adulte, ce qui entraîne une baisse de la production journalière en Spz (Kheradmand et al., 2006 ; Genovese et al., 2010).

Certaines études indiquent que les performances des béliers sont aussi modulées par les apports alimentaires avant et au cours de la lutte (Ghorbankhani et al., 2015). Par contre, une complémentation alimentaire des béliers huit semaines avant la lutte est nécessaire. Elle se manifeste par l'amélioration de leur poids vif, la croissance testiculaire, la production spermatique, la qualité de production des gamètes et la libido.

Le rapport des acides gras polyinsaturés oméga-6 (n-6) au (n-3) peut jouer un rôle important dans plusieurs aspects de la santé et de la reproduction des animaux (Abayasekara et Wathes, 1999).

Chez les mammifères, la membrane des Spz est riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) sous forme d'oméga-3 (AGPI : n-3) (Díaz et al., 2015) et en acide docosahexaénoïque Omega-3 (DHA ; C22 : 6n-3) (Zachut et al., 2011). C'est l'un des facteurs déterminant de la qualité du sperme et de la fertilité (Rooke et al., 2001), ainsi que la fluidité membranaire nécessaire aux fonctions cellulaires normales (Wathes et al., 2007).

Des études antérieures ont démontré que le profil en acides gras de la membrane du sperme peut être modifié par l'alimentation (Castellano et al., 2010). Cependant, la série (n-3) et (n-6) ne peut pas être synthétisée par les vertébrés et doit donc être fournie par l'alimentation, soit sous forme de précurseurs végétaux à 18 carbones (acide linoléique ou acide linolénique) ou dérivés à longue chaîne dans les tissus animaux (20 à 22 atomes de carbone) avec 4, 5 ou 6 doubles liaisons (Samadian et al., 2010).

Tran et al. (2016) ont montré que les AGPI sont associés à l'activité des hormones telles que la LH, la FSH et la testostérone. D'autres chercheurs ont rapporté une réduction significative de la concentration en AGPI du sperme, en particulier l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22 : 6n-3) avec l'âge chez les taureaux (Kelso et al., 1997b). Ce résultat a stimulé l'intérêt commercial de l'utilisation de suppléments alimentaires pour modifier la teneur en AGPI des Spz et augmenter le potentiel de reproduction.

Pour cette raison, différentes stratégies d'alimentation ont été développées pour améliorer la qualité du sperme après le dégel (Jafaroghli et al., 2014). La supplémentation alimentaire avec une composante énergétique (16,4 mégajoules/kg) et protéique (337,5g protéine brute/kg matière sèche) stimule la sécrétion pulsatile de la LH et la sécrétion tonique de la FSH (Boukhliq et Martin, 1997). Elle augmente aussi la circonférence scrotale (1centimètre par semaine). La substitution de l'orge par l'avoine dans le régime des béliers améliore significativement le volume de l'éjaculat (+50%), le nombre de Spz produits (+60%) et diminue considérablement la proportion des gamètes morts (4,5% vs 23,6%) et celle des anomalies de la tête des Spz (1,7% vs 8,3 %). Les mêmes variables sont significativement améliorées par l'injection d'une solution de vitamines (A, D et K) (Mahouachi et al., 2011).

Dans ce sens, plusieurs additifs alimentaires ont été testés chez différentes espèces. En effet, la supplémentation en (AGPI : n-3) associée à des composés antioxydants comme l'huile de foie de requin ou l'huile de poisson augmente : - 1) la teneur en lipides des Spz chez plusieurs espèces (Castellano et al., 2010 ; Towhidi et al., 2012 ; Fair et al., 2014 ; Liu et al., 2015 ; Khoshvaght et al., 2016), en particulier chez les dindons âgés (Blesbois et al., 2004), -2) le pouvoir antioxydant du sperme chez le taureau (Gürler et al., 2015 ; Tran et al., 2016), - 3) la concentration des Spz chez le bélier (Fair et al., 2014), -4) la résistance à la conservation chez le bélier (Esmaeili et al., 2014) et le taureau (Gürler et al., 2015), -5) la motilité progressive et le pourcentage de Spz normaux chez le verrat (Rooke et al., 2001) et le sangliers (Liu et al., 2015), -6) les performances de reproduction des ruminants mâles (Tran et al., 2016), -7) ainsi la qualité du sperme chez les hommes stériles (Falsig et al., 2019).

De même, la supplémentation alimentaire en huile de poisson a des effets positifs sur la motilité progressive, la morphologie et la viabilité des Spz après décongélation chez les taureaux (Khoshvaght et al., 2016).

La supplémentation alimentaire en acide docosahexaénoïque (DHA) ou d'algues riches en acide DHA augmente le volume de sperme et le nombre total de Spz, améliore la motilité totale et progressive, la viabilité, la vitesse moyenne et l'intégrité de la membrane des Spz chez le verrat (Murphy et al., 2017).

Cette supplémentation n'a pas d'effet sur le poids corporel, la circonférence scrotale et sur la congélation après 12 semaines de traitement chez le taureau (Gholami et al., 2010).

Récemment, Zadeh Hashem et al. (2017), ont rapporté que la supplémentation en acide oléique augmente la viabilité, l'intégrité de la membrane plasmique, la capacité antioxydante totale et celle de superoxyde dismutase et diminue les quantités de malonyl dialdéhyde et d'oxyde nitrique pendant le stockage liquide du sperme de bélier. Cependant, d'autres études n'ont montré aucune amélioration de la supplémentation sur la quantité, la qualité (Byrne et al., 2017) et la conservation du sperme (Fair et al., 2014 ; Kaka et al., 2017). Ces résultats ont été attribués à la différence entre espèces, entre races, à l'âge, à la source d'AGPI oméga-3 et à la durée de la supplémentation.

5. La conservation de la semence du bélier

Avec le développement des programmes d'insémination artificiel (IA) à grande échelle, le besoin de transport de la semence sur de longues distances est apparu et la nécessité de la conservation du sperme pendant plusieurs jours s'est imposée.

La conservation du sperme permet la dissémination d'une race dans différents élevages ou à travers le monde en divisant un éjaculat en plusieurs petites doses (250 à 500 μ l) pour inséminer les brebis (Medeiros et al., 2002).

De même, elle permet une bonne gestion de la reproduction des animaux de ferme (les Spz d'un bélier sélectionné peuvent ainsi être utilisés au moment voulu pour l'IA des brebis choisies), ce qui contribue à l'amélioration génétique. Elle est aussi considérée comme un outil puissant pour la conservation d'une race menacée de disparition (le stockage de sperme dans des banques de gène animal).

Dans ce sens, le développement des techniques d'IA chez les ovins a été orienté vers l'amélioration des milieux de dilution, la durée et la température de conservation. D'où la nécessité de développer des méthodes de conservation du sperme à l'état liquide ou congelé, avec des fertilités acceptables pour un protocole d'insémination facile et rapide à mettre en œuvre.

5.1. La conservation à l'état liquide de la semence du bélier

La réussite de l'IA dépend principalement de la qualité initiale du sperme et de sa conservation (Alkan et al., 2002). Les IA réalisées avec de la semence fraîche ont un taux de succès très satisfaisant qui varie selon l'espèce et la technique d'insémination utilisée (King et al., 2004 ; Cseh et al., 2012).

Les Spz des mammifères peuvent être conservés (à 4°C ou entre 15-20°C) sans être congelé pendant une courte durée, soit de quelques heures à quelques jours (Kulaksiz et al., 2012). En général, la semence fraîche de bélier doit être inséminée dans les 8h suivant sa collecte afin d'obtenir des taux de gestation optimaux (Salamon et Maxwell, 2000).

a. Principe de la conservation à l'état liquide de la semence de bélier

Toutes les méthodes de conservation de la semence sont basées sur le même principe : limiter voire arrêter le métabolisme des Spz afin de prolonger leur durée de vie. La méthode la plus efficace pour l'insémination cervicale est l'application du sperme conservé à 15°C pendant 6-8 heures (Anel et al., 2006).

Par ailleurs, le choix du dilueur utilisé présente l'étape cruciale pour réussir la conservation (Salvador et al., 2006).

Le sperme dilué nécessite une durée de conservation minimale de 2 à 4 jours afin d'être utilisé à grande échelle (Anel et al., 2006). Le stockage des Spz à basse température peut inhiber l'activité métabolique, ce qui peut contribuer à l'amélioration du taux de survie (Anel et al., 2006). Dans ce sens, Allai et al. (2015) et Benmoula et al. (2017) ont noté une diminution de la motilité, de l'intégrité morphologique et de la fertilité après le stockage liquide à basse température chez le bélier. Ceci est dû à la perte de perméabilité sélective à basse température (Crowe et al., 2001).

Dans ce sens, deux principaux dilueurs de semence fraîche sont utilisés : le dilueur lacté qui est composé d'eau, de poudre de lait et d'antibiotiques et le dilueur à base de lactose et de jaune d'œuf (Baril et al., 1993).

b. Les différents dilueurs utilisés

Il existe une grande variété de diluants protecteurs utilisés pour la conservation des Spz de mammifères. Certains sont commercialisés, d'autres sont préparés selon les recettes existantes.

Les dilueurs de semences sont des solutions servant à augmenter le volume d'un éjaculat pour l'amener à une concentration de conservation souhaitée ($0,8 \cdot 10^9$ Spz/ml). Les dilueurs doivent aussi apporter les nutriments nécessaires au maintien métabolique des Spz (glucose ou fructose), présenter un pouvoir tampon, généralement à base de phosphate de Tris ou de citrate de sodium (Vishwanath et Shannon, 2000), afin de garder un pH extracellulaire optimal pour la survie des Spz (varie de 6,7 à 7,0). De même, les dilueurs doivent avoir une osmolarité physiologique adéquate à base de (NaCl, KCl) (entre 320-350 mOsm/l), des antibiotiques pour empêcher la prolifération bactérienne, ainsi, d'agent cryoprotecteur (Gadea, 2003).

Depuis les 50 dernières années, les dilueurs à base de jaune d'œuf et de lait de vache sont les plus répandus pour la conservation des semences d'animaux d'élevage en frais ou en congelé (Iritani et Nishikawa, 1963 ; O'Shea et Wales, 1966).

❖ *Les dilueurs à base de lait*

Le lait est un milieu biologique de complexe composé de cinq constituants majeurs : l'eau (87,5%), les protéines (3,2%), les sucres (principalement lactose 4,6%), les lipides (3,7% vs. <0,1% pour le lait écrémé) et les minéraux (0,8%) (Amiot et al., 2002 ; Druart, 2009). Les recherches ont montré l'effet bénéfique des protéines du lait sur la conservation du sperme (Bergeron et Manjunath, 2006).

Les principales protéines du lait sont les caséines (à 80%) et le lactosérum (à 20%) qui présentent une matrice efficace d'encapsulation de bioactifs (Livney, 2010 ; Augustin et Olivier, 2014). Les caséines sont composées de phosphoprotéines nommées α_1 , α_2 , β - et κ -caséine qui s'auto-agrè pour former des micelles de caséine. Leur poids moléculaire est compris entre 19 et 25 kDa et leur point isoélectrique (Phi) est compris entre 4,6 et 4,8. Elles sont caractérisées par la présence de groupements phosphates estérifiés sur les résidus sérine permettant la fixation du calcium (Augustin et Oliver, 2014) et une certaine résistance à la chaleur (O'Mahony et Fox, 2013 ; Fox et al., 2017).

L'organisation des acides aminés polaires et apolaires, la faible présence de structure secondaire et l'absence d'une structure tertiaire permanente confèrent aux caséines une conformation flexible plus un caractère amphiphile et une certaine plasticité (Dalglish et al., 2004 ; Horne, 2014).

Des recherches ont montré que, les micelles de caséine isolées du lait peuvent protéger le sperme d'étalon (Lagares et al., 2012), de chèvre (De Menezes et al., 2016), de bélier, de sanglier (Plante et al., 2015) et des taureaux (Bergeron et al., 2007 ; Lusignan et al., 2011) pendant le stockage à 4-5°C et pendant la congélation en présence de glycérol chez le taureau (Lagares et al., 2012 ; Del Valle et al., 2013), ainsi, ils empêchent la liaison des facteurs nocifs du plasma séminal bovin (protéines BSP) à la membrane des Spz en maintenant la viabilité du sperme pendant la conservation (Bergeron et al., 2007 ; Lusignan et al., 2011) chez l'étalon, le sanglier le bélier et le bouc (Bergeron et Manjunath, 2006 ; Plante et al., 2015 ; De Menezes et al., 2016).

Les principales protéines de lactosérum sont L' α -lactalbumine (22%) et la β -lactoglobuline des immunoglobulines et la lactoferrine (55%) (Amiot et al., 2002). La β -lactoglobuline est une protéine globulaire comprenant 162 acides aminés dont la masse moléculaire avoisine les 18 kDa, qui constitue une matrice d'encapsulation de bioactifs hydrophobes tels que les arômes, les vitamines, les acides gras et les polyphénols.

Elle peut être associée à la pectine et former des particules permettant une encapsulation efficace et un relargage contrôlé de lipides (Chanasattru et al., 2009) (Figure 7-A), ainsi, de protéger seule les Spz d'étalon à une concentration optimale de 45 g/L (Batellier et al., 1997).

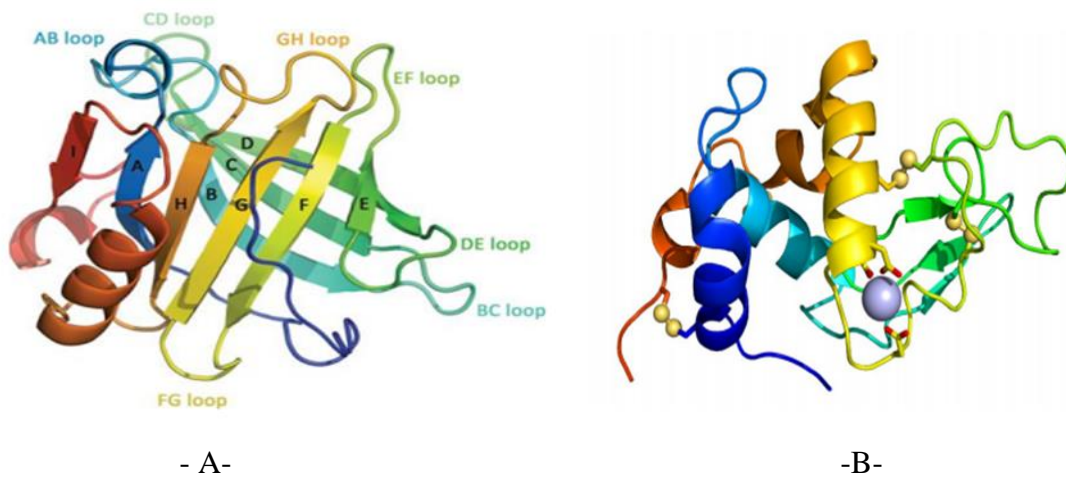


Figure 9: A- Structure de la β -lactoglobuline (Crowther et al., 2016), B- Structure de l' α -lactalbumine (Jøhnke et al., 2012).

Cependant, l' α -lactalbumine, est une petite protéine globulaire compacte de 123 acides aminés et d'une masse moléculaire de 14 kDa. Cette métalloprotéine présente une structure stabilisée par 4 ponts disulfures et un ion calcium (Ribadeau-Dumas, 1981).

Son pH isoélectrique est de 4,8 (Cayot et Lorient, 1998). Sa structure tertiaire est rigidifiée par la présence d'un ion calcium au cœur de celle-ci qui lui confère une meilleure résistance aux traitements thermiques par rapport à la β -lactoglobuline. L' α -lactalbumine est aussi une matrice d'encapsulation de bioactifs qui peut interagir avec l'acide palmitique et le rétinol (Considine et al., 2014) (Figure 7-B), elle semble être capable d'améliorer l'efficacité des diluants utilisés pour cryoconserver les Spz de bélier (Ollero et al., 1998).

Les phospholipides majeurs du lait sont la Phosphatidylcholine (33%), la Phosphatidyléthanolamine (33%) et les sphingomyélines (25%). Le lait contient aussi des enzymes, des vitamines, des gaz et des pigments en très faible quantité, du phosphate de calcium qui relie les caséines entre elles. Chaque micelle contient entre 20 000 et 150 000 molécules de caséines (Griffin et Roberts, 1985 ; Dalgleish, 2011) (Figure 10).

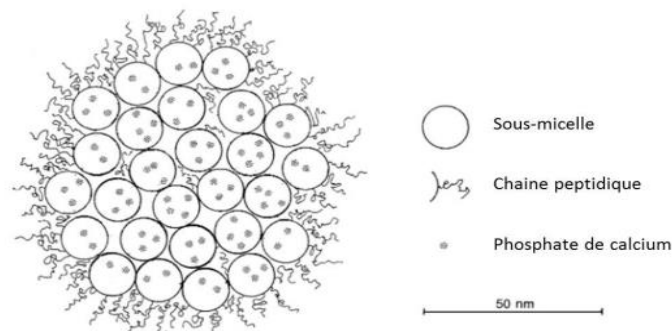


Figure 10 : Modèle « à sous-unités » de micelle de caséine du lait (Walstra, 1990).

Le lait contient le lactose qui est également un composant courant dans les dilueur à base de jaune d'œuf utilisé pour congeler le sperme du verrot (Yi et al., 2002) et de l'étalon (Loomis et al., 1983). Il a une faible perméabilité cellulaire qui peut être le mécanisme responsable de la protection extracellulaire des Spz (Watson, 1990).

Il est bien connu que le lait entier et le lait écrémé sont les plus efficaces pour le stockage liquide ou congelé du sperme des ovins, des caprins et des bovins, grâce à la présence de molécules protectrices de sperme (O'Hara et al., 2010). D'autres études ont montré que l'utilisation du lait améliore la qualité du Spz chez le bélier soit à l'état frais ou bien congelé (Kasimanickam et al., 2011 ; Kulaksiz et al., 2012). Sa fraction protéique joue un rôle tampon contre les modifications du pH (7,0 environ) et assure une chélation des métaux lourds (Baker et Baker, 2005). La pression osmotique du lait est proche à celle de la semence (300-280 mOsm/kg) (Hafez, 1993) et protège contre le choc thermique. Le lait doit être chauffé à la température de 95 °C pendant 10 min afin d'inactiver la Lactinine présente dans la fraction protéique. Cette dernière possède des radicaux libres qui ont un effet toxique sur les Spz (Druart, 2009). Par contre, le lait UHT peut être utilisé sans traitement préalable puisqu'il a déjà subi un traitement thermique. L'exposition prolongée des Spz aux protéines BSP provoque des lésions membranaires (Lusignan et al., 2011) et diminue la capacité fécondante des Spz éjaculés (Rodriguez-Villamil et al., 2016). D'après des études menées sur le taureau (Ardon et Suarez, 2013), le bélier (Barrios et al., 2000) et le bouc (Coloma et al., 2011), l'exposition prolongée des Spz au plasma séminal pendant le refroidissement ou la congélation-décongélation, peut modifier les protéines liées à la membrane, qui sont associées à des effets positifs ou négatifs aux différentes fonctions des Spz (Druart et al., 2013 ; Westfalewicz et al., 2015 ; Plante et al., 2016).

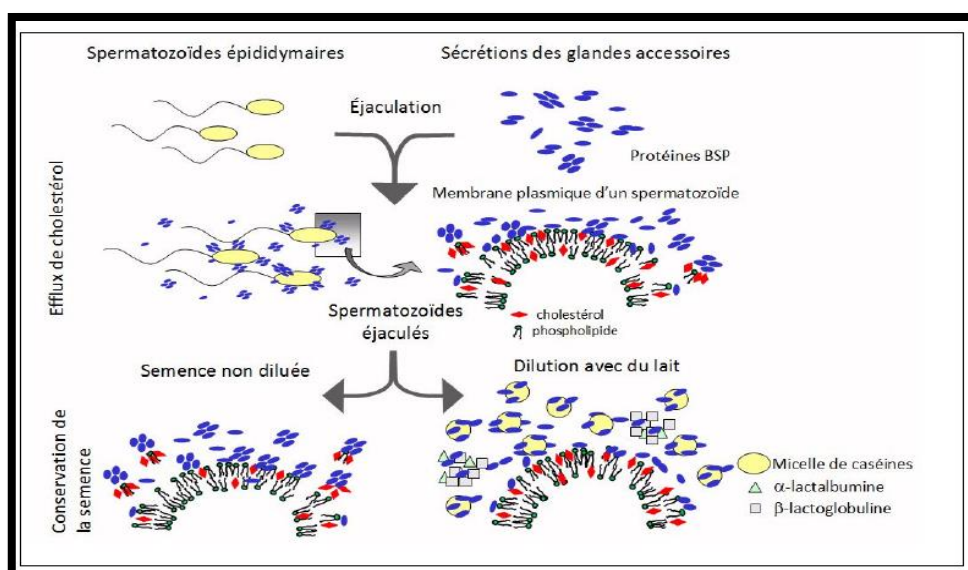


Figure 11: Mécanisme de protection des spermatozoïdes par le lait d'après (De Menezes et al., 2016)

Selon De Menezes et al. (2016), les composants du lait protègent le sperme par un mécanisme basé sur une interactions protéine-protéine (Figure 11).

❖ *Les dilueurs à base de jaune d'œuf*

Le jaune d'œuf est un agent protecteur non-pénétrant (Kulaksız et al., 2010). Il représente environ 36% du poids de l'œuf de poule entier frais. La matière sèche du jaune fraîchement pondu varie de 50 à 52% selon l'âge de la poule pondeuse.

Ces principaux composants sont des lipides (environ 65% de la matière sèche) avec un rapport lipides/protéines d'environ 2 /1. Les lipides du jaune d'œuf sont exclusivement associés aux assemblages de lipoprotéines.

Ils sont composés de 62% de triglycérides, de 33% de phospholipides et de moins de 5% de cholestérol. Les caroténoïdes représentent moins de 1% des lipides du vitellus et lui donnent sa couleur.

Les protéines sont présentes sous forme de protéines libres ou d'apoprotéines (incluses dans les assemblages de lipoprotéines). Les interactions entre les lipides et les protéines entraînent la formation de lipoprotéines (basse et haute densité) qui constituent les principaux constituants du jaune d'œuf. Ainsi, sur la base de sa matière sèche, le jaune d'œuf est constitué de cinq constituants principaux : 68% de lipoprotéines de basse densité (LDL), 16% de lipoprotéines de haute densité (HDL), 10% de protéines globulaires (Livétines), 4% de phosphoprotéines (Phosvitine) et 2% de protéines mineures (Powrie et Nakai, 1986). Les acides gras des lipides sont composés de 30-35% des acides gras saturés, 40-45% d'acides gras monoinsaturés et 20-25% d'acides gras polyinsaturés. Les principaux acides gras sont l'acide oléique (C18 : 40–45%), l'acide palmitique (C16 : 20–25%) et l'acide linoléique (C18 : 15–20%) (Kuksis, 1992).

Plusieurs études ont montré que les LDL sont les constituants du jaune d'œuf qui protègent les Spz durant la cryoconservation (Watson, 1976). Ce sont des particules sphériques composées approximativement de 11% de protéines et 89% de lipides dont (70%) de triglycérides et (26%) de phospholipides, ces derniers sont composés de 73% (m/m) des diacyl-PC et 4% de cholestérol (Kuksis, 1992). Cependant, cette composition est sujette à de fortes variations, notamment en fonction de la nature des acides gras ingérés par la poule (Anton et Gandemer, 1997 a, b). Le jaune d'œuf est généralement utilisé en forte concentration dans le dilueur (20% v/v) (Rajabi-Toustani et al., 2014), ce qui a poussé plusieurs études à identifier son principe actif qui serait responsable de l'effet protecteur (Foulkes, 1977 ; Watson, 1981). C'est le dilueur le plus utilisé et le premier qui a été testé avec succès pour la congélation de la semence bovine (Holt, 2000).

Il a été utilisé pour la conservation des Spz de taureau (El-Sisy et al., 2016a) ainsi que de plusieurs mammifères tels que le buffle (El-Sisy et al., 2016b), le bélier (Islam et al., 2010 ; Kulaksiz et al., 2012 ; Allai et al., 2015 ; Benmoula et al., 2018b), le bouc (Yodmingkwan et al., 2016 ; Barbas et al., 2018), l'étalon (Pillet et al., 2011), le porc (Johnson et al., 2000), le chien (Van den Berghe et al., 2018), l'Homme (Reed et al., 2009), le cerf (Garde et al., 2008), le singe (Dong et al., 2009) et le chat (Toyonaga et Tsutsui, 2012).

Plusieurs chercheurs ont montré que grâce à ses composants protecteurs (Dongand Van de Voort, 2009), le jaune d'œuf prévient les dommages de la membrane (Anand et al., 2017) en régulant le flux de protéines intégrales, de phospholipides et de cholestérol, protégeant ainsi la membrane et l'acrosome contre le choc thermique (Amirat et al., 2004 ; Sen et al., 2015). Il empêche aussi la formation de cristaux et améliore la mobilité des Spz (Hu et al., 2010 ; Valente et al., 2010).

Le jaune d'œuf contient des antioxydants efficaces tels que la Phosvitine et l' α -tocophérol qui peuvent réduire les réactions d'oxydation en chaîne et la peroxydation lipidique de la membrane des spermatozoïdes (Alcay et al., 2015). Ainsi, des LDL isolés à partir du jaune d'œuf protègent aussi efficacement les Spz que le jaune d'œuf entier lors du refroidissement et la congélation (Anand et al., 2014). Plusieurs hypothèses sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel le jaune d'œuf protège les Spz pendant la conservation.

Les LDL s'associent à la membrane des Spz, stabilisent et protègent les phospholipides des Spz. Il forment un film protecteur à la surface des Spz et remplacent les phospholipides perdus ou endommagés de leur membrane durant la cryoconservation (Quinn et al., 1980 ; Foulkes et al., 1980). Le jaune d'œuf empêche les agrégats de peptides cationiques (< 5 kDa), présents dans le PS bovin qui sont néfastes pour les Spz (Vishwanath et al., 1992), d'interagir avec la membrane des Spz (Al-Somai et al., 1994).

Des études ont montré que les protéines BSP peuvent se lier aux LDL du jaune d'œuf par une interaction rapide, spécifique et saturable. Le complexe formé est stable après le processus de congélation/décongélation du sperme chez le bovin (Manjunath et al., 2002). Une seule particule de LDL peut se lier à 240-555 molécules de protéines BSP. C'est pour cette raison qu'un nouveau mécanisme de protection des Spz par le jaune d'œuf a été proposé par Bergeron et Manjunath. (2006) qui consiste à la liaison d'une quantité de protéines BSP nécessaire à la capacitation à la membrane plasmique du Spz.

Pendant la conservation, le contact des Spz avec l'excès de BSP induit un flux de lipides membranaire des Spz (Bergeron et Manjunath, 2004).

Un diluant à base du jaune d'œuf permet de séquestrer l'excès de BSP grâce aux molécules LDL, ce qui permet de préserver l'intégrité de la membrane plasmique (Bergeron et Manjunath, 2006), la motilité, l'intégrité de l'acrosome et la viabilité des Spz durant la conservation (Bergeron et Manjunath, 2004). Ce qui montre que le jaune d'œuf protège les Spz par un mécanisme basé sur une interaction protéine-lipoprotéine (Manjunath et al., 2002) (Figure 12).

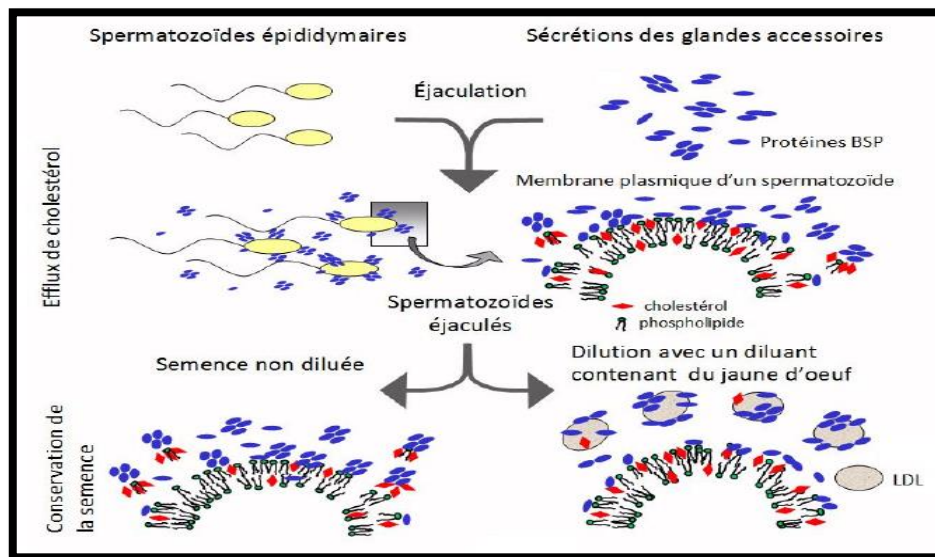


Figure 12 : Mécanisme de protection des spermatozoïdes par le jaune d'œuf adapté par Manjunath et al. (2002).

Dans ce sens, le tampon Tris (Tris hydroxyméthyl amino-méthane) associé à du glucose et du jaune d'œuf peut être une alternative au lait vu que la motilité des Spz de bélier après 24 h de conservation à 5°C dans des milieux lait écrémé/jaune d'œufs ou Tris jaune d'œufs n'est pas significativement différente (Paulenz et al., 2002).

L'inconvénient majeure du jaune d'œuf, c'est qu'il peut contenir des agents pathogènes (Thun et al., 2002). En effet, certaines recherches ont montré que les dilueurs à base de jaune d'œuf peuvent avoir des effets négatifs sur la mobilité des Spz dus à des substances spécifiques qu'ils contiennent (Amirat et al., 2005). Le jaune d'œuf a aussi une tendance à se coaguler en présence du PS à cause d'une lipase spécifique appartenant à la famille 2 sécrétée par les glandes boubou-urétrales (enzyme coagulante du jaune d'œuf ou BUSgp60) (Cseh et al., 2012). De plus, la préparation du jaune d'œuf est délicate et fastidieuse. Son utilisation à l'état frais entraîne une augmentation de la viscosité du milieu qui influe négativement la respiration et la mobilité des Spz (Sharafi et al., 2009 ; Forouzanfar et al., 2010) en réduisant la vitesse linéaire de leur déplacement (Aires et al., 2003).

Alternativement, le sperme peut être dilué avec des diluants contenant une très faible teneur en jaune d'œuf (2 à 3%) (Anand et Yadav, 2016) et jusqu'à 12% de jaune d'œuf sans lavage (Cabrera et al., 2005) ou bien, un lavage avec du PBS (centrifugation à 700 x g pendant 15 minutes) pour l'éjaculat de bouc (Batista et al., 2014).

❖ *Les dilueurs commerciaux (synthétiques)*

À l'heure actuelle, les dilueurs à base de lécithine de soja, de lait et de jaune d'œuf sont les plus utilisés pour le stockage du sperme de bélier (Oke et al., 2010 ; Papa et al., 2010 ; Khalifa et Lymberopoulos, 2013).

L'utilisation de produits d'origine animale dans la composition des dilueurs comme le jaune d'œuf présente parfois un risque de transmission des maladies (Akhter et al., 2011). Pour cette raison, plusieurs dilueurs commerciaux sont disponibles dans le marché pour la conservation des Spz de différentes espèces, dont la majorité sont conçus pour la conservation des Spz de taureau. Ces dilueurs contiennent un agent protecteur d'origine animale (Jaune d'œuf) ou végétale (lécithine de soja), utilisés pour la conservation des Spz en milieu liquide et/ou congelé.

La lécithine, notamment, présente un effet émulsifiant et permet de maintenir un niveau bas de toxicité pour les Spz (Sariozkan et al., 2010 ; Papa et al., 2011). Elle est aussi efficace que le jaune d'œuf pour préserver le sperme de chien contre le choc froid pendant la cryoconservation grâce à son apport en phospholipides (Beccaglia et al., 2009). Il a été utilisé avec succès dans la cryoconservation chez le taureau (Sariozkan et al., 2010) et chez le bélier (Forouzanfa et al., 2010). Cependant, la plupart des diluants commerciaux sont formulés pour conserver les Spz d'une espèce en particulier. Leur composition est partiellement ou totalement secrète, ce qui rend leur modification impossible pour les utiliser chez d'autres espèces. Parmi les diluants commerciaux les plus souvent cités dans la littérature on note :

➤ Les diluants à base de jaune d'œuf comme le Triladyl® (Minitüb, Allemagne) utilisé majoritairement pour la semence du taureau, le bélier, le bouc et le chien (Benmoula et al., 2018b ; Salamon et Maxwell, 2000 ; Santiago-Moreno et al., 2006). L'Optidyl® (Biovet, France) utilisé par plusieurs centres d'insémination artificielle en France (Amirat et al., 2004).

➤ Les dilueurs à base de lait comme EquiPro® et INRA-96® sont utilisés pour conserver la semence du cheval (El-Sharkawy et al., 2016). Par contre, des dilueurs contiennent des produits d'origine végétale, tel que Andromed® (Minitüb) et Biociphos Plus® (IMV) sont les premiers dilueurs de composition définie disponibles commercialement à base de la lécithine de soja (Muino et al., 2007).

➤ Les dilueurs à base de lécithine de soja tels que l'Ovixcell (IMV-Technologies, France) qui a montré une meilleure efficacité de préservation de l'intégrité de la chromatine et de la motilité du sperme qu'un dilueur commercial à base de jaune d'œuf (Khalifa et Lymberopoulos, 2013). Andromed® (Minitüb) et Biociphos Plus® (IMV) sont les premiers dilueurs de composition définie disponibles commercialement à base de la lécithine de soja (Muino et al., 2007). Bioxcell® remplace actuellement Biociphos Plus® à base de lécithine et de phospholipides en particulier la phosphatidylcholine d'origine végétale (Scholfield, 1981). Il est efficace lors de la cryoconservation avec des taux de fertilité élevés (Gil et al., 2003). Un autre dilueur Caprogen® est utilisé pour la conservation de la semence bovine à température ambiante (18-24 °C) (Vishwanath et Shannon, 2000).

Ces diluants ne sont pas aussi efficaces que des diluants à base du jaune d'œuf pour protéger les Spz des bovins en particulier lors de la cryoconservation (Thun et al., 2002).

5.2. L'Effet de la conservation sur la qualité du sperme

a. La fluidité membranaire

La fluidité membranaire des Spz dépend de la composition en lipides membranaires notamment les AGS, à longue chaîne carbonée qui sont des éléments rigidifiant.

Ainsi, le Cholestérol est un élément qui stabilise la membrane par l'intermédiaire de son noyau tétracyclique rigide qui interagit avec les chaînes hydrocarbonées des lipides avoisinants. De même, certains phospholipides possèdent un caractère rigidifiant, tels que la Phosphatidyléthanolamine et la Sphingomyéline. Ces deux types de phospholipides sont habituellement composés d'AGS chez les mammifères, alors que la phosphatidylcholine est essentiellement composée d'AGI. Cependant, l'augmentation de la température de transition des phospholipides, ainsi la diminution de la fluidité membranaire est en relation avec l'augmentation de la chaîne carbonée des acides gras et la diminution du nombre d'insaturations (cis) (Wathes et al., 2007). En effet, plus les rapports acides gras saturés sur acides gras polyinsaturés (AGS/AGPI) est élevé, plus la fluidité membranaire est faible (Murphy et al., 2016). De même, l'augmentation des rapports Phosphatidyléthanolamine / phosphatidylcholine, Sphingomyéline / phosphatidylcholine pour les phospholipides, ainsi le rapport Cholestérol/Phospholipides au cours de la maturation entraîne une diminution de la fluidité et une élévation de la température de transition de phase (Ladha, 1998).

Les AGS tels que l'acide palmitique (C16 : 0) et l'acide stéarique (C18 : 0) sont majoritairement représentés dans la membrane du Spz quel que soit l'espèce étudiée et le stade de maturation. Comme on peut également trouver une grande proportion de AGPI qui dépasse souvent les proportions de C16 : 0 et de C18 : 0.

Parmi ces AGPI à longue chaîne de carbone, on retrouve fréquemment l'acide arachidonique, l'acide docosapentanoïque (DPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) (Rejraji et al., 2009).

La composition en AGPI des membranes des Spz varie fortement d'une espèce à l'autre (Parks et al., 1985 ; Ollero et al., 2000 ; Castellano et al., 2010 ; Argov et al., 2013 ; Esmaelie et al., 2014 ; Fair et al., 2014 ; Gürlér et al., 2015), d'une race à l'autre et entre les individus de la même race (Wathes et al., 2007). Chez les taureaux Holstein, la proportion de certains acides gras (C18 : 0, acide alpha-linolénique, l'acide arachidonique, acide eicosapentaénoïque et DPA n-3) était constante tout au long de l'année. Par contre, une augmentation des AGPI a été enregistrée en automne et en hiver par rapport au printemps et l'été. Alors que, c'est l'inverse pour les AGS (Argov et al., 2007).

Le DHA joue un rôle majeur sur la qualité de la semence en particulier sur la fluidité des membranes (Parks et al., 1992), l'intégrité des membranes, la mobilité et la morphologie des Spz (Gürlér et al., 2015 ; Khoshvaght et al., 2016). En effet, les Spz sont extrêmement sensibles aux chocs thermiques pendant le processus de refroidissement ou de congélation. Ceci a été attribué aux fortes concentrations d'acides gras polyinsaturés dans la membrane plasmique des Spz de bélier (Buhr et al., 1994). Une augmentation du rapport AGS/AGPI suite à une diminution des AGPI en particulier de 15 % du DHA membranaires entre les semences fraîche et décongelée a été démontrée par (Khoshvaght et al., 2016), ce qui conduit à une diminution de la survie et de la capacité de fécondation des Spz (Martinez-Soto et al., 2013). Cette diminution en DHA durant la cryopréservation a été expliquée par l'augmentation des dérivés actifs de l'oxygène (DAO) dans le milieu de conservation (Blesbois et al., 1997).

b. Le stress oxydatif des spermatozoïdes

Les dérivés actifs de l'oxygène (DAO), indispensables à l'acquisition du pouvoir fécondant, contribuent à la condensation chromatinienne, au remodelage membranaire et à l'activation des voies de signalisation intracellulaires au cours de la maturation épидidymaire, de la capacitation et de la réaction acrosomique. Toutefois, des facteurs endogènes et exogènes peuvent rompre cet équilibre, en stimulant la production de DAO et/ou en diminuant les défenses antioxydantes, situation qualifiée de stress oxydant.

Pendant le processus de conservation liquide à basse température, le métabolisme n'est pas complètement arrêté (Maxwell et al., 1998) et les Spz génèrent des DAO comme une conséquence normale du métabolisme oxydatif. Le stress oxydant est aujourd'hui décrit comme une des causes majeures de l'infertilité.

Il induit des altérations membranaires et nucléaires, entraînant une perte de la mobilité, des anomalies, une diminution du pouvoir fécondant du spermatozoïde et de faible taux de fécondation (Figure 13).

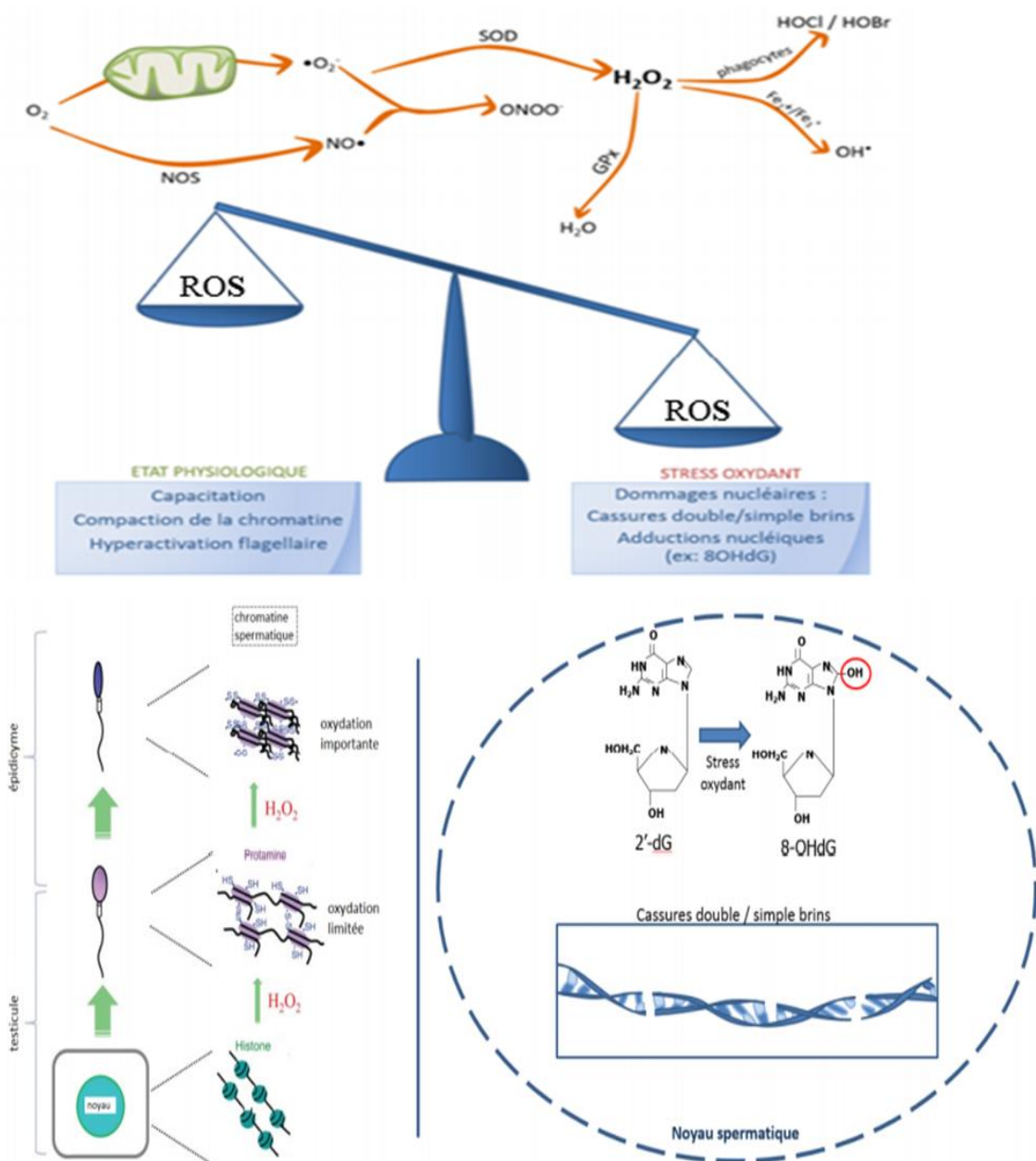


Figure 13 : Les dérivés actifs de l'oxygène ou (ROS) et noyau du spermatozoïde (adapté de Noblanc et al., 2012).

Les DAO ou Reactive Oxygen Species (ROS), ont au moins un électron non apparié, ce qui en fait des molécules très instables, capables de réagir avec les molécules voisines en les transformant à leur tour en molécules radicalaires (Miranda-Vilela et al., 2010). Ils sont soit sous forme ionique (l'ion hydroxyle ($OH\cdot$), l'ion superoxyde (O_2^-)), ou moléculaire (le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochlorique (HOCL), le peroxyde de lipides (LOOH) et l'ozone (O_3)).

Cependant, une faible concentration des ROS est nécessaire pour accomplir les principales fonctions des Spz des mammifères, comme la capacitation, la réaction acrosomique et la stabilisation de la capsule mitochondriale (Kodama et al., 1996 ; Baumber et al., 2000). Alors qu'un excès des ROS provoque un stress oxydatif (Maia et al., 2010 ; La Falci et al., 2011). Cela entraîne une augmentation des taux de peroxydation lipidique, un changement de milieu de conservation et une diminution du pH (Liu et al., 2016). L'accumulation de produits toxiques tels que H_2O_2 et O_2^- en présence de métaux comme le fer et le cuivre engendre par la suite une substance extrêmement toxique : OH^- . C'est un puissant initiateur d'une cascade de réactions amenant à la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et la fragmentation d'ADN (Hazout et al., 2008 ; Shiva et al., 2011 ; Chen et al., 2013) (Figure 11). Le principal mécanisme à l'origine des ROS dans le Spz est la réaction Redox NAD dépendante au niveau de la mitochondrie. Elle provoque l'inhibition de production d'ATP par les mitochondries et l'altération de la membrane plasmique (Vishwanath et Shannon, 1997 ; Armstrong et al., 2018). La peroxydation lipidique des membranes pendant le refroidissement ou la congélation-décongélation cause la perte de fluidité et l'augmentation de la perméabilité de H^+ et d'autres ions.

Quelques produits finaux de fragmentation de peroxyde sont aussi cytotoxiques (Gutteridge et John, 1995). Partyka et al. (2012) ont montré une chute de 37,3% de l'intégrité de la membrane avec l'augmentation significative simultanée de malondialdéhyde (MDA) au niveau du plasma séminal et dans les cellules spermatiques. Plusieurs modifications oxydatives peuvent être induites directement par les ROS ou indirectement par les réactions secondaires des sous-produits du stress oxydant. L'attaque oxydative directe et indirecte de certains acides aminés (Lysine, Arginine, Proline, Méthionine, Cystéine, Lysine) conduit à la formation de protéines carbonylées et de produits dérivés (aldéhydes et cétones) ainsi, à des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bityrosine intra et inter-chaînes (Berlett et Stadtman, 1997).

Ces dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique) comme l'inactivation des enzymes mitochondriales touchant la capacité respiratoire cellulaire ou encore l'inactivation des protéines membranaires affectant le transport ionique.

Des protéines de choc thermique (HSPs) régulent la conformation, l'arrangement des protéines et elles participent à la réparation des protéines au moindre dommage (Tutar et Tutar, 2010) dans des conditions de stress (Tkáčová et al., 2012). Elles sont synthétisées en réponse avec plusieurs types de stress tels que la température (Belhadj Slimen et al., 2014) et le stress oxydatif (Oksala et al., 2014).

Les HSPs protègent principalement les membranes lipidiques, les lipides, les protéines, les composants cytosquelettiques et les acides nucléiques (Tkáčová et al., 2012).

Les ROS affectent aussi la qualité d'ADN en induisant une atteinte oxydative de la chromatine et une fragmentation des bases d'ADN (Aitken et al., 2014). Cependant, une corrélation négative entre le taux de 8-OHdG et les paramètres spermatiques tels que la morphologie et la mobilité a été enregistrée par Cambi et al. (2013). De même, une forte association existe entre 8-OHdG et la fragmentation d'ADN (Aitken et al., 2014 ; Muratori et al., 2015) suggère une relation étroite entre les dommages oxydatifs d'ADN et la fragmentation de l'ADN (Aitken, 2017). Ces dégâts nucléaires, membranaires et mitochondriaux représentent un facteur de risques de faible taux de fécondation, d'anomalies du développement embryonnaire préimplantatoire et de fausses couches (Simon et al., 2017 ; Bui et al., 2018).

Le refroidissement à 5 °C provoque aussi la réduction de la concentration d'ATP dans les Spz (Nguyen et al., 2016 ; Alm-Kristiansen et al., 2018) indispensable aux activités cellulaires telles que la motilité (Mukai et Okumo, 2004), la capacitation (Travis et al., 2002) et la réaction acrosomique (Du Plessis et al., 2015).

Toutes ces modifications affectent le milieu de stockage de la semence et provoquent des changements irréversibles à savoir : la perte de la fonctionnalité des Spz chez le sanglier (Awda et al., 2009), l'altération de la mobilité chez le bélier (Agarwal et al., 2008 ; Bielas et al., 2017) et d'autres espèces (Maia et al., 2010 ; Gibb et Aitken, 2016 ; Liu et al., 2016) et l'altération de l'intégrité acrosomique (Dziekońska et al., 2013). Elles provoquent aussi, l'augmentation du pourcentage des Spz capacité, d'anomalie (Gundogan et al., 2003), une diminution de la viabilité (Liu et al., 2016), de l'intégrité de l'ADN (Boe-Hansen et al., 2004), du degré de méthylation d'ADN (Rather et al., 2017), de la fertilité (Boe-Hansen et al., 2008 ; O'Hara et al., 2010 ; Bansal et Bilaspuri, 2010) et la capacité à franchir le cervix (Druart et al., 2009).

Afin de contrôler ou neutraliser la production des ROS, il existe de nombreuses enzymes appartenant aux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS, telles que : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GSH-Px) qui constituent les principales enzymes impliquées dans la défense antioxydante enzymatique.

Les SOD ont pour rôle d'élimination des O_2^- par une réaction de dismutation qui produit une molécule d'oxygène et une molécule de H_2O_2 à partir de deux O_2^- (Amidi et al., 2016). Il existe trois isoenzymes qui se distinguent par leur localisation cellulaire : La SOD à manganèse (Mn-SOD) située dans la mitochondrie, la SOD à cuivre-zinc (Cu, Zn-SOD) retrouvée dans le cytoplasme et la SOD (EC-SOD) localisée dans les fluides extracellulaires. Il a été suggéré que la Cu, Zn-SOD joue un rôle majeur dans la première ligne de défense antioxydante contre les O_2^- (Favier, 2006 ; Johnson et Giulivi, 2005).

La concentration intracellulaire de ces ROS est contrôlée principalement par deux enzymes : la CAT et la GSH-Px. Elles catalysent la transformation du H_2O_2 en oxygène et en eau (Amidi et al., 2016). La catalase est considérée comme l'une des enzymes dotées d'une remarquable efficacité presque insaturable. De plus, elle possède un rôle important dans le développement d'une réponse adaptative face au stress oxydant (Esposito et al., 2002 ; Favier, 2006). La GSH-Px est également impliquée dans la neutralisation du H_2O_2 . Elle existe au moins cinq isoformes chez les mammifères qui catalysent la réduction des différents hydroperoxydes organiques ($ROOH$ et H_2O_2) en utilisant le glutathion (GSH) comme donneur d'électrons (Favier, 2006). Malgré que la CAT et la GSH-Px partagent le même substrat, la GSH-Px constitue une source importante de la protection contre les faibles niveaux de stress oxydant tandis que la CAT protège contre les hauts niveaux de stress oxydant (Halliwell, 2006).

Finalement, au niveau cellulaire, les activités des enzymes SOD, CAT et GSH-Px doivent être complémentaires pour une protection efficace contre les ROS (Figures 14).

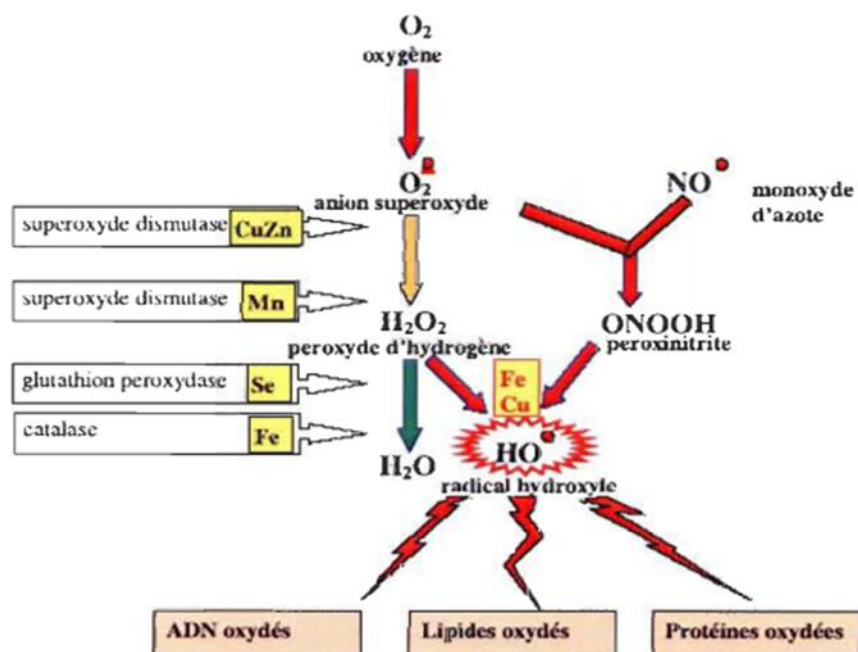


Figure 14: Principaux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS (Favier, 2006).

En parallèle, on trouve des antioxydants non-enzymatiques apportés par l'alimentation, tels que les vitamines E (tocophérol) et C (acide L-ascorbique), les caroténoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols (Figure 15). La vitamine C est reconnue pour sa capacité à neutraliser les radicaux O_2^- et OH^\cdot ainsi que les hydroperoxydes produits par la peroxydation lipidique, alors que, la vitamine E, sous ses huit formes dont la plus active l'alpha-tocophérol (α -tocophérol), inhibe la peroxydation lipidique. Les caroténoïdes ont la capacité de neutraliser différents types de ROS.

Ces composés antioxydants non-enzymatiques, stabilisent les électrons non appariés des radicaux libres et les transforment en ions stables. Des études suggèrent également que les vitamines augmentent l'activité des enzymes antioxydantes (Esposito et al., 2002 ; Fang et al., 2002 ; Favier, 2006). De plus, les polyphénols regroupent des molécules naturelles possédant des structures phénoliques variables dont on distingue les flavonoïdes qui regroupent plus de 4 000 composés (D'Archivio et al., 2007). Les polyphénols sont des molécules capables de prévenir les dommages induits par les ROS (Esposito et al., 2002 ; Stevenson et Hurst, 2007 ; Virgili et Marino, 2008) en neutralisant les radicaux libres par la capture de leurs électrons non appariés et elles pourraient aussi augmenter l'activité des enzymes antioxydantes.

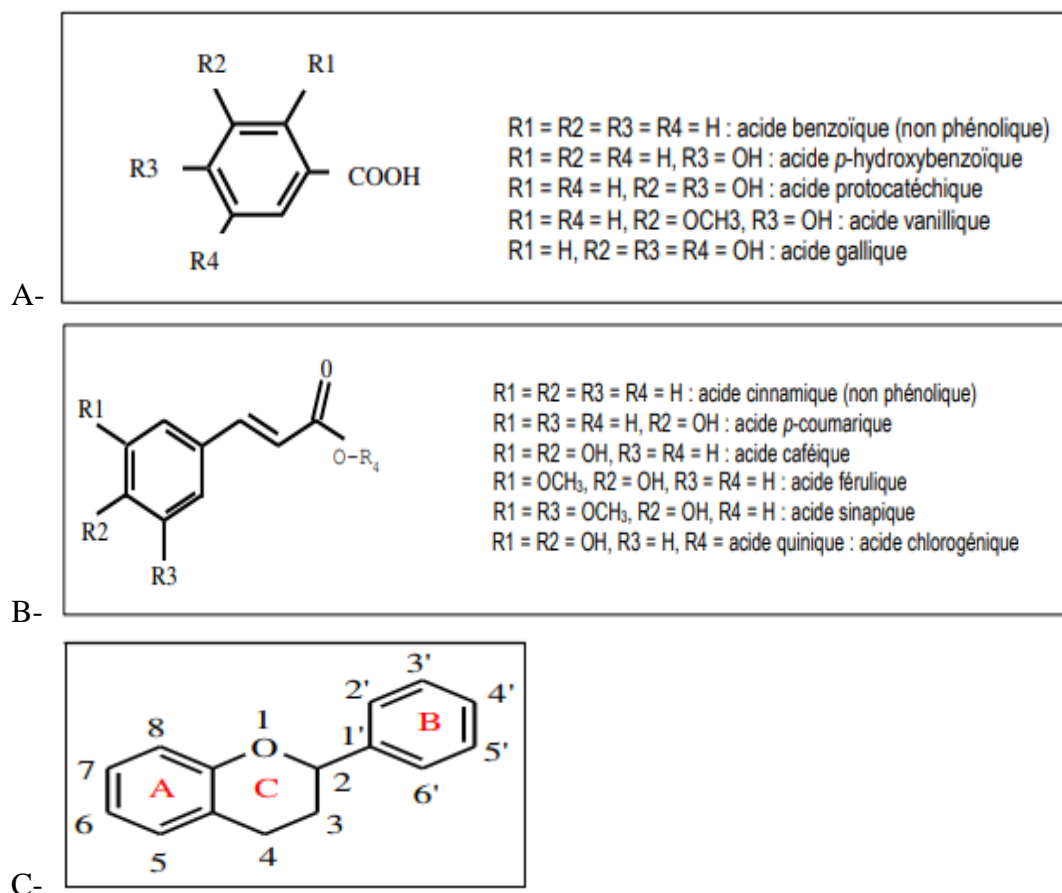


Figure 15 : les polyphénols : A-Structures chimiques des acides hydroxy benzoïques (Bruneton, 2008). B-Structures chimiques des acides hydroxy cinnamiques (Han et al., 2007 ; Chira et al., 2008). C-Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

5.3. Les constituants qui améliorent la conservation de la semence chez le bélier

La conservation du sperme nécessite la réduction ou l'arrêt du métabolisme des spermatozoïdes afin de prolonger leur durée de vie fertile (Gibb et Aitken, 2016). Cependant, la capacité antioxydante endogène du sperme est réduite après la dilution et le pouvoir antioxydant devient insuffisant pendant un stockage prolongé.

A cet effet, différents protocoles de conservation, de dilueurs et de composants protecteurs tel que les enzymes, vitamines, acides aminés, protéines, extraits de plantes et autres composés comme les sucres, les acides gras et même le plasma séminal entier ont été utilisés comme suppléments aux dilueurs afin de réduire le stress oxydatif améliorer la qualité du sperme et atteindre des taux de fertilité plus élevés.

Pour réduire les effets négatifs de la conservation, divers composants présentant une activité antioxydante ont été ajoutés aux dilueurs pour réduire le processus d'oxydation, maintenir la motilité, la fertilité et préserver l'intégrité de la membrane du sperme (HOST) (Coyan et al., 2010 ; AminiPour et al., 2013 ; Amidi et al., 2016).

Dans ce sens, l'ajout aux dilueurs des antioxydants de type enzymatique comme la SOD et la CAT améliorent la fertilité après l'insémination (Maxwell et Stojanovic, 1996), la motilité, la viabilité, l'intégrité d'acrosome et d'ADN (Thiangtum et al., 2012 ; Del Prete et al., 2018) et limitent les effets négatifs des ROS (Maia et al., 2009). Toutefois, le coût et la fragilité de l'activité antioxydante enzymatique limitent leur utilisation et des antioxydants non enzymatiques sont de plus en plus recherchés.

L'ajout de vitamine E aux dilueurs montre un effet protecteur contre la peroxydation lipidique (Sicherle et al., 2011 ; Mata-Campuzano et al., 2014), améliore la motilité et HOST (Kheradmand et al., 2006), augmente la motilité et la viabilité des Spz conservés à 5 °C ou cryoconservés chez le bélier (Azawi et Hussein, 2013 ; AminiPour et al., 2013). La vitamine C ou (acide ascorbique) joue un rôle pro-oxydant en présence d'ions métalliques (Amidi et al., 2016) dont le maintien de l'intégrité de l'ADN (Fraga et al., 1991), l'amélioration de la viabilité et la motilité des Spz de bélier Awassi conservés à 5 °C (Azawi et Hussein, 2013).

Une supplémentation de la vitamine B12 améliore les paramètres cinétiques des Spz de bélier Dallagh à l'état liquide ou congelée (Asadpour et al., 2012 ; Hamedani et al., 2013). De même, la vitamine B peut améliorer la motilité et HOST des Spz chez le bélier pendant la cryoconservation (Fu et Youzhang, 2003) ainsi que le nombre de Spz (Chatterjee et al., 2006) et réduit les dommages d'ADN (Abad et al., 2013). Un traitement alimentaire d'antioxydant comprenant la vitamine B12 améliore la viabilité, la motilité et l'intégrité d'ADN des Spz (Abad et al., 2013). Ces effets bénéfiques de la vitamine B12 sur la qualité du sperme peuvent être attribués à une fonctionnalité accrue des organes reproducteurs ainsi qu'à une diminution de la toxicité (Banihani, 2017).

De même, il a été démontré que la supplémentation en acides aminés (taurine, hypotaurine, proline, glutamine, glycine, histidine et cystéine) réduit la fragmentation d'ADN et améliore la motilité post-dégel, la viabilité, l'HOST et la fertilité des Spz (Sánchez -Partida et al., 1997 ; Bucak et al., 2013).

L'ajout de cystéine seule (Coyan et al., 2011 ; Ansari et al., 2016) ou avec la lécithine de soja (Sharafi et al., 2015) améliore la motilité, la viabilité, l'HOST et l'intégrité de l'ADN chez le bélier après décongélation. La méthionine améliore la mobilité, la viabilité et l'activité mitochondriale des Spz pendant la conservation liquide (Coyan et al., 2010 ; Bucak et al., 2012). Bucak et al. (2009) ont également rapporté que l'addition de la glutamine améliore la motilité et l'HOST ainsi que la viabilité (Roostaei-Ali et Noori et al., 2013 ; Sangeeta et al., 2015) dans un dilueur de congélation conventionnelle et améliore ainsi le potentiel de fertilisation des Spz (Bucak et al., 2009).

L'inclusion de la proline dans le diluant augmente également la viabilité et la motilité totale, en plus de l'HOST et de l'intégrité de l'acrosome des Spz épидидymals chez le bélier (Sangeeta et al., 2015).

Najafi et al. (2014) ont signalé que, l'ajout d'ergothionéine améliore la motilité, la viabilité, l'HOST et réduit la peroxydation lipidique pendant la cryoconservation. Un effet bénéfique a été enregistré suite à l'ajout de taurine sur la qualité de sperme réfrigéré (Rather et al., 2016) à savoir l'amélioration de la mobilité, la viabilité et l'HOST du sperme de bélier post-dégel (Banday et al., 2017) ainsi que l'intégrité d'acrosome du sperme pendant la conservation à 4 °C (Rather et al., 2016).

Dans ce sens, des études ont montré une amélioration de la mobilité et la viabilité des Spz suite à l'utilisation de la BSA (10% ou 15%) comme substitut du jaune d'œuf dans les diluants de sperme de bélier après le processus de congélation-décongélation (Matsuoka et al., 2006 ; Fukui et al., 2007).

D'autres études ont étudié l'effet des extraits de différents types de plantes (*Syzygium aromaticum*, *Rosmarinus officinalis*, *Camellia sinensis*) sur l'amélioration de la qualité du sperme de bélier (Motlagh et al., 2014 ; Mehdipour et al., 2016). Baghshahi et al. (2014) ont signalé que le Tris-jaune d'œuf supplémenté de gousses de clou de girofle, améliore la motilité des Spz de bélier pendant le refroidissement à l'état liquide ou après décongélation. De même, un dilueur à base de lécithine de soja additionné d'extrait aqueux de romarin a amélioré les pourcentages de la motilité totale, la motilité progressive et l'HOST (Gil et al., 2010 ; 2014). Alors que, la supplémentation par le thé vert (Mehdipour et al., 2016) protège les Spz de bélier contre les dommages causés par le stress oxydatif pendant la cryoconservation. Des études récentes indiquent que l'addition d'huile d'argan, d'huile de graines de cactus ou d'extrait d'*Opuntia ficus-indica* aux dilueurs à base de Tris jaune d'œuf ou à base de lait écrémé augmente la motilité totale des Spz, la motilité progressive, la viabilité et l'HOST comme elle réduit la peroxydation lipidique spontanée ou induite du sperme chez le bélier Boujaâd conservé à l'état liquide (Allai et al., 2015, 2016, 2017).

Le trans-resvératrol et la quercétine sont des polyphénols ayant une activité antioxydante (Stojanović et al., 2001). L'utilisation du resvératrol améliore la mobilité et inhibe la peroxydation lipidique du sperme chez le bélier (Sarlos et al., 2002). Ainsi la catéchine chez le bouc (Purdy et al., 2004). L'ajout de resvératrol ou de quercétine aux dilueurs à base de Tris jaune d'œuf, diminue le potentiel membranaire mitochondrial et améliore la viabilité des Spz (Silva et al., 2012).

Plusieurs types de sucres ont été ajoutés aux dilueurs de conservation à l'état frais ou congelé. La raffinose ajoutée à un dilueur à base de Tris maintient la motilité, la viabilité, l'activité mitochondriale et l'intégrité de l'acrosome des Spz de bélier après décongélation (Jafaroghli et al., 2011 ; Bucak et al., 2013). De même, le tréhalose ou le saccharose après un refroidissement à 5 °C ont amélioré la motilité, l'intégrité de la membrane, la viabilité, la morphologie et l'intégrité de l'acrosome et ont diminué la fragmentation d'ADN après décongélation chez les bovins (El-Sheshtawy et al., 2015). Le tréhalose semble être plus efficace que d'autres sucres pour la protection des Spz dans les milieux de cryoconservation. De nombreux auteurs ont rapporté son effet bénéfique sur la cryoconservation du sperme chez différentes espèces telles que le taureau (Al-Badry et al., 2017), le buffle (Badr et al., 2010), le bélier (Jafaroghli et al., 2011), le bouc (Tuncer et al., 2013), le lapin (Dalimate et Graham, 1997) et l'étalon (El-Badry et al., 2017). Ceci est dû aux effets protecteurs du tréhalose en tant que stabilisateur de la membrane du sperme qui empêche l'efflux de cholestérol et la formation de peroxyde lipidique lors de la conservation (Perumal et al., 2015b). Il présente en plus un effet synergique avec le glycérol et empêche la formation de cristaux de glace intracellulaires (Gutiérrez-Pérez et al., 2009).

Hashem et al. (2017) ont rapporté que la supplémentation en acide oléique augmente la viabilité, l'HOST, la capacité antioxydante totale ainsi que la concentration en superoxyde dismutase et diminue les quantités de MDA et d'oxyde nitrique pendant le stockage liquide du sperme chez le bélier. Des études ont montré des effets positives de l'ajout d'acide α -linoléique (Kaka et al., 2015 a, b), d'acide docosahexaénoïque (Ansari et al., 2012) et d'acide gras omega-3 (Abavisani et al., 2013) sur la résistance du sperme à la conservation.

Dans le même sens, l'ajout du plasma séminal (PS) a amélioré les caractéristiques du sperme de bélier à l'état liquide ou congelé comme la motilité, la viabilité, l'intégrité de l'acrosome, la capacitation et l'activité mitochondriale (Bernardini et al., 2011 ; Rovegno et al., 2013 ; Mata-Campuzano et al., 2015a). L'ajout de PS (Gunay et al., 2006), ou 40% de PS de sanglier dans le sperme de bélier cryoconservé a augmenté le taux de gestation suite à une IA intracervicale (Fang et al., 2018).

Toutefois, si les antioxydants permettent d'améliorer la mobilité de la semence conservée sous forme liquide ou congelée, plusieurs résultats ont montré l'impact positif de quelques antioxydants sur la fertilité (Agarwal et al., 2010 ; Ross et al., 2010).

D'autres études ont essayé de maintenir un pH stable pendant le stockage du sperme liquide, ce qui a considérablement amélioré la viabilité des Spz et le potentiel de fertilisation (Liu et al., 2016) comme l'addition d'huile de poisson (Abdi-Benemar et al., 2015) ou des tréhaloses dans un dilueur à base de jaune d'œuf après insémination cervicale avec sperme congelé (Jafaroghli et al., 2011). De plus, des essais préliminaires d'IA cervicale avec sperme conservé à l'état liquide supplémenté par GSH peut améliorer les taux de gestation chez les brebis (Mata-Campuzano et al., 2014).

6. Les plantes médicinales

6.1. Le safran et ses biomolécules actives

Le mot safran désigne à la fois l'espèce *Crocus sativus L.* C'est le produit du pistil de cette plante. Ce mot safran, est un dérivé de l'appellation arabe : Zaàfrane. Les arabes ont diffusé le safran dans le bassin méditerranéen (Gresta et al., 2008), comme le Maroc au IX^{ème} siècle environ (Lage et al., 2007). C'est une plante pérenne dont le bulbe souterrain mesure 3 à 5 cm de diamètre. C'est une plante originaire du Moyen-Orient (Melnyk et al., 2010) et elle est actuellement cultivée en Chine, Inde, Iran, Azerbaïdjan, Turquie, Egypte, Maroc, Grèce, Espagne, Italie, France et Mexique (Alavizadeh et al., 2014). Plus de 80% du safran mondial est produit en Iran, principalement dans la province du Khorasan méridional. La production mondiale annuelle de safran est d'environ 220 000 kg.

Un kg de safran séché est obtenu à partir de 80 kg de fleurs (Shahi et al., 2016). Sa composition globale est généralement de l'ordre de 10 à 14% d'eau, 8% des cendres (Melnyk et al., 2010), 12% de protéines, 5% de lipides, 5% de cellulose brute et 63 % de sucres (Mollazadeh et al., 2015).

Sa composition minérale est d'environ : 0,87 g de Phosphate de magnésie, 0,74 g de Sulfate de chaux, 0,33 g de Silicate de chaux, 1,94 g Silicate de potasse, 2,46 g de Carbonate de potasse et des traces d'alumine, de fer et de Chlorure de sodium.

La plante développe des fleurs hermaphrodites de couleur violette, au nombre de 1 à 8 par bulbe, possédant 6 pétales et 3 étamines de couleur jaune. Le gynécée comprend un ovaire à trois loges, surmonté d'un style long et fin et de 3 stigmates de couleur rouge-orangé, qui constitue le safran en tant que tel. Les fleurs étant stériles. La plante ne peut se reproduire que par multiplication végétative des bulbes.

Les feuilles sont longues et étroites : 2 à 5 mm de largeur pour 300 à 400 mm de long et sont au nombre de 6 à 10 par bulbe (Figure 16).



Figure 16 : (a) aspect général de *Crocus sativus* L. (Arvy et Gallouin, 2003) ; (b) stigmates obtenus après émondage.

La classification taxonomique de cette plante est donnée par Winterhalter et Straubinger (2000).

Division : Spermatophytes

Clade : Angiospermes

Clade : Monocotylédones

Ordre : Asparagales

Famille : Iridaceae

Genre : *Crocus*

Espèce : *Crocus sativus* L

Le genre *Crocus* comprend environ 88 espèces dont *Crocus sativus* L qui est le membre de la famille des Iridacées le plus étudiée. Parmi les 150 composés volatils et non volatils présents dans le safran, moins de 50 constituants ont été identifiés à ce jour (Winterhalter et Straubinger, 2000). Les composés volatils sont constitués de plus de 34 composants principalement des terpènes, des alcools terpéniques et leurs esters, parmi lesquels le safranal est le principal constituant (Abdullaev et al., 2006) (Figure 17).

Des études ont montré la présence de glucides, protéines, anthocyanes, flavonoïdes, vitamines (en particulier riboflavine et thiamine), acides aminés, matières minérales, gommés et de nombreux autres composés chimiques dans le safran (Liakopoulou-Kyriakides et Kyriakidis, 2002). Le safran est principalement utilisé comme additif alimentaire aromatisant, colorant et comme ingrédient de parfum (Abdullaev et al., 2006). Il a été utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies.

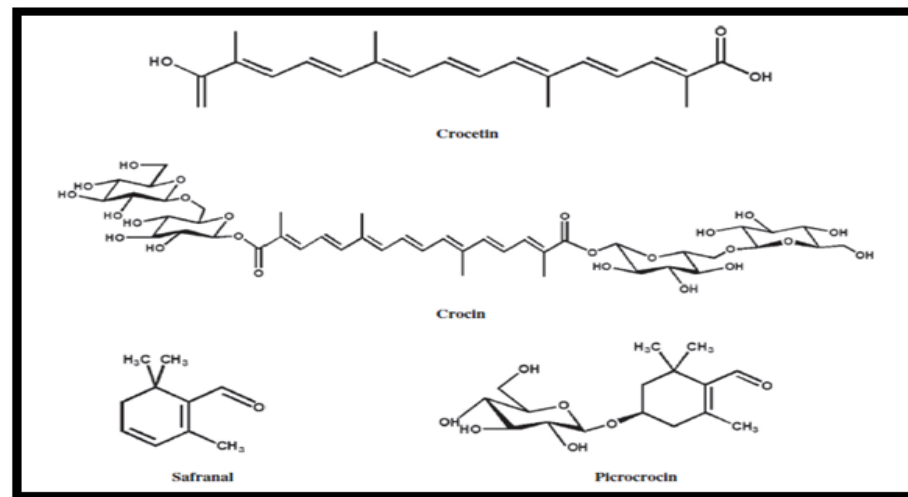


Figure 17 : Structures moléculaires de l'acide Polyxène du safran (Crocétine) et de son ester déglycosylée (crocine), de l'aldéhyde monoterpène (safranal) et de sa forme glycosidique (Picrocrocin). (Alavizadeh, et al., 2014)

Des études biomédicales ont rapporté plusieurs effets thérapeutiques de cette plante. Il a été démontré que ses propriétés thérapeutiques sont dues à leurs composés tels que les facteurs volatils (Safranal), les principes amers (Picrocrocin), les matières colorantes (Crocétine et ses glycosides, Crocin) (Abdullaev et Espinosa-Aguirre, 2004 ; Hazman et Bozkurt, 2015) et aux composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les anthocyanes (Hosseinzadeh et Younesi, 2002 ; Goli et al., 2012). Il semble que ces molécules modulent des cytokines pro-inflammatoires, des marqueurs de stress oxydatif et des facteurs immunitaires (Boskabady et al., 2011 ; El-Beshbishy et al., 2012 ; Hassan et al., 2015).

La crocine et les composants caroténoïdes ont présenté des activités anti-radicaux, anti-oxydantes (Hosseinzadeh et al., 2009b) et antimicrobiennes (Yousefi et al., 2014).

Le safran (Bolhassani et al., 2014) ou ces différents constituants isolés tels que la Crocétine (Li et al., 2012), le safranal (Samarghandian et al., 2014), la crocine (D'Alessandro et al., 2013) et les caroténoïdes (Bolhassani et al., 2014) ont montré une activité antitumorale et anti-cancer. De plus, le safran a une activité anti-mutagène (Bhandari, 2015), génoprotective (Premkumar et al., 2006 ; Hosseinzadeh et Sadeghnia, 2007a), anti-inflammatoire (boskabady et Farkhondeh, 2016), antidépresseur (Ghasemi et al., 2015) et il peut contribuer aux traitements contre les maladies neuro-dégénératives (Hosseinzadeh et Nassiri-Asl, 2013), coronariennes (Zhang et al., 2009), respiratoires (Boskabady et al., 2010), gastro-intestinales (Sun et al., 2014 ; El-Maraghy et al., 2015) et les troubles du système urinaires (Hazman et Bozkurt, 2015) et cardiaques (Goyal et al., 2010). De plus, il améliore et stimule la mémoire (Papandreou et al., 2011 ; Ghadrdoost et al., 2011).

Dans certains pays comme l'Inde, l'Espagne et la Chine, depuis longtemps, le safran a été utilisé pour traiter l'infertilité et l'impuissance (Chatterjee et al., 2005) et pour stimuler le potentiel sexuel (Mansoori et al., 2011).

L'addition de quantités appropriées d'extraits aqueux de safran (EAS) améliore la maturation des ovocytes et le développement de l'embryon (Tavana et al., 2012), alors que l'administration orale de safran a un effet sur la spermatogenèse (Khayatnouri et al., 2011).

Le safran, en tant qu'antioxydant, affecte positivement la morphologie et la motilité des Spz chez les hommes infertiles (Asr Badr et al., 2017), les propriétés antioxydantes et l'HOST (Vaez et al., 2014), protège les Spz contre les dommages d'ADN et les anomalies de la chromatine chez le rat (Mardani et al., 2014). Dans des conditions *in vitro*, la crocine a eu un effet bénéfique sur la mobilité des Spz après décongélation (Sapanidou et al., 2015) (Figure 18).

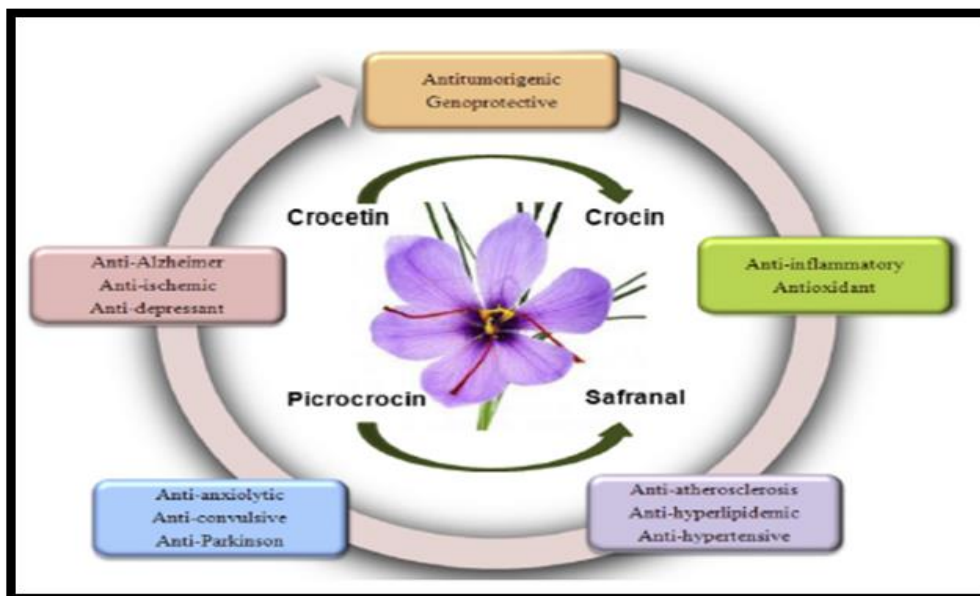


Figure 18 : Quelques effets pharmacologiques du safran et de ses constituants. (Alavizadeh, et al., 2014)

6.2. L'olivier et ses biomolécules actifs

a. L'olivier

L'Olivier (*Olea europaea*) est un arbre fruitier qui produit des olives. C'est un fruit consommé sous diverses formes dont on extrait une des principales huiles alimentaires, l'huile d'olive. C'est la variété, domestiquée depuis plusieurs millénaires et cultivée principalement dans les régions de climat méditerranéen (Figure 19).

L'olivier appartient à la famille largement distribuée des Oleaceae qui comprend 25 genres et plus de 500 espèces dont le genre *Olea* regroupe 30 à 40 espèces suivant les auteurs. (Cronquist, 1988) et (Gaussen, 1982).

C'est une famille caractérisée par ses fleurs régulières, souvent de parfum agréable, qui ont une corolle gamopétale à 4 lobes, un androcée à 2 étamines et un ovaire à 2 loges biovulées. Sa formule florale : $4S + 4P + 2E + 2C$. Les Oléacées ont des feuilles opposées ou carpelles alternes.

Selon (Henry, 2003) l'olivier appartient à :

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Embranchement : Phanérogames
Clade : Angiospermes
Clade : Eudicotylédones
Clade : Pentapetalae
Clade ; Superastéridées
Clade : Noyau des Dicotylédones vraies
Clade : Asteridae
Clade : Lamiidées
Ordre : Lamiales
Famille : Oleaceae
Genre : *Olea*
Espèce : *Olea europaea* L



Figure 19 : l'olivier marocaine de la région du Lqalaa.
<http://www.agrimaroc.ma/patrimoine-oleicole-kelaa-sraghna/> le 16/2/2019

b. Huile d'olive

L'huile d'olive est un liquide transparent, jaunâtre et aromatique, qui est extrait d'olive par simple pression. C'est la seule graisse végétale obtenue à partir du fruit. Depuis la préhistoire, il a été considéré comme la principale source de matière grasse dans le régime méditerranéen (Psaltopoulou et al., 2004). En plus d'acides gras monoinsaturés, il contient des composants mineurs possédant des propriétés biologiques. La composition chimique, d'huile d'olive est divisée en fractions majeures et mineures.

Les principaux composants de la fraction saponifiable (majeure) sont les triacylglycérides qui représentent 98-99% du poids total, dont les propriétés bénéfiques sont attribuables à l'acide oléique (18:1n-9) comme principal composant (68-81%) par rapport aux autres acides tels que l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide linoléique (oméga-6) et l'acide alpha-linolénique (oméga -3) (Gunstone et al., 1994).

Les composants mineurs d'huile d'olive vierge représentent environ (de 2 à 4%) du poids total d'huile, avec plus de 230 composés chimiques, classés en deux types : une fraction insaponifiable, définie comme la fraction extraite avec des solvants après saponification d'huile d'olive et une fraction soluble qui comprend les composés phénoliques. Parmi les composants mineurs de l'huile d'olive vierge, on trouve :

❖ **Les stérols ou phytostérols** représentent environ 50% en poids de l'insaponifiable. En effet, c'est la seule huile qui contient un taux particulièrement élevé de β -sitostérol, substance qui s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol (Osland et al., 2002). La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifié trois principaux stérols dans les huiles d'olive : le β - sitostérol, le Campesterol et le stigmastérol (Bentemime et al., 2008).

❖ **Les alcools** : Ils sont présents dans l'huile d'olive sous plusieurs formes tel que :

➤ **Les dialcools triterpéniques** qui contiennent deux composés : l'erythrodiol et l'uvaol sont les principaux composés triterpéniques présents dans les olives, les feuilles et l'huile (Covas et al., 2006 ; Guinda et al., 2010), ils pourraient atteindre plus de 600 mg / kg d'huile dans l'huile d'olive de grignons (Canabate-Diaz et al., 2007). Pour une huile d'olive vierge, le taux de ces molécules ne doit pas excéder 4,5%.

➤ **Les Alcools terpéniques** qui sont présents à de très faibles taux à l'état libre ou bien estérifiés avec les acides gras.

➤ **Les Alcools triterpéniques** : Les composants dominants de cette famille sont le 24-méthylène-cycloarthénol, le cycloarthénol et la bêta-amirine. Le premier triterpène synthétisé chez l'olivier est le cycloarthénol qui est obtenu suite à une cyclisation du squalène (López-López et al., 2008).

➤ **Les alcools aliphatiques** : les plus importants rencontrés dans l'huiles d'olive sont le Docosanol C22, tétracosanol C24 et hexacosanol C26 dont la teneur est fortement influencée par le mode d'extraction (López-López et al., 2008).

❖ **Les composés phénoliques** : L'une des caractéristiques les plus importantes de l'huile d'olive est sa richesse en composés phénoliques.

Ce sont des composés phénoliques simples hydrophiles (40 à 1 000 mg / kg), de puissants antioxydants (Covas et al., 2006 ; Covas, 2008), qui peuvent être divisés en différentes classes tels que :

➤ **Les alcools phénoliques** : Le Tyrosol, l'Hydroxytyrosol et leurs dérivés secoiridoïdes représentent entre 113,7 et 381,2 mg / kg (Fernández-Bolaños et al., 2002) et les autres formes conjuguées telles que l'oleuropéine et le ligstroside aglycone représentent près de la moitié de la teneur phénolique totale d'une huile d'olive vierge (Owen et al., 2000 c). En fait, le 3-O-glucuronide de l'hydroxytyrosol présente une activité plus forte en tant que capteur de radicaux que l'hydroxytyrosol lui-même (Tuck et al., 2002). D'autre part, ces composés contribuent largement à la stabilité de l'huile. Des études montrent que ces composés ont des propriétés bénéfiques sur la santé humaine tels que la prévention des phénomènes de vieillissement cérébral, l'augmentation de l'espérance de vie et un rôle antioxydant qui protège les lipoprotéines (Khady et al., 2010 ; Popovici et al., 2009). Les composés phénoliques varient principalement d'une huile à l'autre selon l'origine géographique (Vinha, 2005), la conduite des arbres, l'irrigation (Gomez et al., 2009) et la variété (Gomez, 2008 ; Tura, 2008).

➤ **Les acides phénoliques**, particulièrement les dérivés des acides hydroxybenzoïque (la série benzoïque : acides gallique, vanillique, benzoïque, etc.) et hydroxycinnamique (la série cinnamique : acides cinnamique, acide caféique, etc.) (Ocakoglu et al., 2009).

❖ **Les tocophérols** : ce sont des vitamines liposolubles (vitamine E) à double action bénéfique avec une forte activité antioxydante (Burton et al., 1986). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable (Boskou et al., 2006). L'alpha-tocophérol représente à lui seul 90% de la totalité des tocophérols et possède la plus forte activité. Les teneurs en alpha et gamma-tocophérol (200 mg / kg) et bêta-carotène varient de 0,33 à 3,69 mg / kg et peuvent atteindre 10 mg / kg en fonction de certains facteurs associés à la chlorophylle a et b et leurs produits d'oxydation (Rahmani et al., 1991 ; Ranalli et al., 1999). Les phéophytines sont responsables de la couleur verdâtre de l'huile.

❖ **Les hydrocarbures** : Ce sont les principaux composants de la fraction insaponifiable dont le squalène (hydrocarbure polyénique) constitue 30 à 50 % de cette fraction. C'est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols (Samaniego-Sanchez et al., 2001). La fraction d'hydrocarbures d'huile d'olive vierge contient plus de 77 composés des hydrocarbures aromatiques, di-terpènes, tri-terpènes, polyoléfiniques iso-sphénoïdal, et des n-paraffines (Lanzon et al., 1994) qui confèrent à l'huile d'olive l'arôme et la saveur (Jacotot, 1993).

❖ **Les pigments colorants** : La coloration d'huile d'olive vierge est due essentiellement à la présence de pigments colorants appartenant à la famille des caroténoïdes et chlorophylle.

➤ **Les pigments caroténoïdes** : Les pigments présents dans l'huile d'olive sont le β -carotène (provitamine A) avec un taux de 0,3 à 3,7 mg / kg d'huile.

La provitamine A se transforme en vitamine A au cours de l'absorption intestinale (1mg de carotène = 0,5 mg de vitamine A) (Tuomola, 2008). Le β -carotène présente une action vitaminique et antioxydante. Certains auteurs ont noté que les facteurs biologiques et technologiques, influent sur la composition en pigments caroténoïdes d'huile d'olive (Nieves Criado et al., 2008).

➤ **La chlorophylle** : sa teneur varie en fonction de nombreux facteurs. Elle exerce biologiquement une action d'excitation métabolique, stimule la croissance cellulaire et l'accélère les processus de cicatrisation (Criado et al., 2008).

Les phospholipides polyinsaturés modulent l'organisation de la membrane et l'activité protéique (Brown, 1994 ; Shaikh et al., 2015). Les acides gras saturés augmentent les taux plasmatiques des lipoprotéines de basse densité (HDL) tandis que l'acide oléique augmente le taux plasmatique de lipoprotéine de haute densité tout en abaissant légèrement ceux des LDL (Romani et al., 2007).

En effet, la supplémentation en acides gras mono-insaturés entraîne une résistance accrue des LDL à l'oxydation (Bonanome et al., 1992). Il faut cependant noter que, l'acide oléique est l'un des acides gras prédominants dans l'alimentation des animaux consommés dans les pays occidentaux tels que la volaille et le porc (Linseisen et al., 2002). Ainsi, un apport élevé en acide oléique n'est peut-être pas le seul agent responsable des propriétés saines d'huile d'olive. Des teneurs élevées en acide oléique et en composants mineurs, notamment le squalène, les stérols végétaux, les tocophérols et les polyphénols, contribuent à la composition unique d'huile d'olive. Plusieurs de ces composants sont considérés seul ou en mélanges, responsables de ses effets bénéfiques. L'effet combiné des acides gras monoinsaturé (AGMI) et du contenu phénolique d'huile d'olive vierge pourrait réduire les dommages lipidiques en relation avec le stress oxydatif.

Les acides phénoliques d'huile d'olive ont montré *in vitro* et *in vivo* des propriétés antioxydantes supérieures à celles de la vitamine E contre l'oxydation des lipides et d'ADN (Owen et al., 2000a ; Fitó et al., 2000).

En revanche, au cours des dernières années, des effets protecteurs des phénols d'huile d'olive sur l'oxydation des LDL et l'oxydation d'ADN *in vivo* ont été observés chez des hommes sains (Weinbrenner et al., 2004 ; Marrugat et al., 2004), chez les patients atteints de maladie coronarienne stable (Fitó et al., 2005) et chez les femmes ménopausées (Salvini et al., 2006).

Les effets les plus importants sur l'augmentation du taux de cholestérol HDL et la diminution de l'oxydation lipidiques ont été observés après la consommation élevée d'huile d'olive avec ces composés phénoliques.

Cependant, ces composés phénoliques sont liés aux LDL (De la Torre-Carbot et al., 2006) de manière dose-dépendante *in vitro* (Covas et al., 2000) ainsi qu'*in vivo* chez l'homme (Covas et al., 2006b). En outre, les composés phénoliques d'huile d'olive ont été signalés pour améliorer la transcription d'ARNm de l'enzyme antioxydante glutathion peroxydase (Masella et al., 2006). L'une des fonctions principales de l'alpha-tocophérol est d'empêcher l'oxydation des lipides polyinsaturés particulièrement vulnérables aux attaques des radicaux libres dans les membranes subcellulaires et plasmiques (Niki et Traber, 2012).

Plusieurs biomolécules d'huile d'olive ont été utilisées dans diverses expériences d'alimentation ou de supplémentation dans des dilueurs pour modifier la composition en acides gras de la membrane spermatique afin d'améliorer sa qualité et sa fertilité.

La supplémentation en acide α -linoléique (18 : 3 n-3) a augmenté la teneur en acide Docosahexaénoïque (22 : 6n-3) (DHA) chez les taureaux (Gürler et al., 2015). Des résultats suggèrent que l'ajout de DHA accompagné d'un antioxydant au dilueur peut améliorer la cryosurveillance des Spz en modifiant la composition lipidique des membranes (Nasiri et al., 2011). En outre, les acides gras présents dans l'alimentation affectent la composition en acides gras des Spz chez l'homme (Conquer et al., 2000) et chez divers animaux de ferme (Kelso et al., 1997a, b ; Harrison et Abhyankar, 2005 ; Zaniboni et al., 2006).

De même, il a été observé que, des faibles teneurs en AGPI, C20 ou C22 dans le sperme de taureaux plus âgés (Kelso et al., 1997b), étaient liées à une diminution de la capacité à fertiliser les ovocytes et à une diminution des niveaux d'antioxydants enzymatiques de type GPx et SOD dans le plasma séminal des taureaux vieillissants au cours de la période de reproduction (Kelso et al., 1997b). De même, une supplémentation alimentaire en AGPI augmentait la teneur en lipides des Spz chez plusieurs espèces (Mitre et al., 2004 ; Zaniboni et al., 2006).

Il a été suggéré que l'ajout des AGPI aux diluants protègent la membrane des Spz pendant la cryoconservation contre le stress oxydatif en modifiant la fluidité de la membrane spermatique (Kaeoket et al., 2008) du verrat (Maldjian et al., 2005) et du taureau (Kaka et al., 2017). Hashem et al. (2017) ont rapporté que la supplémentation en acide oléique augmente la motilité totale et progressive, la viabilité, la Vitesse curvilinéaire (VCL), l'intégrité de la membrane (HOST), la capacité antioxydante totale et la SOD et diminue la quantité de MDA et d'oxyde nitrique pendant le stockage liquide du sperme de bélier. L'ajout de 0,5 et 1 mM de l'acide oléique augmente la qualité du sperme de bélier pendant le stockage liquide après 48 h et 72 h.

Une supplémentation alimentaire de 400 mg / kg de vitamine E améliore la mobilité progressive des Spz, augmente la DHA, les acides gras polyinsaturés n-3 et le statut antioxydant en augmentant la teneur en SOD, TAC et SOD contre une diminution de MDA (Liu et al., 2015).

De même, l'ajout de vitamine E aux dilueurs montre un effet protecteur contre la peroxydation lipidique (Mata-Campuzano et al., 2014), une amélioration de la motilité et l'HOST (Kheradmand et al., 2006), ainsi de la motilité et la viabilité des Spz conservés à 5 °C ou cryoconservation chez le bélier (Azawi et Hussein, 2013 ; AminiPour et al., 2013).

Cependant, des résultats contradictoires ont été rapportés par plusieurs auteurs. En effet, un régime alimentaire supplémenté en DHA n'avait aucune amélioration de la qualité de la semence congelée de taureau (Gholami et al., 2010).

De plus, un apport alimentaire en AGPI est associé à une altération de la capacité antioxydante des tissus animaux, du sang et du sperme (Surai et al., 2000 ; Castellini et al., 2003). Khoshvaght et al. (2016) ont trouvé que les acides linoléique et oléique ont un impact négatif sur la motilité totale des Spz, la viabilité et l'intégrité de l'acrosome après une période de supplémentation alimentaire de 6 semaines (Khoshvaght et al., 2016).

B : Partie expérimentale

I. Animaux, localisation et alimentation

Les animaux ont été logés à la station de l'institut National de Recherche Agronomique, Centre Régional de Settat-Maroc (latitude : 33° 00' 00" nord, 7° 37' 00" ouest). Avant le démarrage des différentes expérimentations, les groupes de béliers utilisés ont subi un examen clinique de leur état de santé et de leurs organes génitaux externes. Tous les animaux ont été gardés à l'intérieur de la bergerie, dans un abri couvert, loin des brebis, une photopériode et température naturelles et sans aucun type de stress (Figure 21).

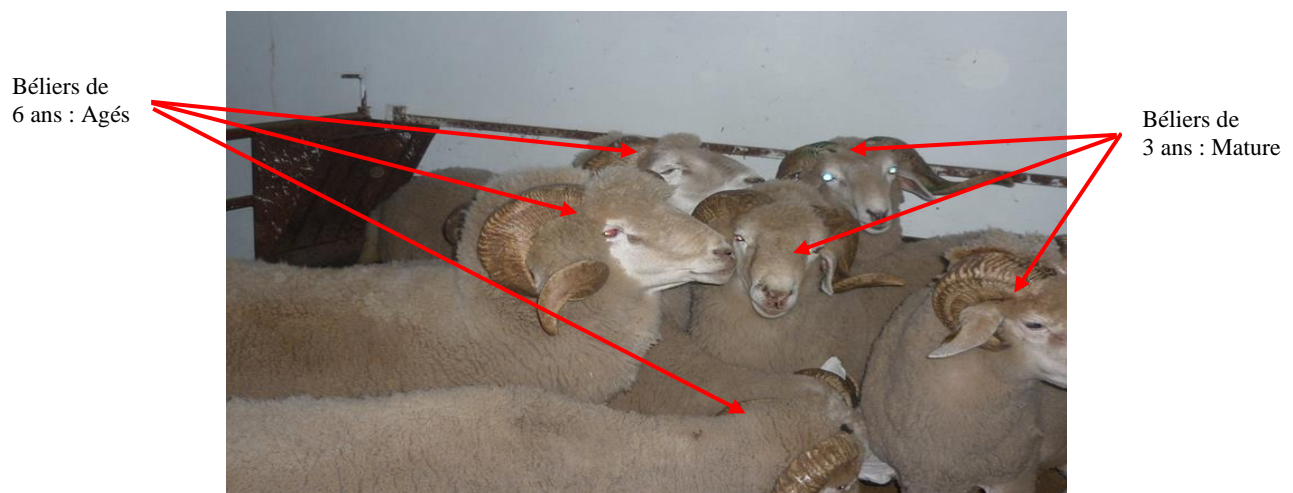


Figure 20 : Les groupes d'âge de béliers Boujaâd

II. Expérimentations

Expérimentation 1 : Effet de la variation saisonnière sur la production et la conservation du sperme de bélier de la race Boujaâd

Cette étude a été réalisée durant une année, entre le mois d'avril 2014 et le mois de mars 2015. Cinq béliers Boujaâd matures (2-3 ans) et 3 âgés (5-6 ans) ont été maintenus dans des conditions d'alimentation, de logement et d'éclairage naturel similaires. Les béliers ont été nourris avec de la paille à volonté, puis un mélange de 1,2 kg/tête et par jour (2/3 orge/1/3 tournesol) pendant toute la période de l'étude. Le poids vif ainsi que la circonférence scrotale sont réalisés mensuellement. Le sperme a été également prélevé et immédiatement après son volume, la concentration en spermatozoïdes, la motilité individuelle et massale ont été déterminés. Chaque échantillon a été subdivisé en deux. Une partie des échantillons prélevés a été conservé dans le lait écrémé de vache, après 24h la qualité du sperme (mobilité, peroxydation lipidique, anomalies...) a été évaluée. L'autre partie a été utilisée pour isoler le plasma séminal, qui été stockée à -28°C pour des analyses biochimiques (protéines, lipides et cholestérol).

Expérimentation 2 : Effet de l'ajout d'EAS dans de dilueur sur la conservation du sperme de bélier Boujaâd

Cette étude a été réalisée pendant trois mois (avril, mai et juin 2015). Cinq béliers Boujaâd matures (3,5 ans) et deux âgés (6 ans) ont été maintenus dans des conditions de l'expérimentation précédente. Chaque semaine, un prélèvement du sperme a été réalisé à l'aide d'un vagin artificiel. En plus, un aliquote du sperme a servi pour la conservation dans le lait écrémé à 15°C et dans le Tris jaune d'œuf à 5°C pendant 24h, avec ou sans l'ajout d'EAS. La lecture été réalisée à l'aide d'un système CASA. Par ailleurs, la détermination de la viabilité, l'intégrité de la membrane et la peroxydation lipidique par le dosage de la MDA ont été également réalisés.

Expérimentation 3 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la production et la conservation du sperme de bélier Boujaâd

L'étude a été réalisée pendant deux mois (avril et mai 2016). Les Béliers de race Boujaâd, ont été réparties en deux lots. Le lot témoin (recevant une ration alimentaire conventionnelle) et le lot test (recevant un supplément alimentaire à base d'huile d'olive), composé chacun de 2 béliers âgés et trois béliers matures. Les béliers ont subi une phase d'épuisement pendant deux semaines à raison de deux collectes par semaine et une autre phase d'adaptation à l'aliment de deux semaines (supplémentation en huile d'olive de façon progressive chaque 5 jours : 5ml-10ml-15ml). En outre, les béliers ont reçu du foin et de l'eau à volonté, en plus de la ration de base composée de 600 g de concentré et 600g d'orge) additionné de 20 ml ou 18,4g d'huile d'olive / bélier/jour pour le groupe test. Pour le groupe témoin, les béliers ont reçu la même ration alimentaire en plus d'une quantité d'orge énergétiquement équivalente à 20 ml de l'huile d'olive. Chaque semaine, des prises de poids et des mesures de la circonférence scrotale ont réalisées. En même temps, un prélèvement du sperme a été effectué pour déterminer le volume de l'éjaculat, la concentration en Spz, la mobilité individuelle et massale. En plus, un aliquote du sperme a servi pour la conservation dans le lait écrémé pendant 24h. L'ensemble de ces tests, ont été effectué immédiatement après la collecte et après 24h de conservation. Une autre partie du sperme collecté a été immédiatement utilisée pour déterminer les paramètres biochimiques après séparation du plasma séminale.

Expérimentation 4 : Effet de l'ajout d'EAS au sperme de bélier ayant reçu une supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la conservation du sperme de deux groupes d'âge de bélier Boujaâd

Ce test a été réalisé en même temps que le test 3 : à partir de la deuxième semaine du traitement, à chaque collecte, une partie du sperme de chaque aliquote des quatre groupes de béliers a été conservé dans le SM supplémenté d'EAS à raison de 60µg/ml. Puis, conservé à 15°C pendant 24h. Des mesures concernant la motilité progressive (MP) et la motilité totale (MT), et les autres formes de vitesse ont été obtenus par un microscope optique mené d'un système CASA.

III. Analyses

III.1. La circonférence scrotale

La circonférence scrotale (SC) a été mesurée avec une bande scrotale « Coulter » selon la méthode de Mucsi. (1997). En bref, chaque mois, le cou du scrotum de chaque bélier était saisi avec la main en utilisant les doigts pour pousser les testicules de manière ventrale. Le cône métallique de mesure a été passé autour du scrotum et serré à la plus grande largeur des deux testicules et mesuré en centimètres.

III.2. Collecte et évaluation du sperme

a. Collecte du sperme

Le sperme a été collecté mensuellement de chaque bélier, en utilisant un vagin artificiel d'une température de 42°C. Immédiatement après la collecte, tous les éjaculats étaient placés dans un bain-marie à 37°C. Les échantillons de sperme de chaque bélier ont été évalués pour le volume (ml), la concentration de sperme (10^9 Spz / ml), motilité massale (échelle arbitrale de 0 (immobile) à 5 (mobilité vigoureuse), la motilité individuelle, la viabilité et les anomalies (de 0 à 100%).

b. Evaluation du sperme

❖ *Le Volume*

Le volume en sperme (VE, ml) pour chaque collecte a été évalué en utilisant un tube conique gradué à 0,1 ml.

❖ *La Concentration*

La concentration en spermatozoïdes ($SPC \times 10^9$ Spz / ml) a été déterminée au moyen d'un spectrophotomètre (Minitube model SDM6-GERMANY).

Pour cette manipulation, le sperme est dilué dans du sérum physiologique au 1/400^{ème} (10µl sperme pur dans 4 ml de sérum physiologique plus une solution à 3% de formole).

c. **Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes**

❖ *Mobilité massale (MM)*

Elle est analysée au microscope à faible grossissement (x10). Une goutte de sperme pure est déposée sur une lame chauffée à 37°C, on observe le mouvement de l'ensemble des spermatozoïdes qui forment des tourbillons plus ou moins rapides. Ceux-ci sont notés subjectivement sur une échelle de 0 à 5 selon (Baril et al., 1993) :

- Mouvements tourbillonnaires : 5 ; - Mouvements amples et rapides : 4 ; - Mouvements limités : 3 ; - Mouvements faibles : 2 ; - Mouvements très légers : 1 ; - Pas de mouvements : 0

❖ *Mobilité individuelle (MI)*

Une goutte de sperme diluée dans du sérum physiologique à 1/400^{ème} (10µl sperme pur dans 4 ml de sérum physiologique) est placée entre lame et lamelle sur la platine à 37°C. À l'aide d'un microscope, on observe, au fort grossissement (x40), individuellement les spermatozoïdes, l'intensité, la rapidité et la trajectoire de leurs mouvements. On peut aussi apprécier d'une manière subjective, le pourcentage de spermatozoïdes vivants ou morts, fléchant ou tournant en rond. Cet examen peut se faire également après dilution et refroidissement pour juger dans le temps, le comportement et la résistance des spermatozoïdes. Il est aussi possible de réaliser une évaluation objective de la motilité par le système : Computer Assisted Sperm Analysis (C.A.S.A.). Cette analyse informatisée de la cinétique des spermatozoïdes, permet une mesure plus fine des mouvements, puisqu'il est possible avec cette méthode, d'identifier chaque spermatozoïde et de suivre son déplacement (Kumar et Naqvi, 2010).

❖ *Les différents formes et paramètres de vitesse mesures par le système CASA*

Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles (mobilité totale : MT), et mobilité progressive (MP), les différentes formes de trajectoires à savoir VSL, VCL, VAP, le rapport des vitesses tel que LIN, SRT, WOB, en plus l'amplitude de déplacement latéral de la tête (ALH) ont été évalué objectivement par CASA.

Un volume de 5 μl des échantillons de spermatozoïdes dilués (20×10^6 Spz / ml) ont été placés sur une lame préalablement-chauffées à 37°C et recouverte par une lamelle puis placé immédiat dans le CASA.

Les paramètres de la mobilité ont été déterminés par une évaluation d'au moins six champs microscopiques choisis au hasard (> 300 spermatozoïdes / champs), en utilisant les paramètres d'analyse des spermatozoïdes de bélier à une fréquence d'image de 60Hz.

Les paramètres de configuration établis étaient les suivants : taille de la cellule (min / max) $14/70 \mu\text{m}^2$; vitesse curviligne minimale (VCL) $10 \mu\text{m}^{-1}$; connectivité 14 ; et nombre minimum de points / trajectoire 5.

d. Viabilité (VIAB)

La proportion de spermatozoïdes vivants et morts a été déterminée à l'aide de la technique de coloration d'éosine nigrosine (1g d'éosine soluble dans, 2g de nigrosine soluble dans l'eau, 3,57g de Tri-Citrate de sodium, 5,5 H₂O₂ 100ml d'eau distillée) en comptant au moins 200 cellules de spermatozoïdes avec un microscope à champ clair (400x). Les spermatozoïdes présentant une tache colorée pourpre ou partielle ont été considérés comme non viables et seuls les spermatozoïdes présentant une exclusion stricte du colorant ont été considérés comme vivants (Kulaksz et al., 2010).

e. Anomalies (ABN)

Le pourcentage d'anomalie a été évalué à l'aide d'une coloration Diff-Quik (Automatic Diagnostic Systems, S.L., Barcelone, Espagne). Brièvement, un frottis de $3\mu\text{l}$ de sperme dilué (20×10^6 Spz / ml) a été étalé sur une lame et séché à l'air pendant 4 minutes. Ensuite, la lame a été trempée pendant une minute dans la solution fixatrice Diff-Quik (0,002g/l de Vert rapide dans le méthanol) avant d'être colorée avec la solution 1 de Diff-Quik (1,22g/l d'Eosin Y dans le tampon phosphate à pH 6,6 et 0,1% (w/v) de sodium azide comme conservateur) pendant 50 secondes et avec la solution 2 de Diff-Quik (1,1g/l de thiazine dans du tampon phosphate à pH 6,6) pendant 50 s. Entre l'étape de fixation et chacune des solutions Diff-Quik, l'excès de solution sur la lame a été séchée en utilisant un papier absorbant. Au moins 200 spermatozoïdes ont été évalués à l'aide d'un microscope UB203 (400x).

f. Intégrité de la membrane (HOST)

L'intégrité de la membrane plasmique du sperme a été déterminée à l'aide d'un test de gonflement hypo-osmotique (HOST) (9g de fructose, 4,9 g de citrate de sodium par litre d'eau distillée) comme décrit par Revell. (2003).

Pour évaluer l'intégrité de la membrane plasmique, 50 µl de sperme ont été mélangés avec 500 µl de solution HOST et incubés pendant 60 min à 37°C. Par la suite, 300 µl du mélange ont été étalés sur une lame placée sur une plaque chauffante. Au moins deux cent spermatozoïdes ont été examinés à l'aide d'un microscope à contraste de phase (400x) UB203. Les spermatozoïdes avec une queue gonflée ont été évalués comme ceux ayant conservé leur intégrité membranaire (Akhter et al., 2008).

g. Peroxydation lipidique (MDA)

La peroxydation lipidique a été déterminée dans les spermatozoïdes dilués en mesurant la quantité d'espèces réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) formées, selon une procédure modifiée décrite par Maia. (2006). Un ml du réactif TBA (acide trichloracétique 15%, p / v, acide chlorhydrique 0,25N, acide thiobarbiturique 0,375% (p / v) dans de l'eau distillée) et 1% (v / v) de la solution BHT (Hydroxytoluène butylé) dans 50 µm étaient ajoutés aux échantillons de 250 µl dilués avec (Tris-hydroxyméthyl-amino méthane 1,8184g, acide citrique monohydraté 0,9901g, puis l'eau distillée douce jusqu'à 50ml, pH 7,4) préparés à l'heure fraîche pour obtenir un volume de 500 µl a 10^8 Spz / ml. Le mélange a été chauffé à 100 °C pendant 15 minutes, puis on l'a laissé refroidir dans de la glace. L'échantillon a été centrifugé à 1000 x g pendant 10 minutes. Le surnageant a été recueilli et le TBARS a été quantifié avec un spectrophotomètre à 532 nm contre un blanc préparé dans des conditions similaires. La quantité de TBARS a été calculée en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $1,56 \times 10^{-5} \text{M}^{-1} \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ pour l'acide thiobarbiturique et exprimé en nmol TBARS / 10^8 spz.

h. L'analyse biochimique du plasma séminale

Les éjaculats des différents béliers ont été centrifugé à 13000 trs / min ou (1000×g) pendant 10 minutes à 4°C, afin de séparer le plasma séminal des Spz. Les surnageant de chaque groupe d'âge ont été mélangés et stockés à -20°C jusqu'à utilisation.

❖ Protéines totales

Les valeurs de protéines totales ont été mesurées par une réaction colorimétrique par la méthode de Lowry (Lowry et al., 1951) en utilisant le sérum albumine bovin (BSA) comme standard. Un volume de 2,5 ml de réactif D (96ml de Na_2CO_3 à 2% + 2ml Tartrate double Na^+ , K^+ 2ml CuSO_4) a été ajoutés dans des tubes contenant 50 µl du plasma séminal.

Puis, 0,5ml de réactif de follin dilué 1/3 a été ajouté après 10 minutes à une température ambiante, les tubes agités au vortex puis gardés pendant 30 min à l'obscurité, la densité optique est mesurée à 490 nm.

❖ *Lipides totaux*

Les lipides totaux ont été estimés selon la méthode de Woodman et Price. (1972).

* **Protocole** : Le plasma séminal est dilué (1/10) avec de l'eau et 0,1ml transféré dans un tube à essai, 1ml d'acide sulfurique concentré est ajouté et tous les tubes sont placés dans un bain d'eau bouillant pendant 20 minutes. Les tubes sont ensuite refroidis et 2ml de réactif colorimétrique (solution aqueuse de 6% de KH_2PO_4 et de 0,3% de vanilline) sont ajoutés à chaque tube et ceux-ci sont de nouveau refroidis.

L'absorbance est lue après exactement 10 minutes à 530 nm contre le blanc. Les sérums standards sont traités de manière similaire et le blanc contient 0,1ml d'eau à la place de l'échantillon.

❖ *Cholestérol*

Les concentrations de cholestérol ont été mesurées par une méthode calorimétrique (Wybenga, 1970).

* Réactif au cholestérol : 520 mg de réactif (perchlorate ferrique) ont été dissous dans 600 ml de réactif (acétate d'éthyle). Ensuite le ballon (2 litres) est placé dans un bain de glace et le contenu a été refroidi à 4°C.

400 ml d'acide sulfurique concentré à froid ont été ajoutés progressivement, en petites portions (on mélange après chaque partie, mais on ne laisse pas la température dépasser 45°C). Le réactif est stable pendant au moins une année à 25°C, ou deux ans lorsqu'il est réfrigéré (5°C).

* Échantillon de cholestérol : deux cents milligrammes de cholestérol par 100 ml d'acide acétique glacial.

* Protocole expérimental : 50µl de plasma séminale ou standard sont ajoutés à 50ml du réactif de cholestérol puis on mélange le contenu pendant au moins 10 secondes. Le mélange réactionnel est chauffé pour 15 min à 100°C, (on développe une couleur suffisante qui absorbe à 560 nm). Ensuite, on immerge l'eau du robinet (20°C ou refroidisseur) pendant 5 min, puis on mélange leur contenu par inversion avant de lire.

III.3. Préparation des dilueurs

a. A base de lait écrémé de vache

Le dilueur à base de lait de vache écrémé (LE) a été préparé à partir de lait écrémé en poudre (11% p/v) et d'eau distillée, chauffé à 95°C pendant 10 minutes (Colas et al., 1968) et complété par de la pénicilline (50 µg / ml).

b. A base de tris jaune d'œuf

Les Tris jaune d'œuf contient 2,42g de Tris, 1,48g acide citrique, 1,00g fructose, 20ml jaune d'œuf, 25mg gentamycine, 50,000 UI pénicilline et 100ml d'eau bi-distillée (Paulenz et al., 2002).

III.4. Conservation de la semence

Immédiatement après la collecte et l'évaluation initiale, 250 µl de chaque éjaculat de béliers ont été regroupés, puis diluer pour atteindre $0,8 \times 10^9$ Spz/ml puis évalués à (T0). Le sperme dilué a été équilibré à 15°C et stocké pendant 24 heures. Par la suite, la motilité totale, progressive et les formes de trajectoire ont été évaluées à différents temps de stockage (à 0 et à 24 heures).

III.5. Préparation des extraits aqueux de safran (EAS)

Notre échantillon de safran est de la région de Taliouine, acheté à l'état fraie à partir d'une coopérative locale pendant la saison de récolte. Des mesures de la masse (des échantillons de 0,5g et de 1g) ont été effectuées directes après la récolte et avant utilisation pour quantifier l'évaporation des échantillons entre la récolte et l'extraction.

La préparation de l'extrait soluble du Safran dans l'eau froide a été effectuée conformément à la méthode telle que spécifiée dans ISO/TS 3632-2 :2003, selon la procédure suivante :

Un échantillon de 500 mg de safran a été pesés avec une précision de ± 1 mg dans une balance analytique, transféré dans un flacon de 1000 ml où on ajoute 900 ml d'eau distillée, puis mélangé au moyen d'un agitateur magnétique (à 112g) pendant une heure à 4°C et en absence de lumière. Ensuite, le volume est ajusté par l'eau jusqu'au 1000ml et l'échantillon est homogénéisé avec agitation. Un volume de 20 ml de cette solution est transféré dans un flacon de 200 ml, dont on ajoute de l'eau jusqu'à la marque, puis la solution est homogénéisée par agitation. La solution est filtrée avec l'emploi de filtre hydrophile du poly-tétra-fluoro-éthylène à 0,45 µm de diamètre.

Des échantillons du filtrat ont été placés dans une cuvette de quartz pour lire les différentes valeurs de l'absorbance entre 200 et 700 nm, contre l'eau comme liquide de référence.

a. Préparation de l'EAS pour la conservation

Cette préparation a été faite selon la procédure de Hosseinzadeh et al. (2009). Environ 1g de stigmates a été séché à l'ombre à la température ambiante, puis broyé en poudre. La poudre sèche a été décocté dans 200 ml d'eau pendant 72 h à 4 °C, puis centrifugé pendant 5 min à (1006 g), et filtré par une membrane de 0,22 µm. En suite le filtrat a été évaporé à sec sous pression réduite à (30 à 40 °C). Le rendement de l'extraction était de 47,8% (m / m). Une solution mère de 1mg/ml d'EAS a été préparée et conservée.

b. Détermination des principales caractéristiques par des méthodes Spectrophotométrie UV / visible

Cette méthode permet de déterminer les principales caractéristiques du Safran tels que le safranal, la crocine et la Picrocrocine s'effectue au moyen de mesures d'absorbance. Le spectre d'absorption obtenu entre 200 nm et 700 nm est le suivant.

➤ Principe

Spécification Technique ISO/TS 3632-2 :2003.

Ainsi, l'absorbance des différents composants du safran est mesurée aux longueurs d'ondes suivantes :

- à 257 nm, où la Picrocrocine a son niveau d'absorbance maximum,
- à 330 nm, où le safranal a son niveau d'absorbance maximum,
- à 440 nm, ce qui correspond à l'absorbance maximale de la crocine, déterminant ainsi le pouvoir colorant du safran.

La détermination de la Picrocrocine, Safranal et de la Crocine ($A_{1cm}^{1\%}(\lambda_{max})$) de notre échantillon (essai moyen) a été calculée par la formule suivante :

$$(A_{1cm}^{1\%}(\lambda_{max})) = D \times 200$$

D : Absorbance spécifique caractérisation de l'extrait

III.6. Caractérisation de l'extrait aqueux de Safran

a. Humidité

C'est la perte de masse subite par le produit après chauffage à 103°C pendant 16h, elle est exprimée en % masse.

➤ Protocole

- Peser avec une balance analytique avec une précision \pm de 0,001 g, exactement 2, 5 g du Safran dans un verre de montre lequel a été bien séché précédemment.
- Le verre de montre avec l'échantillon est placé dans le four à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 16h.

➤ Expression des résultats

La détermination de l'humidité en pourcentage et des composantes volatiles se fait avec la formule suivante :

$$H (\%) = 100 * (m_0 - m_s) / m_0$$

H % = l'humidité en pourcentage

m_0 = Est la masse initiale de l'échantillon en grammes.

m_s = Est la masse de l'échantillon après séchage en grammes.

b. La détermination de la qualité du safran

❖ Le pourcentage en crocine.

$$\% \text{ Crocine} = \epsilon (\text{crocine}) \times \text{pouvoir colorant}$$

(Avec $\epsilon (\text{crocine}) = 4,9 \times 10^{-2}$)

c. Détermination de la teneur en polyphénols et flavonoïdes

❖ Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux de l'extrait aqueux de safran a été déterminée par la méthode de Singleton et Rossi. (1965) utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Un volume de 200 μl pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, et un mélange composé d'1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5 % est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre Jenway 6405 UV/ Vis.

Une courbe d'étalonnage à différente concentration d'acide gallique a été préparée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

❖ *Dosages des flavonoïdes*

Le dosage des flavonoïdes a été effectué suivant la méthode décrite par Zhishen et al. (1999) en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) : Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (Marinova et al., 2005). Un volume de 250 μL d'extrait est mélangé avec 1000 μl d'eau distillée, puis 75 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15 %. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 75 μl de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% est ajouté. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 1000 μl d'hydroxyde de sodium (NaOH) (4%) est ajouté. Le volume total est complété à 2500 μl d'eau distillée. Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc contenant l'eau distillée. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à concentrations de 0 à 260 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes équivalent quercétine par milligramme de la matière végétale sèche ($\mu\text{g EQ}/\text{mg MS}$).

III.7. Analyse statistique

Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm erreur type de la moyenne (SEM). Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel statistique JMP SAS 11.0.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, États-Unis) pour tous les tests effectués.

Etude 1 : effet d'âge sur la production et la conservation du sperme

Pour la comparaison de la valeur moyenne de la circonférence scrotale, des paramètres de qualité du sperme et de la composition du plasma séminal pour les deux groupes d'âge au cours des différentes saisons, les données ont été analysées par ANOVA avec un plan factoriel. Le modèle statistique comprenait les effets fixes des deux groupes d'âge et des quatre saisons.

Lorsque des différences statistiquement significatives ont été trouvées, le test post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les saisons.

Le test t de Student a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes, en considérant un niveau de signification de $P < 0,05$. Les données sur la mobilité des spermatozoïdes stockés ont été examinées par ANOVA avec un plan factoriel.

Le modèle statistique incluait les effets fixes de l'âge, de la saison, pour chaque période de stockage (0, 8 et 24 h), ainsi pour les effets de diluant, de la durée de conservation et de l'interaction saison \times âge, dilueurs \times durée de conservation, âge \times durée de conservation et âge \times Dilueurs \times durée de conservation sur la motilité, intégrité membranaire, anomalie, viabilité et peroxydation lipidique.

Lorsque des différences statistiquement significatives ont été détectées, le test post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les saisons. Le test t de Student a été appliqué pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes, en appliquant le niveau de signification de $P < 0,05$. Des corrélations multiples ont été calculées pour établir la relation entre les mesures moyennes issues de la circonférence scrotale, les paramètres de qualité du sperme frais, la composition du plasma séminal et la motilité du sperme stocké. Les corrélations avec $P < 0,01$ ont été considérées comme significatives.

Etude 2 : Effet d'EAS sur la conservation du sperme de bélier dans le SM et TEY.

De la même manière, comparaison des valeurs moyennes de la mobilité totale et progressive, pour les différentes concentrations en EAS dans SM un témoin sans EAS, ont été analysées par ANOVA avec un plan factoriel. Le modèle statistique comprenait les effets fixes de l'âge, et la supplémentation avec l'EAS pour les deux types de dilueur SM et TEY. Lorsque des différences statistiquement significatives ont été trouvées, le test post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes et les semaines du traitement.

Le test t de Student a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes, en considérant un niveau de signification de $P < 0,05$. Les données sur la mobilité des spermatozoïdes stockés ont été examinées par ANOVA avec un plan factoriel. Le modèle statistique incluait les effets fixes de l'âge, l'EAS et le dilueurs, pour chaque période de stockage (0, et 24 h), ainsi pour les interactions âge \times EAS, EAS \times durée de stockage et âge \times EAS \times durée de stockage, sur la MT, MP, VIAB, ABN, MDA. Ainsi sur les formes de trajectoires pour les deux types de dilueurs ; de même pour l'interaction entre l'âge \times EAS (SM) \times groupe de traitement alimentaire en huile d'olive, pour chaque période de stockage (0, et 24 h). Lorsque des différences statistiquement significatives ont été détectées, le test post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes d'âge et/ou de traitement et pour chaque période de stockage (0, et 24 h).

Le test t de Student a été appliqué pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes, en appliquant le niveau de signification de $P < 0,05$.

Etude 3 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la production et la conservation du sperme de bélier

La comparaison des valeurs moyennes de la circonférence scrotale, du poids corporel, ainsi que les différents paramètres de la qualité du sperme au cours des différentes semaines du traitement, au début et à la fin du traitement concernant la composition du plasma séminal pour les deux groupes d'âge témoins et traités, ont été analysées par ANOVA avec un plan factoriel.

Le modèle statistique comprenait les effets fixes de groupes d'âge, le groupe traitement (traité - non traité) et la du traitement.

Lorsque des différences statistiquement significatives ont été trouvées, le test post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes et les semaines du traitement.

Le test t de Student a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes, en considérant un niveau de signification de $P < 0,05$. Les données sur la mobilité des spermatozoïdes stockés ont été examinées par ANOVA avec un plan factoriel. Le modèle statistique incluait les effets fixes de l'âge, du traitement et la durée du traitement, pour chaque période de stockage (0, et 24 h), ainsi pour les interactions âge \times groupe de traitement, âge \times durée de traitement et âge \times groupe de traitement \times durée de traitement sur la SC, Poids, MM, MI, VE, VIAB, ABN, SPC, cholestérol, protéine et lipide totale.

Lorsque des différences statistiquement significatives ont été détectées, le test post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes et les semaines du traitement pour les deux groupes d'âge.

Le test t de Student a été appliqué pour comparer les moyennes et les erreurs types entre les groupes, en appliquant le niveau de signification de $P < 0,05$.

C -Partie :

Résultats & Discussions

Chapitre 1 : Effet de la variation saisonnière et de l'âge avancé sur la production, la conservation du sperme et la composition biochimique du plasma séminal, chez les béliers Boujaâd

Pour une meilleure gestion de la reproduction chez les ovins, l'IA apparait la meilleure technique qui peut être utilisée dans les différentes fermes, en utilisant une semence fraîche collectée à partir des béliers géniteurs de haute qualité génétique. Cela demande une production suffisante du sperme de bonne qualité. Parmi les facteurs influençant la qualité de production et de conservation du sperme on note, la saison et l'âge du bélier. Dans ce premier chapitre on va présenter les résultats concernant l'effet de la variation saisonnière et de l'âge avancé sur la qualité de la production et de la conservation du sperme de bélier de la race Boujaâd.

I. Résultats

1. Effet de la variation saisonnière sur la circonférence scrotale et les caractéristiques du sperme chez les deux groupes d'âge

Les effets de la saison, de l'âge et de leur interaction sont présentés dans les tableaux 2, 3 et 5. La saison a affecté la SC et toutes les autres variables de la qualité du sperme à l'état frais étudiées (Tableaux 2, 3 et 5). De même, l'âge a affecté la SC ($P < 0,05$) et tous les autres caractères de la qualité du sperme frais ($P < 0,01$), alors qu'il n'a pas d'effet sur le VE et le SPC ($P > 0,05$) (Tableaux 2 et 4). L'interaction entre la saison et l'âge a affecté de manière significative le VE, le MM, l'MI et l'ABN ($P < 0,05$) (Tableaux 2 et 5). En ce qui concerne les changements de la SC pour les deux groupes d'âge, les valeurs moyennes les plus élevées ont été obtenues en été et en automne. Tandis que, la valeur la plus basse a été enregistrée en hiver, avec une période de transition au printemps pour les deux groupes d'âge. Cependant, la valeur la plus élevée de la SC a été observée chez le groupe âgé par rapport au groupe mature (Tableau 4). Pour les deux groupes d'âge, la valeur la plus élevée de la SPC a été enregistrée au printemps, et elle a diminué en été et en automne. Les plus faibles valeurs de la VIAB (%) ont été enregistrées en hiver, puis ces valeurs ont augmenté au printemps pour atteindre des valeurs plus élevées en été et en automne (Tableau 3). Quelle que soit la saison, la VIAB était plus élevée chez les béliers matures par rapport aux béliers âgés (Tableau 4).

Des valeurs maximales du VE ont été enregistrées en été pour le groupe mature et pendant deux saisons (été et automne) pour le groupe âgé, avant de chuter au printemps pour les deux groupes d'âge (Tableau 2).

Concernant le ABN (%), les valeurs ont montré une augmentation en hiver et une diminution au printemps, avec des valeurs intermédiaires enregistrées en été et en automne.

Les valeurs maximales de la MM et MI ont été enregistrées durant les saisons d'été et de printemps pour les béliers matures, et seulement en été pour le groupe âgé (Tableau 2).

Toutefois, les valeurs les plus faibles ont été enregistrées en hiver pour les deux groupes d'âge. Il convient de souligner que le groupe de béliers âgés présentait un pourcentage d'ABN plus élevé et des pourcentages de MM, MI et VIAB plus faibles par rapport au groupe mature durant les différentes saisons (Tableau 5).

Tableau 2 : Les effets de l'âge, de la saison, et l'interaction âge × saison

Variables	P-value		
	Saison	Âge	Saison* Âge
SC (cm)	< 0,01**	< 0,05*	NS
VE (ml)	< 0,01**	NS	< 0,05*
SPC (×10 ⁹ /ml)	< 0,01**	NS	NS
MM (score 1-5)	< 0,01**	< 0,01**	< 0,01**
MI (%)	< 0,01**	< 0,01**	< 0,05*
VIAB (%)	< 0,01**	< 0,01**	NS
ABN (%)	< 0,01**	< 0,01**	< 0,05*

NS : Non significatif. * significatif à P < 0,05. ** significatif à P < 0,01. *** significatif à P < 0,001.

SC : Circonférence Scrotale ; VE : Volume d'éjaculat ; SPC : Concentration du sperme ; MM : Mobilité massale ; MI : Mobilité individuelle ; VIAB : Viabilité ; ABN : Anomalie.

Tableau 3: Effets de la saison sur la circonférence Scrotale et les paramètres de qualité du sperme (concentration et la Viabilité) chez les béliers Boujaâd (moyenne ± SEM)

Variables	Été	Automne	Hiver	Printemps
Circonférence Scrotale (cm)	33,65±0,23 ^a	33,68±0,21 ^a	31,07±0,29 ^c	32,67±0,23 ^b
Concentration en SPZ (×10 ⁹ /ml)	3,59±0,08 ^b	3,43±0,08 ^{bc}	3,22±0,06 ^c	4,08±0,04 ^a
Viabilité des SPZ (%)	93,91±0,44 ^a	93,99±0,39 ^a	90,83±0,52 ^c	92,21±0,39 ^b

^{a,b,c}. Différents exposants dans les lignes indiquent un effet de la saison pour chaque paramètre (P < 0,05)

Tableau 4 : Effets de l'âge sur la circonférence scrotale et la viabilité du sperme chez les béliers Boujaâd (moyenne \pm SEM)

Variables	Mature	Âgé
Circonférence Scrotale (cm)	32,50 \pm 0,19 ^b	33,04 \pm 0,23 ^a
Viabilité des SPZ (%)	94,24 \pm 0,25 ^a	91,23 \pm 0,33 ^b

^{a, b.} Différents exposants dans les lignes indiquent un effet de groupe d'âge pour chaque paramètre (P <0,05)

Tableau 5 : Effets de la saison et de l'âge sur les paramètres de qualité du sperme (volume d'éjaculat, mobilité massale et individuelle, anomalie) et les paramètres biochimiques du plasma séminal (protéines totale, cholestérol, lipides totale) chez les béliers Boujaâd (moyenne \pm SEM)

Variables	Groupe	Été	Automne	Hiver	Printemps
Volume d'éjaculat (ml)	Matures	1,27 \pm 0,07 ^{bA}	1,32 \pm 0,02 ^{aA}	1,05 \pm 0,05 ^{cA}	1,23 \pm 0,04 ^{cA}
	Âgés	1,35 \pm 0,05 ^{aA}	1,38 \pm 0,03 ^{aA}	1,11 \pm 0,05 ^{cA}	1,29 \pm 0,03 ^{bA}
Mobilité Massale (score 1-5)	Matures	4,91 \pm 0,06 ^{aA}	4,65 \pm 0,05 ^{bA}	4,40 \pm 0,04 ^{cA}	4,90 \pm 0,04 ^{aA}
	Âgés	4,76 \pm 0,05 ^{aB}	4,30 \pm 0,09 ^{cB}	3,80 \pm 0,08 ^{dB}	4,57 \pm 0,07 ^{bB}
Mobilité Individuelle (%)	Matures	93,74 \pm 0,16 ^{aA}	93,50 \pm 0,32 ^{aA}	91,33 \pm 0,35 ^{cA}	92,83 \pm 0,20 ^{abA}
	Âgés	92,44 \pm 0,37 ^{aB}	91,22 \pm 0,54 ^{bB}	87,55 \pm 0,37 ^{dB}	89,00 \pm 0,28 ^{cB}
Anomalies (%)	Matures	5,88 \pm 0,26 ^{aA}	6,61 \pm 0,37 ^{bA}	8,44 \pm 0,25 ^{dA}	7,50 \pm 0,20 ^{cA}
	Âgés	10,77 \pm 0,36 ^{aB}	9,61 \pm 0,63 ^{aB}	13,44 \pm 0,42 ^{cB}	11,72 \pm 0,22 ^{bB}
Protéines Totale (g/l)	Matures	25,62 \pm 0,41 ^{Ab}	28,18 \pm 0,11 ^{Aa}	21,18 \pm 0,26 ^{Ac}	25,05 \pm 0,16 ^{Ab}
	Âgés	20,58 \pm 0,15 ^{Bb}	21,97 \pm 0,08 ^{Ba}	18,83 \pm 0,12 ^{Bd}	19,87 \pm 0,10 ^{Bc}
Cholesterol (g/l)	Matures	1,37 \pm 0,03 ^{Aa}	1,43 \pm 0,04 ^{Aa}	1,08 \pm 0,06 ^{Ab}	1,29 \pm 0,02 ^{Aa}
	Âgés	1,16 \pm 0,06 ^{Ba}	1,21 \pm 0,03 ^{Ba}	1,13 \pm 0,04 ^{Aa}	1,14 \pm 0,04 ^{Ba}
Lipides Totale (g/l)	Matures	2,95 \pm 0,04 ^{Aab}	3,13 \pm 0,07 ^{Aa}	2,39 \pm 0,02 ^{Ac}	2,86 \pm 0,05 ^{Ab}
	Âgés	2,51 \pm 0,06 ^{Ba}	2,69 \pm 0,07 ^{Ba}	2,48 \pm 0,09 ^{Aa}	2,51 \pm 0,05 ^{Ba}

^{a,b,c.} Différents exposants dans les lignes indiquent un effet de la saison pour chaque paramètre (P <0,05).

^{A, B.} Différents exposants dans les colonnes indiquent un effet de groupe d'âge pour chaque paramètre (P <0,05).

2. Effet de la saison et de l'âge sur la composition biochimique du plasma séminal

Les résultats concernant la composition biochimique de quelques paramètres du plasma séminal sont présentés dans le (tableau 5).

Tous les paramètres du plasma séminal étudiés ont été affectés par l'âge, la saison et leurs interactions. Les concentrations de protéines ont été plus élevées chez le groupe mature par rapport au groupe âgé aux différentes saisons. Tandis que, le groupe de bélier mature avait des valeurs plus élevées en lipides totaux et cholestérol durant les trois saisons (été, automne et printemps). En hiver, les deux groupes ont présenté des valeurs similaires.

Chez le groupe âgé, la concentration en protéines totales du PS a été plus élevée en automne et a diminué en l'été puis en hiver, pour atteindre les valeurs les plus faibles au printemps. Contrairement au groupe mature, une concentration plus élevée en protéines totales a été observée en automne, suivies des valeurs moyennes au printemps et en été, alors que les valeurs les plus faibles ont été enregistrées en hiver. Les lipides totaux et le cholestérol séminal n'ont pas été affectés par la saison chez le groupe âgé. Par opposition, les béliers matures, montraient des valeurs maximales en été, en automne et au printemps pour les lipides totaux, ont des valeurs plus élevées en été en automne pour le cholestérol.

3. Effet de l'âge et de la variation saisonnière sur la conservation du sperme à l'état liquide

Les résultats concernant la motilité totale (MT) et progressive (MP) du sperme pendant le stockage à l'état liquide sont présentés dans le tableau 6.

Les valeurs de la MT et la MP ont été significativement affectées par la saison, l'âge et l'interaction âge-saison, indépendamment du temps de stockage. Cependant, à 0 h, les plus grandes valeurs de la MT et de la MP ont été enregistrées en automne suite à une augmentation pendant le printemps et l'été de la MP chez les deux groupes d'âge et de la MT chez le groupe mature, alors que les valeurs les plus faibles ont été enregistrées en hiver pour les deux groupes. À 8 h, MT et MP ont été à leur maximum chez les deux groupes en automne. Pour le groupe âgé, la MT a diminué en été puis au printemps pour arriver à des valeurs minimales en hiver, alors que chez le groupe mature, des valeurs plus faibles le la MT été enregistrées en hiver, suivie d'une augmentation au printemps pour se stabiliser en été.

En ce qui concerne la MP, chez le groupe âgé, elle a diminué significativement en hiver, avec une période de transition durant le printemps et l'été, alors que chez le groupe mature, la MP a diminué de manière significative en hiver et au printemps suivie d'une augmentation à nouveau en été. Après 24 h de conservation à l'état liquide, les valeurs les plus faibles de MP et de MT ont été enregistrées en hiver. Chez le groupe âgé, ces valeurs ont de nouveau augmenté au printemps et en été. Cependant, chez le groupe mature, la MT a augmenté significativement au printemps et a continué à augmenter en été pour enregistrer des valeurs maximales en automne, contre une augmentation de la MP au printemps et en été pour arriver à des valeurs plus élevées en automne.

Tableau 6 : Valeurs moyennes globales, de la mobilité totale et de la progression des spermatozoïdes à différentes durées de conservation à 15 ° C (0, 8 et 24h) et pendant les quatre saisons de l'année chez les deux groupes d'Âge de béliers (moyenne ± SEM).

Durée de stockage	Variables	Groupes	Saison			
			Été	Automne	Hiver	Printemps
0h	MT	Âgés	89,21±0,39 ^{Bb}	91,08±0,31 ^{Ba}	86,44±0,44 ^{Bc}	87,57±0,49 ^{Bc}
		Matures	92,13±0,29 ^{Ab}	93,63±0,27 ^{Aa}	91,11±0,42 ^{Ab}	91,31±0,28 ^{Ab}
	MP	Âgés	68,29±0,56 ^{Bb}	73,38±0,41 ^{Ba}	61,11±0,67 ^{Bc}	67,5±0,40 ^{Bb}
		Matures	73,31±0,39 ^{Ab}	75,63±0,36 ^{Aa}	70,78±0,62 ^{Ac}	73,13±0,45 ^{Ab}
8h	MT	Âgés	85,50±0,34 ^{Bb}	89,31±0,41 ^{Ba}	84,44±0,53 ^{Bb}	85,29±0,42 ^{Bb}
		Matures	90,19±0,26 ^{Aab}	91,19±0,29 ^{Aa}	88,56±0,55 ^{Ac}	89,63±0,26 ^{Abc}
	MP	Âgés	62,93±0,27 ^{Bb}	69,54±0,37 ^{Ba}	59,11±0,63 ^{Bd}	61,07±0,41 ^{Bc}
		Matures	69,81±0,32 ^{Ab}	73,31±0,36 ^{Aa}	67,56±0,60 ^{Ac}	67,69±0,44 ^{Ac}
24h	MT	Âgés	80,69±0,58 ^{Bb}	87,38±0,46 ^{Ba}	77,89±0,54 ^{Bc}	80,08±0,44 ^{Bb}
		Matures	87,85±0,46 ^{Ab}	90,54±0,40 ^{Aa}	83,89±0,59 ^{Ad}	86,19±0,36 ^{Ac}
	MP	Âgés	50,92±0,52 ^{Bb}	55,77±0,43 ^{Ba}	43,67±0,71 ^{Bc}	49,38±0,42 ^{Bb}
		Matures	53,54±0,47 ^{Ab}	61,15±0,49 ^{Aa}	48,33±0,58 ^{Ac}	52,31±0,48 ^{Ab}

^{abc}. Différents exposants dans les lignes indiquent un effet de la saison sur chaque paramètre (P < 0,05).
A, B. Différents exposants dans les colonnes indiquent un effet de l'âge sur chaque paramètre (P < 0,05).

4. Corrélation entre les paramètres de qualité de la semence fraîche, de la composition du plasma séminal et de la mobilité des spermatozoïdes conservée

Les résultats des tests de corrélation multiples sont présentés dans les tableaux (7, 8 et 9). La corrélation multiple a montré une relation positive significative entre la SC et le VE, la MM ainsi la MP après 24h de conservation à l'état liquide (Tableau 7).

Le VE a été significativement ($P < 0,01$) corrélé à la MP après 24h de conservation. Une corrélation significativement positive a été notée entre la MM et la MI, la VIAB, la MP, la MT et les protéines totales séminale (Tableau 8).

La MI a été positivement corrélée ($P < 0,01$) au VIAB, MP, MT (Tableau 7) et à la composition du plasma séminal (Tableau 9).

Le pourcentage de la VIAB a été corrélé positivement ($P < 0,01$) à la composition du plasma séminal et à la mobilité des spermatozoïdes conservé. Le pourcentage d'ABN a été négativement corrélé à la viabilité, à la motilité de masse, à la motilité individuelle, à la motilité des spermatozoïdes conservés et à la composition plasmatique séminale ($P < 0,01$) (Tableau 7 et 9).

Aucune corrélation significative n'a été enregistrée entre la concentration de spermatozoïdes et les autres paramètres testés ($P > 0,05$) (Tableaux 7 et 8).

La composition du plasma séminal a été positivement ($P < 0,01$) corrélée à la motilité des spermatozoïdes conservé (Tableau 9).

Tableau 7 : Coefficients de corrélation entre la circonférence scrotale (SC), la qualité de la semence fraîche (QSF) et la motilité des spermatozoïdes conservés (MSC) (après 0, 8 et 24 heures de conservation) à l'état liquide à 15°C chez les béliers de la race Boujaâd

Paramètres		SC		FSQ						MSC				
		SC	VE	SPC	MM	MI	VIAB	ABN	MT (0h)	MP (0h)	MT (8h)	MP (8h)	MT (24h)	MP (24h)
SC	SC	1	0,73**	.0,02	0,39**	0,27	0,29	.0,1	0,15	0,15	0,04	0,23	0,23	0,37*
	VE		1	.0,13	0,28	0,28	0,26	.0,03	0,11	0,12	0,08	0,18	0,19	0,37*
FSQ	SPC			1	0,17	.0,22	.0,23	0,19	.0,21	.0,02	.0,17	.0,24	.0,22	.0,09
	MM				1	0,71**	0,66**	.0,62**	0,65**	0,69**	0,55**	0,61**	0,57**	0,59**
	MI					1	0,85**	.0,79**	0,81**	0,76**	0,77**	0,85**	0,80**	0,69**
	VIAB						1	-0,86**	0,79**	0,73**	0,72**	0,84**	0,83**	0,72**
	ABN								1	.0,83**	.0,80**	.0,82**	.0,86**	.0,83**
	MT (0h)									1	0,85**	0,82**	0,85**	0,82**
	MP (0h)											1	0,79**	0,83**
MSC	MT (8h)											1	0,84**	0,81**
	MP (8h)												1	0,88**
	MT(24h)													1
	MP (24h)													

* Significatif à P <0,01. ** significatif à p <0,001.

SC = circonférence scrotale (cm). **VE** (ml). = volume d'éjaculat. **SPC** = concentration de sperme (10⁹ spz / ml). **MM** = Motilité massale. **MI** (%) = Motilité individuelle (%). **VIAB** (%) = pourcentage de spermatozoïdes vivants (%). **ABN** (%) = pourcentage de spermatozoïdes anormaux (%). **MT** (%) = motilité totale (%). **MP** (%) = motilité progressive.

Tableau 8 : Coefficients de corrélation entre la circonférence scrotale (SC), la qualité du sperme frais (FSQ) et la composition biochimique du plasma séminal (BCSP) chez les béliers de la race Boujaâd

Paramètres	SC		FSQ					BCSP			
	SC	VE	SPC	MM	MI	VIAB	ABN	Prot-T	Chol	Lipid-T	
SC	SC	1	0,73**	-0,02	0,39**	0,27	0,29	-0,1	-0,12	-0,13	-0,06
	VE		1	-0,13	0,28	0,28	0,26	-0,03	-0,19	-0,06	-0,19
FSQ	SPC			1	0,17	-0,22	-0,23	0,19	0,18	0,25	0,32
	MM				1	0,71**	0,66**	-0,62**	0,60*	0,48	0,47
	MI					1	0,85**	-0,79**	0,80**	0,64**	0,61*
	VIAB						1	-0,86**	0,79**	0,54*	0,61*
	ABN							1	-0,85**	-0,57**	-0,65*
BCSP	Prot-T							1	0,83**	0,91**	
	Chol								1	0,74**	
	Lipid-T									1	

* Significatif à P <0,01. ** significatif à P <0,001

SC = circonférence scrotale (cm). **VE** = volume éjaculé (ml). **SPC** = concentration de sperme (10⁹ spermatozoïdes / ml). **MM** = Motilité de masse. **MI** = Motilité individuelle (%). **VIAB** = pourcentage de spermatozoïdes vivants. **ABN** = pourcentage de spermatozoïdes anormaux. **Prot-T** = Protéines totales (g / l). **Chol** = Cholestérol (g / l). **Lipid-T** = lipides totaux (g / l)

Tableau 9 : Coefficients de corrélation entre la composition biochimique du plasma séminal (BCSP) et la motilité du sperme conservé (MSC) (après 0, 8 et 24 heures) chez des béliers Boujaâd

Paramètres	BCSP				MSC					
	Prot-T	Chol	Lipid-T	MT (0h)	MP (0h)	MT (8h)	MP (8h)	MT (24h)	MP (24h)	
BCSP	Prot-T	1	0,83**	0,91**	0,79**	0,79**	0,77**	0,83**	0,81**	0,80**
	Chol		1	0,74**	0,66**	0,58**	0,67**	0,67**	0,65**	0,71**
	Lipid			1	0,58*	0,63**	0,63**	0,69**	0,69**	0,77**
MSC	MT (0h)				1	0,85**	0,82**	0,85**	0,82**	0,73**
	MP (0h)					1	0,79**	0,83**	0,84**	0,80**
	MT (8h)						1	0,84**	0,81**	0,69**
	MP (8h)							1	0,88**	0,81**
	MT (24h)								1	0,78**
	MP (24h)									1

* Significatif à P <0,01. ** significatif à P <0,001

MT = motilité totale (%). **MP** = motilité progressive (%). **Prot-T** = Protéines totales (g / l). **Chol** = Cholestérol (g / l). **Lipid-T** = lipides totaux (g / l).

5. Effet des dilueurs (SM et TEY) sur la conservation du sperme à 5°C chez les deux groupes d'âges de béliers

Les résultats expérimentaux sont présentés dans les tableaux (de 10 à 14). Tous les facteurs étudiés (dilueurs, durée de conservation, groupe d'âge et leurs interactions) ont un effet statistiquement significatif (P <0,01) sur la motilité progressive et la LPO. Cependant, la motilité totale n'a été affectée que par la combinaison groupe d'âge * temps de stockage (P <0,01). Le pourcentage de la viabilité (VIAB%) a été affecté par la durée de stockage (P <0,05) et la combinaison durée de stockage*dilueur (P <0,05). Le pourcentage d'anomalies des spermatozoïdes était significativement affecté par la durée de conservation (P <0,001) et la combinaison entre la durée de stockage*groupe d'âge (P <0,05) (Tableau 10). Enfin, l'intégrité de la membrane (HOST) était significativement affectée par le temps de stockage (P <0,001), la combinaison entre le temps de stockage * dilueur (P <0,001) et aussi entre le groupe d'âge * durée de stockage * dilueur (P <0,05) (Tableau 10).

Tableau 10 : Les effets de l'âge, du diluant, de la durée de conservation et de l'interaction × âge, dilueurs × durée de conservation, âge × durée de conservation et âge × Dilueurs × durée de conservation sur la motilité, intégrité membranaire, les anomalies, la viabilité et la peroxydation lipidique

	MP	MT	VIAB (%)	ABN (%)	HOST	LPO
Temps de stockage (h)	***	NS	*	***	***	***
Dilueurs * Temps de stockage (h)	***	NS	*	NS	***	***
Group* Temps de stockage (h)	**	**	NS	*	NS	***
Dilueurs *Group* Temps de stockage	***	NS	NS	NS	*	**

NS : Non significatif. * significatif à P <0,05. ** significatif à P <0,01. *** significatif à P <0,001.

MT : mobilité totale ; **MP** : mobilité progressive ; **VIAB%** : le pourcentage de viabilité ; **HOST** : test d'intégrité membranaire ; **ABN%** : le pourcentage des anomalies. **LPO** : la peroxydation lipidique exprimée en nmoles de TBARS / 10⁸ spermatozoïdes.

Il n'y a pas eu d'effet significatif de la durée de conservation sur la mobilité totale à 0h et après 24h de conservation (P > 0,05) pour les deux groupes d'âge. Cependant, la mobilité totale a été significativement meilleure, chez le groupe mature à 24 h (P <0,05). Le pourcentage d'anomalie des spermatozoïdes (ABN%) a été plus élevé chez les béliers âgés et ont augmenté dans les deux groupes d'âge après 8 h de stockage (P <0,05). La motilité progressive a diminué avec la durée de conservation dans les deux groupes d'âge (P <0,05) mais était généralement meilleure chez le groupe mature (P <0,05). La peroxydation lipidique (LPO) a augmenté significativement (P <0,05) avec la durée de conservation chez les deux groupes d'âge et les deux diluants (Tableau 11).

Tableau 11 : Effet du groupe d'âge sur la qualité du sperme conservé à l'état liquide à 5 °C (moyenne ± ESM)

Groupes	Durée (h)	MT%	MP%	ABN%	LPO
Groupe Agé	0	88,73±0,83 ^{aB}	57,34±1,62 ^{aB}	8,46±0,23 ^{bB}	1,02±0,02 ^{cA}
	8	85,89±1,39 ^{aB}	45,77±1,44 ^{bB}	9,30±0,44 ^{bB}	1,74±0,04 ^{bA}
	24	86,61±1,15 ^{aB}	34,5±2,24 ^{cB}	13,75±0,50 ^{aB}	2,67±0,06 ^{aA}
Groupe Mature	0	90,78±0,58 ^{bA}	68,53±1,25 ^{aA}	6,77±0,30 ^{bA}	0,83±0,02 ^{cB}
	8	92,07±0,56 ^{aA}	53,18±1,39 ^{bA}	7,64±0,37 ^{bA}	1,39±0,03 ^{bB}
	24	90,55±0,56 ^{bA}	49,9±2,45 ^{bA}	10,16±0,36 ^{aA}	2,19±0,03 ^{aB}

Différents exposants (a, b, c) dans la même colonne indiquent un effet significatif du temps de stockage pour chaque dilueur (P <0,05).

Différents exposants (A, B) dans la même ligne indiquent un effet significatif de groupe d'âge à chaque durée de conservation (P <0,05).

MT : mobilité totale ; **MP** : mobilité progressive, **ABN** : anomalie, **LPO** : peroxydation lipidique exprimée en nmoles de TBARS / 10⁸ spermatozoïdes.

A 0h, il n'y a pas eu de différence significative entre les deux dilueurs en termes de mobilité progressive ($P < 0,05$). Cependant, la diminution de la mobilité progressive a été significativement ($P < 0,05$) plus prononcée dans le test Tris jaune d'œuf que dans le Lait écrémé de vache (Tableau 12).

De plus, les spermatozoïdes de bélier âgé ou conservés dans le Lait écrémé de vache ont été plus affectés par la peroxydation lipidique que ceux de béliers mature ou conservés dans le Tris jaune d'œuf (Tableaux 11 et 12).

La durée de conservation dans les deux dilueurs n'a pas affecté ($P > 0,05$) la VIAB% des spermatozoïdes. Cependant, des valeurs significativement ($P < 0,05$) plus élevées ont été enregistré dans le Tris jaune d'œuf (Tableau 13).

Les valeurs de l'intégrité de la membrane ont diminué de manière significative ($P < 0,05$) avec la durée de conservation de 0h à 24h. Il y a eu une différence significative ($P < 0,05$) entre les deux dilueurs après 8 heures de stockage. Des valeurs de l'intégrité de la membrane ont été plus élevées dans le Lait écrémé de vache que dans le Tris jaune d'œuf. Les valeurs de l'intégrité de la membrane ont été significativement ($P < 0,05$) élevées chez le groupe mature que chez le groupe âgé dans les deux dilueurs (Tableaux 12 et 14).

Un effet significativement négatif de l'âge avancé de bélier sur l'HOST et positif sur la LPO pendant les deux saisons, à t0h et après 24h. De même, un effet significatif ($P < 0,05$) de l'âge avancé sur la VCL, VSL, VAP, LIN et la SRT pendant le non-saison après 24h de conservation, alors que le WOB a été significativement ($P < 0,05$) affecté par l'âge pendant la saison à t0h et après 24h. La variation saisonnière a affecté significativement ($P < 0,05$) les variables VCL, VSL, VAP, LIN, l'intégrité de la membrane et la peroxydation lipidique chez les deux groupes d'âges à t0 et à t24h, mais seulement après 24h de conservation pour la SRT (Tableau 14).

Tableau 12 : Qualité des spermatozoïdes pendant le stockage dans le lait écrémé et dans le Tris jaune d'œuf à 5 °C chez les deux groupes de béliers d'âge différents

Groupes	Dilueurs	Durée (h)	MP (%)	HOST (%)	LPO
Groupe Mature	SM	0	74,16 ± 1,25 ^{aA}	77,28 ± 0,56 ^{aA}	0,87 ± 0,02 ^{cA}
		8	63,07 ± 1,39 ^{bA}	71,12 ± 0,51 ^{bA}	1,31 ± 0,03 ^{bB}
		24	63,50 ± 0,43 ^{bA}	68,16 ± 0,70 ^{cA}	2,28 ± 0,03 ^{aA}
	TEY	0	65,71 ± 1,48 ^{aB}	75,83 ± 0,60 ^{aB}	0,79 ± 0,02 ^{cB}
		8	47,64 ± 0,83 ^{bB}	71,00 ± 0,58 ^{bB}	1,49 ± 0,02 ^{bA}
		24	44,07 ± 1,56 ^{bB}	66,16 ± 0,70 ^{cB}	2,11 ± 0,03 ^{aB}
Groupe Agé	SM	0	63,66 ± 1,32 ^{aA}	73,33 ± 0,60 ^{aA}	1,08 ± 0,02 ^{cA}
		8	53,00 ± 1,69 ^{bA}	68,57 ± 0,72 ^{bA}	1,60 ± 0,02 ^{bB}
		24	46,33 ± 1,05 ^{cA}	65,50 ± 0,76 ^{cA}	2,82 ± 0,07 ^{aA}
	TEY	0	53,21 ± 2,15 ^{aB}	72,50 ± 0,76 ^{aA}	0,93 ± 0,02 ^{cB}
		8	41,25 ± 1,48 ^{bB}	65,50 ± 0,70 ^{bB}	1,91 ± 0,03 ^{bA}
		24	28,58 ± 1,35 ^{cB}	57,16 ± 0,79 ^{cB}	2,52 ± 0,03 ^{aB}

*Les valeurs sont exprimées en (moyenne ± ESM).

*Différents exposants (a, b, c) dans la même colonne indiquent un effet significatif de la durée de stockage dans chaque dilueur (P <0,05).

*Différents exposants (A, B) dans la même rangée indiquent un effet significatif de dilueur dans chaque point temporel (P <0,05).

***SM** = Lait écrémé de vache. **TEY**=Tris jaune d'œuf.

* **MP** : mobilité progressive, **HOST** : l'intégrité de la membrane, **LPO** : peroxydation lipidique exprimée en nmoles de TBARS / 10⁸ spermatozoïdes.

Tableau 13 : Viabilité des spermatozoïdes (VIAB%) pendant le stockage à 5 °C

Dilueurs	Lait écrémé			Tris jaunes d'œuf		
	0 h	8 h	24 h	0 h	8 h	24 h
VIAB (%)	91,12±0,79 ^{aA}	88,4±1,35 ^{abB}	86,25±1,10 ^{bB}	92,33±0,39 ^{aA}	92,16±0,68 ^{aA}	91,91±0,53 ^{aA}

VIAB% : Le pourcentage de viabilité. Les valeurs sont exprimées en (moyenne ± ESM).

Différents exposants (a, b, c) indiquent un effet significatif du temps dans chaque dilueur (P <0,05).

Différents exposants (A, B) indiquent un effet significatif du dilueurs à différentes périodes de conservation (P <0,05).

Tableau 14 : Effet de la saison sur les formes de la mobilité, l'intégrité de la membrane et la peroxydation lipidique chez les deux groupes de bélier de différent âge

	Groupes	Temps (h)	VCL	VSL	VAP	LIN	SRT	WOB	HOST	LPO
Saison	Groupe Agé	0	220 ± 4,8 ^{aA}	122±2,8 ^{aA}	149±2,8 ^{aA}	55±0,5 ^{aA}	81,6±0,5 ^{aA}	67,2±0,5 ^{aB}	84,1±0,4 ^{aB}	1,18±0,01 ^{bA}
		24	175 ± 3,4 ^{aA}	92 ± 1,7 ^{aA}	117±2,8 ^{aA}	52±0,2 ^{aA}	78±0,5 ^{bA}	66,5±0,4 ^{aB}	66,3±0,6 ^{aB}	2,94±0,02 ^{bA}
	Groupe Mature	0	224 ± 4,9 ^{aA}	126 ± 2,8 ^{aA}	155±3,3 ^{aA}	56,2±0,5 ^{aA}	81,2±0,4 ^{aA}	69,1±0,6 ^{aA}	89,3±0,5 ^{aA}	1,09±0,01 ^{bB}
		24	181 ± 3,4 ^{aA}	95 ± 1,8 ^{aA}	122±2,5 ^{aA}	52,3±0,2 ^{aA}	77,5±0,2 ^{bA}	67,8±0,2 ^{aA}	73,2±0,5 ^{aA}	2,46±0,01 ^{bB}
non-Saison	Groupe Agé	0	206 ± 3,6 ^{bA}	109 ± 2,8 ^{bA}	133±3,3 ^{bA}	53±0,5 ^{bA}	81,8±0,4 ^{aA}	64,1±0,7 ^{bA}	73,5±0,6 ^{bB}	1,31±0,02 ^{aA}
		24	86,61 ± 1,2 ^{bB}	77 ± 1,9 ^{bB}	97±2,3 ^{bB}	50,8±0,2 ^{bB}	79±0,3 ^{aB}	64±0,2 ^{bA}	60,4±0,5 ^{bB}	3,46±0,01 ^{aA}
	Groupe Mature	0	213 ± 4,3 ^{bA}	113 ± 4,9 ^{bA}	136±3,3 ^{bA}	52,7±0,2 ^{bA}	81,2±0,4 ^{aA}	64,6±0,4 ^{bA}	85,2±0,4 ^{bA}	1,27±0,02 ^{aB}
		24	158 ± 4,1 ^{bA}	82 ± 2,2 ^{bA}	102±2,6 ^{bA}	51,7±0,3 ^{bA}	80,2±0,3 ^{aA}	64±0,3 ^{bA}	62,3±0,3 ^{bA}	2,83±0,01 ^{aB}

Différents exposants (a, b) indiquent un effet significatif de la saison (P <0,05). Différents exposants (A, B) indiquent un effet significatif de l'âge (P <0,05).

VSL : Vitesse linéaire (en µm/s) ; VCL : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; VAP : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; LIN : Linéarité de la trajectoire (VSL*100 / VCL) ; SRT : Rectitude (VSL*100/VAP) ; WOB : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP*100/VCL) ; HOST : l'intégrité de la membrane, LPO : peroxydation lipidique exprimée en nmoles de TBARS / 10⁸ spermatozoïdes.

II. Discussion

Les effets de la saison et de l'âge sur les caractéristiques de reproduction ont déjà été signalés pour plusieurs races de bélier (Kafi et al., 2004 ; Zamiri et Khodaei, 2005 ; Perumal, 2014 ; Benmoula et al., 2017). Cependant, cette étude est la première à rapporter les effets collectifs de l'âge et de la variation saisonnière sur le SC, la qualité du sperme, les modifications de certains composés du plasma séminal et le stockage du sperme chez la race Boujaâd sous dans un climat semi-aride.

Les saisons ont affecté de manière significative tous les paramètres de qualité du sperme et le SC des béliers Boujaâd, alors que l'âge n'a eu aucun effet sur la concentration et le volume du sperme. L'interaction entre l'âge et la saison n'a affecté que le volume d'éjaculat, la motilité massale, la motilité totale et le pourcentage d'anomalies. Cependant, la circonférence scrotale et la viabilité ont suivi les mêmes tendances chez les deux groupes d'âge. La taille des testicules est un caractère hautement héréditaire et est considérée comme un indice supérieur de la production de sperme chez les béliers (Toe et al., 2000). Pour les béliers Boujaâd, la SC a été significativement liée à la qualité de la semence fraîche. En outre, les variations saisonnières de la circonférence testiculaire sont similaires à celles enregistrées dans les races Pampinta-Corriedale et Ouled Djellal, à des latitudes respectives de 32,3 ° N et 37 ° N (Aller et al., 2012 ; Allaoui et al., 2014). Pour les béliers Boujaâd, les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en été et ont été maintenues en automne et les valeurs les plus faibles ont été enregistrées en hiver, avec une légère augmentation observée au printemps. Cette constatation est une réponse normale liée à la sécrétion de gonadotrophines qui augmente avec la diminution de la durée du jour (Lindsay et al., 1984).

Cependant, la SC des béliers plus âgés était plus élevée que celle enregistrée chez le groupe mature, ce qui est en accord avec les résultats rapportés précédemment par Al-kawmani et al. (2014) chez la race Najdi. En effet, les changements de la circonférence scrotale étaient plus importants chez les béliers plus âgés (8,48%) que chez les béliers matures (7,53%), ce qui pourrait être dû à une diminution de la sensibilité à la testostérone avec l'âge, à une réduction de la production de testostérone ou à une diminution de la sensibilité des cellules de Leydig à LH à un âge avancé (Chen et al., 1994).

Le volume de l'éjaculat, la concentration de sperme et la viabilité avaient une tendance à être influencés par la saison. Les valeurs numériques de ces paramètres étaient les plus basses en hiver. Des résultats similaires ont été rapportés par Azawi et Ismaeel. (2012) chez les béliers Awassi.

Aucun effet significatif concernant le volume d'éjaculat, la concentration en spermatozoïdes et le pourcentage de viabilité n'a été observé entre les deux groupes, quelle que soit la saison.

Bien que les béliers plus âgés aient une SC plus important, aucune différence significative entre les deux groupes n'a été enregistrée. Ces résultats sont en accord avec Tabbaa et al. (2006) sur les béliers Awassi, qui ont rapporté une activité de production de sperme plus élevée dans le groupe mature. D'autre part, la mobilité massale des spermatozoïdes est associée à la fertilité chez le mouton et affecte les résultats de l'IA (David et al., 2015).

Dans cette étude, la variation saisonnière de la mobilité massale (MM) et mobilité individuelle (MI) a été observée dans les deux groupes d'âge, les meilleurs résultats étant obtenus en été et au printemps chez les béliers matures. Les plus grandes valeurs de la MI ont été obtenues au printemps, en été et en automne. Dans le cas des vieux béliers, les plus grandes valeurs de la MI et de MM ont été enregistrées en été, avec une différence significative par rapport aux autres saisons. Cette constatation est en accord avec celle enregistrée chez les béliers à queue grasse iranienne (Zamiri et al., 2010) et chez les béliers Karakul (Kafi et al., 2004). Dans le même sens, le pourcentage d'anomalie (ABN%) a été également influencé par les variations saisonnières. Les valeurs les plus élevées en (ABN%) ont été observées en hiver chez les béliers matures. Des résultats similaires ont été rapportés par Zamiri et al. (2010), Sarlos et al. (2013) et Pourseif et al. (2013) respectivement chez les béliers à queue grasse iranienne, les béliers Racka et certains béliers croisée (Baluchi × Moghani et Arkharmerino × Moghani). Cependant, ce pourcentage était plus élevé chez le groupe âgé que chez le groupe mature, ce qui indique que les béliers matures présentent une qualité de production de sperme qui est maintenue plus longtemps au cours de l'année par rapport aux béliers âgés. Cette constatation était en accord avec celle enregistrée chez les béliers zoulous (Chella et al., 2017). De nos jours, les paramètres mentionnés ci-dessus (circonférence scrotale et caractéristiques du sperme) ne suffisent pas pour évaluer la semence dans la pratique quotidienne de l'insémination artificielle commerciale (Gündogan et Serteser, 2005).

Pour cette raison, l'analyse biochimique du plasma séminale est également utilisée pour l'évaluation du sperme. Des rapports antérieurs (Gündogan, 2006 ; Dogan et al., 2009) ont montré que les variations saisonnières pouvaient également affecter les constituants du plasma séminale. Dans la présente étude, les concentrations de protéines totales, de lipides et de cholestérol du plasma séminale ont été significativement influencées par la saison, l'âge et leurs interactions et présentaient une forte corrélation avec la viabilité, la morphologie et la mobilité du sperme à l'état frais. Des résultats similaires ont suggéré qu'elles pourraient être influencées par la saison, la race et l'âge (Asadpour, 2012).

Nos résultats confirment les résultats présentés par Almadaly et al. (2016) sur la protection des spermatozoïdes par les protéines du PS pendant l'éjaculation et que sa faible concentration est associée à une mauvaise qualité du sperme ainsi qu'à une réduction du pouvoir tampon (Mahsud et al., 2013). Cette teneur est hautement corrélée positivement avec toutes les caractéristiques du sperme chez les béliers Barki (Mahsud et al., 2013). Récemment, Carvajal-Serna et al. (2018) ont trouvé une relation entre l'activité des enzymes antioxydantes et les protéines du PS avec la qualité du sperme. En plus, les protéines RSVP14 et RSVP20 de la famille des BSPs augmentent la résistance des spermatozoïdes de bélier au choc froid (Barrios et al., 2005), d'autres stabilisent la membrane des spermatozoïdes, réduisent les dommages dus au stress (Colás et al., 2009 ; Agarwal et al., 2014c) et augmentent la fertilité des Spz (Jodar et al., 2017 ; Somashekar et al., 2017).

Concernant les lipides et le cholestérol, il a été démontré qu'ils ont une importance particulière dans la structure et le fonctionnement de la membrane plasmique des spermatozoïdes (Cross, 1998). Comme ils pourraient également jouer un rôle important dans la structure des spermatozoïdes, le métabolisme, la capacitation et la fécondation (Hafez, 1987). Cependant, plusieurs travaux ont montré que les variations saisonnières des concentrations de lipides totaux et de cholestérol dans les fluides séminaux sont associées à une réduction de la mobilité chez les bovins, (Argov et al., 2007) et les béliers (Gündogan et Elitok, 2004). De plus, la concentration en cholestérol a été associée à la qualité du sperme (Haila et Tulsiani, 2009). De même, il a été rapporté qu'une diminution de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes était associée à une diminution des lipides du plasma séminal (Taha et al., 2000).

Nos résultats ont montré que les lipides et le cholestérol totaux sont affectés par l'âge, sans aucun effet saisonnier de ces paramètres chez les béliers plus âgés. En revanche, le plasma séminal du groupe mature, présente une diminution significative de lipide et du cholestérol totaux en hiver. Tous les paramètres biochimiques mesurés étaient plus élevés chez les béliers matures en comparaison avec les béliers âgés, confirmé par les travaux de (Fraser et al., 2016). La différence de concentration entre les deux groupes d'âges pourrait être due à une diminution de l'activité des glandes sexuelles accessoires avec l'âge avancé (Elzanaty, 2007 ; Rodrigues et al., 2013).

Concernant la conservation à l'état liquide, la présente étude est cohérente avec les rapports précédents selon lesquels, les paramètres de qualité du sperme diminuent de manière significative avec la durée de conservation (De Paz et al., 2010) et indépendamment des conditions de stockage à savoir le type de dilueur, le taux de dilution et la température (López-Sáez et al., 2000).

Cela pourrait être dû principalement au stress oxydatif extracellulaire (Hong et al., 2010). Cependant, nos résultats suggèrent que l'âge et les variations saisonnières affectent la mobilité des spermatozoïdes conservés dans le lait écrémé (SM). De plus, le sperme des béliers matures présente une meilleure résistance au refroidissement et à la conservation dans les deux dilueurs les plus courants (Lait écrémé et Tris jaune d'œuf). Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans cet effet d'âge sur la qualité après stockage, y compris la meilleure qualité initiale du sperme chez les béliers matures par rapport aux béliers plus âgés (Hassan et al., 2009 ; Mahmood et al., 2014), ou à une augmentation du stress oxydatif dans les tissus des glandes accessoires (Jara et al., 2004). En outre, cela peut être également expliqué par la diminution de la concentration des protéines, lipides et cholestérol du plasma séminal chez le groupe âgé (Caballero et al., 2012). Ce qui favorise des graves dommages d'ADN des spermatozoïdes qui augmentent significativement avec l'âge, comme l'a été démontré chez l'homme (Vagnini et al., 2007 ; Schmid et al., 2007). De plus, il pourrait probablement être lié à la qualité du plasma séminal qui est en relation avec la stabilité de la membrane des spermatozoïdes grâce à ses effets protecteurs contre les dommages causés par la forte dilution, le stockage et le stress oxydatif (Leahy et al., 2010). De même, le sperme stocké dans le Lait écrémé de vache (SM) a montré une meilleure mobilité et une meilleure intégrité de la membrane que le sperme stocké dans Tris jaune d'œuf.

Ansi, le stockage de la semence dans Tris jaune d'œuf (TEY) avait moins de peroxydation lipidique. Ceci est en accord avec le résultat de Tekin et Daşkin. (2016), qui ont indiqué que la mobilité des spermatozoïdes de bélier était meilleure dans le SM que dans le TEY. Une étude antérieure dans notre laboratoire a montré une supériorité de TEY sur SM pour la préservation de la semence de béliers Boujaâd à l'état liquide à 5 °C (Allai et al., 2015). Le TEY semble offrir une meilleure viabilité et une meilleure protection contre la peroxydation lipidique, comme le suggèrent Quan et al. (2016). Cela pourrait être expliqué par la différence du mécanisme de protection de TEY en comparaison avec SM pendant le stockage. Les micelles de caséine SM inhibent la liaison et empêchent les effets indésirables des protéines BSP « Binder of Sperm » sur la membrane des spermatozoïdes tout en maintenant la motilité et la viabilité des spermatozoïdes pendant le stockage (Bergeron et al., 2007). De plus, cette fraction protéique, peut agir comme tampon contre les changements de pH et comme agent de chélation contre les métaux lourds (Salamon et Maxwell, 2000). Alors que, les lipoprotéines de basse densité (LDL) du jaune d'œuf offrent une protection des spermatozoïdes (Amirat et al., 2004) contre les effets néfastes des protéines BSP pendant le stockage (Bergeron et al., 2004), en stabilisant la membrane (MacDonald et Foulkes, 1981) par la formation d'un film protecteur sur la surface des spermatozoïdes (Quinn et al., 1980).

Comme ils assurent le remplacement des phospholipides membranaires des spermatozoïdes perdus ou endommagés durant la conservation (Graham et Foote, 1987).

Des études ont montré une corrélation entre les paramètres de la mobilité CASA et la capacité de fertilisation des éjaculats (Broekhuijse et al., 2012). Nos résultats ont montré une diminution significative de toutes les formes de vitesse ainsi que l'intégrité de la membrane et la peroxydation lipidique pendant la contre-saison chez les deux groupes de béliers mature et âgé. De plus, les formes de vitesses (VCL, VAP et VSL) ainsi que LIN et STR étaient corrélées avec une meilleure résistance à la conservation liquide pour le groupe de béliers matures pendant les deux saisons par rapport aux béliers âgés. Cela est en accord avec (Lange-Consiglio et al., 2013). De même, le VAP est un paramètre nécessaire pour le sperme à des fins d'IA et qui est le seul paramètre du CASA qui montrait une relation positive avec la fertilité. Une relation entre VSL et la fertilité a déjà été mise en évidence chez le verrat (Holt et al., 1997), le coq (McLean et al., 1997), le dindon (King et al., 2000) et l'homme (Liu et al., 1991). L'ALH est nécessaire à la pénétration de la zone pellucide (Gadea, 2005), il devrait être faible pour un sperme destiné à l'IA (Leahy et Gadella, 2011). En plus une relation positive entre le pourcentage de cellules mobiles et des valeurs de vitesse (VCL, VAP et VSL) ainsi que LIN et STR élevé, et une faible PLO et un HOST élevé a été signalé par la présente étude. Cela suggère que le sperme de béliers mature présente une fertilité élevée en comparaison avec celui de béliers âgés. Cependant, des résultats similaires ont été enregistrés par Vyt et al. (2008) et Holt et al. (1997), qui ont révélé des relations entre les paramètres de base (VAP, VSL, VCL, ALH et BCF) et la fertilité, alors que d'autres ont trouvé des corrélations positive, entre la mobilité progressive, la VCL et BCF avec le taux de mise bas et entre la VAP, VSL et ALH avec la fertilité (Broekhuijse et al., 2011). Il est évident dans la présente étude que les spermatozoïdes provenant de béliers matures conservent une meilleure qualité et viabilité pendant le stockage liquides, par rapport aux spermatozoïdes de béliers plus âgés, dans les deux types de dilueur utilisés et pendant les différentes saisons.

Dans cette étude, il a été démontré statistiquement que la mobilité du sperme conservé présentait une forte corrélation avec les paramètres biochimiques chez le bélier. Cela confirme les résultats enregistrés par Benmoula et al. (2017) pour la race INRA 180, ce qui suggère que la qualité du plasma séminal peut être responsable de la résistance saisonnière des spermatozoïdes pendant le stockage liquides. Des études plus approfondies sur les aspects moléculaires de la modification d'ADN et de l'apoptose seraient utiles pour déterminer le mécanisme de l'effet de l'âge sur la qualité du sperme et sa capacité à résister à la conservation.

La diminution de la mobilité enregistrée après 24 h de stockage à l'état liquide n'a pas affecté la possibilité d'utiliser la semence conservée dans la technologie de la reproduction assistée tel que les programmes d'IA durant toute l'année.

Notamment, des études suggèrent que la mobilité progressive est un paramètre potentiel et prédictif de la fertilisation des spermatozoïdes (Herrara et al., 2005 ; Li et al., 2016).

Cela implique la possibilité de prévoir un programme de fertilité réussi pour Boujaâd en utilisant de l'IA avec de la semence stockée à l'état liquide.

III. Conclusion

Cette étude démontre que chez les béliers de la race Boujaâd, la SC, la composition du plasma séminal, la qualité du sperme et sa conservation à l'état liquide (à 15 °C), changent avec la saison, et ils sont négativement affectés par l'âge avancé à l'exception de la circonférence scrotale, le volume et la concentration des spermatozoïdes.

L'automne et l'été sont les saisons présentant la meilleure qualité du sperme, en particulier chez les béliers matures. De même, une forte corrélation positive entre la composition biochimique du plasma séminale à savoir les teneurs en protéine totale, lipides totaux et cholestérol et les différents types de mobilité des spermatozoïdes conservé chez le bélier de la race Boujaâd. En outre, il a été confirmé que les deux dilueurs (Lait écrémé de vache et le Tris jaune d'œuf) offrent une protection aux spermatozoïdes pendant la conservation liquide. Notamment, le Tris jaune d'œuf protège mieux contre le stress oxydatif alors que le Lait écrémé de vache conserve d'avantage la mobilité progressive et la linéarité des spermatozoïdes. Malgré l'effet de la saison, le sperme des deux groupes d'âge de bélier Boujaâd peut être stockée à 15 °C à des fins d'insémination artificielle tout au long de l'année. Des essais d'IA sont donc nécessaires pour déterminer si ces différences ont un effet sur la fertilité ou non.

Souvent, les éleveurs ont besoin d'utiliser des béliers plus âgés de très haute qualité génétique dans des programmes d'IA. L'âge avancé des béliers affecte négativement la qualité initiale du sperme et la composition biochimique du plasma séminale, ce qui diminuent leur capacité de résister au refroidissement et à la conservation. En outre, une amélioration du pouvoir antioxydant du Lait écrémé de vache et une amélioration de la motilité progressive et de la linéarité des spermatozoïdes conservés dans le Tris jaune d'œuf sont nécessaires. Dans le chapitre suivant nous avons testé l'addition d'extrait aqueux du safran (EAS) aux dilueurs et huile d'olive dans l'alimentation des béliers comme antioxydant naturels sur la qualité de production et/ou la conservation du sperme, en particulier chez les béliers plus âgés.

Chapitre 2. Amélioration de la conservation du sperme par l'addition d'extrait aqueux de safran (EAS) aux dilueurs (SM et TEY) chez le bélier Boujaâd

D'après les résultats du premier chapitre, il est donc nécessaire d'améliorer la résistance des spermatozoïdes à la conservation. Ceci en particulier chez le groupe de béliers âgés, qui présentent une faible qualité initiale du sperme et une faible résistance à la conservation par apport au groupe mature. Pour cela, grâce à ses propriétés antioxydantes, l'extrait aqueux du safran pourrait protéger le sperme contre la peroxydation lipidique. Dans ce deuxième chapitre, nous allons étudier l'effet d'addition d'EAS dans les deux dilueurs de routine à savoir le Lait écrémé de vache (SM) de vache et le Tris jaune d'œuf (TEY), sur la conservation du sperme de deux groupes de béliers Boujaâd de différents âges : Mature 3 ans et Âgé 6 ans.

I. Résultats

I.1. Caractérisation de l'EAS

1. La détermination de la qualité du safran

Le tableau 15 présente les valeurs concernant le pourcentage d'humidité et de la Crocine ainsi, la saveur le pouvoir aromatique et colorant de l'échantillon du safran.

Tableau 15. Détermination de l'humidité, la saveur, le pouvoir aromatique et colorant, et le pourcentage en Crocine de l'extrait aqueux de Safran

$E^{1\%}_{1\text{cm}}$ à ($\lambda 250$)	$E^{1\%}_{1\text{cm}}$ à ($\lambda 320$)	$E^{1\%}_{1\text{cm}}$ à ($\lambda 435$)	Crocine %	Humidité %
63,7	36,9	175,1	9,604	11,15

- $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ à 250 nm : Saveur amère (exprimé en Picrocrocine)
- $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ à 320 nm : Pouvoir aromatique (exprimé en Safranal)
- $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ à 435 nm : Pouvoir colorant (exprimé en Crocine)

2. Spectre d'absorption UV-Vis caractéristique d'extrait aqueux de safran

Le spectre d'absorbance (Figure 22) montre la présence de trois pics correspondant aux trois molécules principales du Safran, avec une absorbance maximale à la longueur d'onde de 435 nm spécifique à la Crocine, les deux autres piques d'absorbance correspondent au Safranal et à la Picrocrocine à 320 nm et 250 nm, respectivement. Nos résultats sont en accord avec ceux du comité technique ISO/TC 34-2010. De petites variations entre le spectre obtenu et celui de la littérature, peuvent être justifier par l'effet du pH de l'eau utilisée (Alexandra Caudron, 2004).

En effet, la valeur de la longueur d'onde maximale augmente avec l'acidité ou par l'effet de la température qui provoque la délocalisation des liaisons C-O et C=C conjuguées (Bloch et Errera, 1935).

Ces résultats montrent que le safran analysé est de bonne qualité, car il a un goût fort, arôme acceptable et une couleur remarquable. Il a été classé en catégorie II selon la norme ISO/TS (2003). Notre résultat est en accord avec celui présenté par Garcin et Carral. (2007) effectués sur cinq échantillons de la même région de Taliouine en 2003.

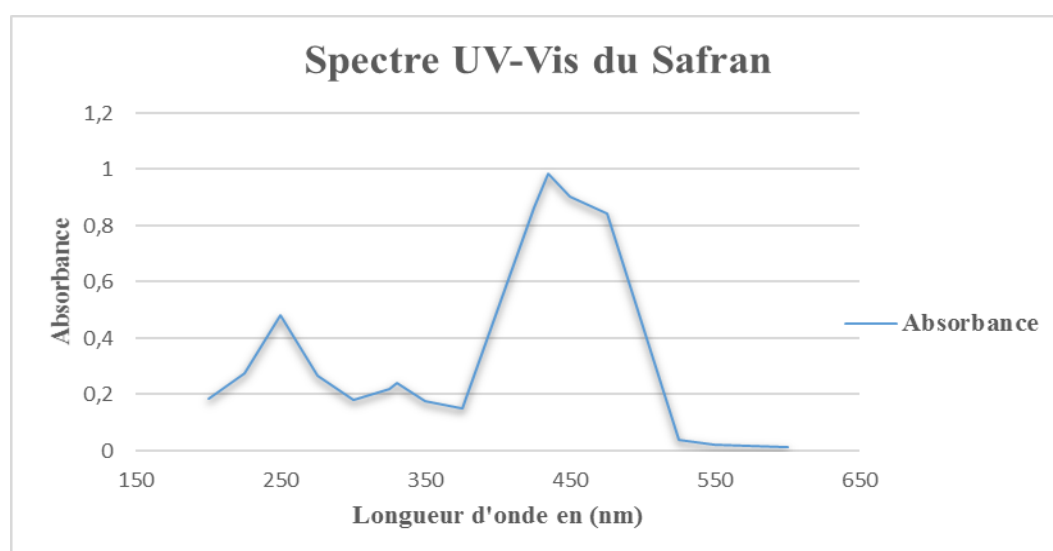


Figure 21 : Spectre d'absorption UV- Vis caractéristique d'extrait aqueux de safran

3. La teneur en polyphénols et flavonoïdes

De plus, notre échantillon présente une teneur très importante en polyphénols et flavonoïdes avec des valeurs de 226,44 $\mu\text{gEG/gE}$ et 69,58 $\mu\text{gEQ/gE}$ respectivement (Tableau 16). Plusieurs études ont montré des teneurs élevées en polyphénols et flavonoïdes dans différentes parties de *Crocus sativus. L* (Karimi et al., 2010 ; Mir et al., 2016 ; Sánchez-Vioque et al., 2016). Cependant, des résultats variables ont été décrits et ont été souvent expliqués par des différences liées au climat, la qualité du sol (Ebrahimi et al., 2008) ainsi qu'aux méthodes d'extraction (solvant, température et durée) (Abdi et al., 2011).

Tableau 16 : La teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans l'EAS

Polyphénol ($\mu\text{g EG/g E}$)	226,44 \pm 5,1
Flavonoïde ($\mu\text{g EQ/g E}$)	69,58 \pm 1,3

II.2. L'effet de la concentration de l'extrait aqueux de safran (EAS)

1. Conservation du sperme à 15 °C dans le Lait écrémé (SM)

L'effet de la concentration de EAS dans le SM sur la motilité du sperme de bélier conservé à 15°C est présenté dans la Figure 23 (a, b). Les résultats ont montré une amélioration significative de la mobilité totale (MT) après l'ajout de 40 µg et de 60 µg de EAS avec ($P<0,05$) et ($P<0,01$) respectivement, et seulement après l'ajout de 60µg ($P<0,05$) pour la mobilité progressive (MP) à T0h. En parallèle, un effet significativement négatif a été enregistré après l'ajout de 100µg sur la MP ($P<0,05$). Après 24h de conservation, une amélioration significative de la MT a été enregistrée suite à l'ajout de 20 µg, 40 µg ($P<0,05$) et 60µg ($P<0,01$) d'EAS. De même, une amélioration de la MP a été notée après l'ajout de 40 µg et 60µg avec ($P<0,05$) et ($P<0,001$) respectivement. Par contre, un effet significativement négatif a été enregistré après l'ajout de 100µg d'EAS sur la MT ($P<0,05$) et la MP ($P<0,01$) en comparaison toujours avec le témoin.

2. Conservation du sperme à 5 °C dans le Tris jaune d'œuf (TEY)

L'effet de la concentration de EAS dans le TEY sur la motilité du sperme de bélier conservé à 5°C est présenté dans la Figure 23 (c, d).

AT0h, les résultats ont montré une amélioration significative de la MT après l'ajout de 40 µg de EAS ($P<0,05$), contre une amélioration à partir de l'ajout de 10 µg ($P<0,05$) et 20 µg, 40 µg et 60µg ($P<0,001$) pour la MP. En parallèle, un effet significativement négatif a été enregistré après l'ajout de 100µg sur la MT ($P<0,05$) et la MP ($P<0,001$).

Après 24h de conservation, une amélioration significative de la MT a été enregistrée suite à l'ajout de 60µg ($P<0,05$) d'EAS, contre une amélioration de la MP après l'ajout de 10, 20, 40, 60 et 100µg avec ($P<0,001$). Cependant, un effet significativement négatif a été enregistré après l'ajout de 100µg d'EAS sur la MT ($P<0,001$) en comparaison toujours avec le témoin.

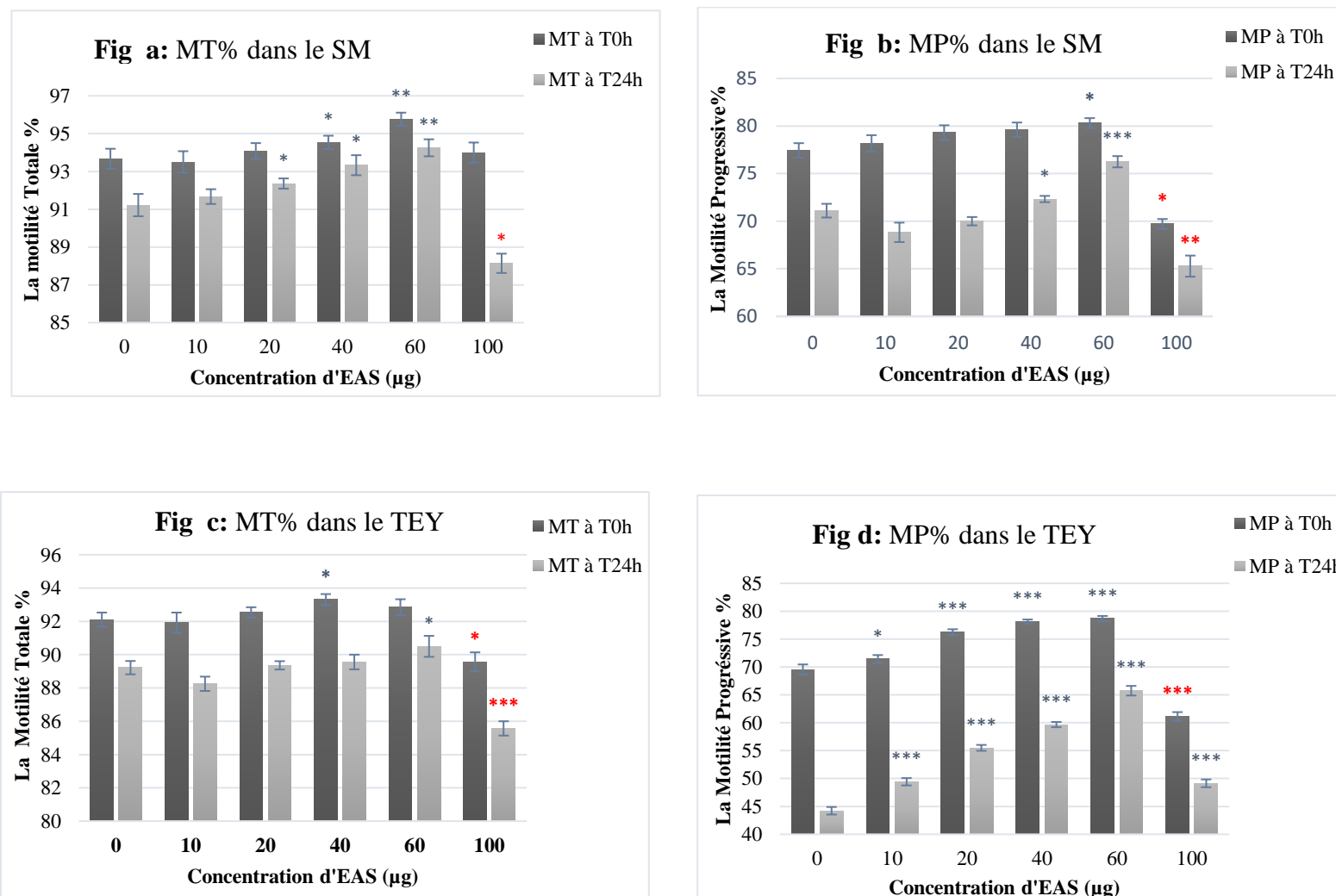


Figure 22 : Effet de la concentration en EAS sur la mobilité totale (MT) & progressive (MP) dans le SM : fig. a et b et dans le TEY : fig. c et d

* Significatif à $P < 0,05$. ** significatif à $P < 0,01$ et. *** significatif à $P < 0,001$ en comparaison par apport au témoin.

III.3. Effet de l'EAS et de l'âge, sur la conservation du sperme à l'état liquide chez le bélier

1. Conservation du sperme dans le SM à 15 °C

Les résultats concernant l'effet de l'ajout de EAS dans le SM, ainsi que l'âge avancé sur la conservation du sperme du bélier à 15°C ont été présentés dans les tableaux 17 et 18. D'abord, au début, les deux groupes d'âge ont eu la même tendance pour les variables MP, VCL, SRT, VIAB, HOST et ALH (Tableau 17). Cependant, l'ajout d'EAS a diminué la VCL et a amélioré d'avantage la MT, VSL, VAP, BCF et WOB chez le groupe âgé par rapport au groupe mature, contrairement au LIN et MDA (Tableau 18). Après 24h de conservation, les deux groupes d'âge ont montré la même tendance pour la MP, SRT, WOB et l'ALH, par contre le groupe âgé a montré une amélioration plus importante par rapport au groupe mature pour la VAP, LIN, SRT, WOB, BCF, VIAB, HOST et MDA (Tableau 18). De même, un effet significatif d'âge a été enregistré pour la MP et HOST ($P<0,001$), aussi pour la MT et la MDA ($P<0,01$) et pour la VSL, VAP, LIN, SRT et VIAB ($P<0,05$) directement après la dilution du sperme. Par contre, après 24h de conservation, l'âge avancé a affecté significativement l'HOST ($P<0,001$), la MP, VCL, VSL, VAP, VIAB et MDA ($P<0,01$) et la MT, SRT, LIN et BCF ($P<0,05$) (Tableau 17).

Pour la conservation dans SM, à 0h de stockage, les résultats ont montré un effet significatif de l'ajout d'EAS dans le SM sur la MP, MT, VAP ($P<0,01$), ainsi sur la VSL, LIN, SRT, WOB et la MDA ($P<0,05$), alors qu'il n'a pas d'effet sur la VCL, ALH, BCF, VIAB et l'HOST. Cependant, après 24 heures de conservation, un effet significatif a été enregistré pour la VIAB, l'HOST et la MDA ($P<0,001$), ainsi pour la MP, MT, VCL, VAP, VSL, LIN ($P<0,01$) et pour la SRT, WOB et BCF ($P<0,05$) (Tableau 17).

Dans le SM seule, à 0h, un effet significatif d'âge a été enregistré pour la MT, la MP et l'HOST ($P<0,001$), la MDA ($P<0,01$), ainsi la VSL, VAP, VIAB et LIN ($P<0,05$), alors qu'il n'a pas d'effet sur la VCL, ALH, WOB, SRT et BCF. Après 24h de conservation, un effet d'âge a été enregistré pour VCL, l'HOST, MDA ($P<0,001$), pour la MT, MP, VSL, VAP et la VIAB ($P<0,01$), de même pour la LIN, SRT et WOB ($P<0,05$) et sans effet sur l'ALH et BCF.

Cependant, dans le SM supplémenté par l'EAS, à 0h de conservation, l'âge a significativement affecté la MP et l'HOST à ($P<0,001$), la MT et la MDA à ($P<0,01$), ainsi, la VSL, la VCL, la LIN, la SRT et la VIAB à ($P<0,05$). Après 24h de conservation, un effet d'âge a été enregistré pour la VCL, VSL et VAP à ($P<0,01$), ainsi la MT, MP, SRT, ALH, BCF, VIAB, HOST à ($P<0,05$), alors qu'il n'a pas effet sur la LIN, WOB et la MDA (Tableaux 17 et 18).

Tableau 17 : Le degré de signification concernant l'effet d'EAS, l'effet d'âge et la combinaison EAS * Age, à 0h et après 24 heures le stockage dans le SM à 15 °C

		MP	MT	VCL	VSL	VAP	LIN	SRT	WOB	ALH	BCF	VIAB	HOST	MDA
0h	Dilueur (SM+ EAS)	0,43 **	0,36 **	-0,17 ns	0,23 *	0,37 **	0,31 *	0,2 *	0,33 *	0,18 ns	-0,1 ns	-0,02 ns	0,13 ns	-0,22 *
	Age	-0,81 ***	-0,47 **	-0,19 ns	-0,34 *	-0,29 *	-0,23 *	-0,2 *	-0,18 ns	-0,08 ns	-0,01 ns	-0,21 *	-0,84 ***	0,59 **
	(SM+ EAS) * Age	0,12 ns	0,21 *	-0,08 ns	0,2 *	0,39 **	-0,2 *	-0,18 ns	0,22 *	0,05 ns	-0,33 *	0,02 ns	0,15 ns	-0,29 *
24h	Dilueur (SM+ EAS)	0,46 **	0,51 **	0,5 **	0,53 **	0,45 **	0,54 **	0,24 *	0,21 *	0,09 ns	-0,3 *	0,81 ***	0,88 ***	-0,94 ***
	Age	-0,45 **	-0,27 *	-0,59 **	-0,51 **	-0,5 **	-0,22 *	-0,2 *	0,12 ns	-0,07 ns	-0,26 *	-0,55 **	-0,79 ***	0,54 **
	(SM+ EAS) * Age	0,18 ns	0,21 *	-0,34 **	-0,37 **	0,26 *	0,22 *	-0,12 ns	0,04 ns	-0,11 ns	-0,29 *	0,58 **	0,85 ***	0,87 ***

* Significatif à P <0,05. ** significatif à P <0,01 et. *** significatif à P <0,001. ns : pas de signification P >0,05

Tableau 18 : Effet du SM supplémenté avec l'EAS (moyenne ± SEM) sur la conservation du sperme chez les deux groupes d'âge de bélier à 15 °C

	0h				24h			
	STM	STA	STMS	STAS	STM	STA	STMS	STAS
MT	94,2±0,4 ^{bx}	91,8±0,2 ^{cy}	95,8±0,2 ^{ax}	94±0,3 ^{by}	92,4±0,3 ^{cx}	91±0,3 ^{dy}	94,2±0,2 ^{ax}	93,1±0,3 ^{by}
MP	77,1±0,7 ^{bx}	73±0,2 ^{dy}	79,4±0,5 ^{ax}	75,7±0,5 ^{cy}	71,7±0,3 ^{cx}	70,6±0,3 ^{dy}	75,2±0,8 ^{ax}	74±0,2 ^{by}
VCL	215,3±0,3 ^{ax}	213,9±1,7 ^{abx}	214,2±1 ^{ax}	210±1,7 ^{by}	179,6±1,1 ^{bx}	172,7±1,7 ^{dy}	184,9±2,6 ^{ax}	176±1,3 ^{cy}
VSL	125,8±2,2 ^{bx}	121,9±0,8 ^{cy}	128,5±1,5 ^{ax}	124±1,5 ^{by}	109,2±1 ^{bex}	103,1±0,9 ^{dy}	114,1±1,4 ^{ax}	107,9±1 ^{cy}
VAP	153,7±1,4 ^{ax}	149,2±0,9 ^{cy}	155±1,7 ^{ax}	152±1,6 ^{ax}	133±1,4 ^{bx}	126,3±2,0 ^{cy}	137,4±1,6 ^{ax}	131,6±1,2 ^{by}
LIN	58,6±0,4 ^{cx}	57±0,6 ^{dy}	60±0,3 ^{ax}	59±0,3 ^{by}	60,8±0,4 ^{bx}	59,9±0,3 ^{cy}	61,7±0,2 ^{ax}	61,3±0,4 ^{abx}
SRT	81,6±0,4 ^{bx}	81,7±0,4 ^{bx}	82,8±0,2 ^{ax}	81,6±0,2 ^{by}	82,1±0,4 ^{bx}	81,6±0,2 ^{cy}	82,8±0,2 ^{ax}	82±0,3 ^{by}
WOB	71,2±0,9 ^{abx}	69,8±0,6 ^{bx}	72,7±0,3 ^{ax}	72,2±0,3 ^{ax}	74,1±0,4 ^{abx}	72,9±0,5 ^{cy}	74,1±0,3 ^{ax}	74,8±0,7 ^{ax}
ALH	2,77±0,1 ^{ax}	2,65±0,1 ^{ax}	2,91±0,1 ^{ax}	2,86±0,1 ^{ax}	2,3±0,2 ^{abx}	2,04±0,2 ^{bx}	2,44±0,1 ^{ax}	2,23±0,1 ^{by}
BCF	24,4±0,5 ^{abx}	25,1±0,4 ^{ax}	24,6±0,3 ^{abx}	23,8±0,3 ^{by}	24,3±0,8 ^{ax}	23,6±1 ^{ax}	23,5±0,9 ^{ax}	21,7±0,4 ^{by}
VIAB	96,7±0,2 ^{ax}	95,1±0,3 ^{by}	96,7±0,2 ^{ax}	95±0,3 ^{by}	93,7±0,2 ^{cx}	91±0,3 ^{dy}	95±0,2 ^{ax}	94,2±0,2 ^{by}
HOST	91,4±0,2 ^{ax}	87±0,4 ^{by}	91,7±0,2 ^{ax}	87,8±0,3 ^{by}	79,3±0,2 ^{cx}	76,5±0,2 ^{dy}	81,6±0,2 ^{ax}	80,8±0,2 ^{by}
MDA	1,66±0,05 ^{bx}	1,79±0,06 ^{cy}	1,54±0,05 ^{ax}	1,75±0,04 ^{by}	3,05±0,08 ^{bx}	3,55±0,07 ^{cy}	2,58±0,05 ^{ax}	2,66±0,06 ^{ax}

a,b : Différentes lettres dans les lignes indiquent un effet de groupe de traitement (P <0,05).

x, y. Différentes lettres dans les lignes indiquent un effet de groupe d'âge (P <0,05).

STM : sperme du bélier mature, STA : sperme du bélier âgé, STMS : sperme du bélier mature conservé à l'extrait de safran, STAS : sperme de l'ancien bélier témoin conservé à l'extrait de safran.

VSL : Vitesse linéaire (en µm/s) ; VCL : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; VAP : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; LIN : Linéarité de la trajectoire (VSL*100 / VCL) ; SRT : Rectitude (VSL*100/VAP) ; WOB : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP*100/VCL) ; BCF : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; ALH : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm).

2. Conservation du sperme à 5 °C dans le TEY

Les tableaux 19 et 20 présentent les résultats concernant l'effet de l'âge et de l'ajout d'EAS dans le TEY sur la conservation du sperme du bélier à 5°C. Le sperme des deux groupes d'âge a répondu de la même manière directement suite à l'ajout d'EAS dans le TEY pour la MT, LIN, WOB, ALH, BCF, VIAB, HOST et MDA. Par contre, la MP, la VSL et la VAP ont été positivement affecté par l'âge avancé et négativement pour la VCL et la SRT. Mais après 24h de conservation, les deux groupes d'âge ont suivi la même tendance pour l'ALH et BCF (Tableau 19). Cependant, l'ajout d'EAS au TEY a diminué directement l'effet âge pour la MP, WOB et la VCL contre une augmentation de cet effet pour la VSL, VAP, LIN et SRT, contre une réduction de l'effet âge enregistré pour la MP, la VCL, la VSL, la VAP, la LIN, la WOB, la VIAB, l'HOST et la MDA après 24h de conservation (Tableau 20). En plus, avant la conservation, un effet significativement positif de l'âge a été enregistré pour la VCL et la MDA ($P < 0,05$), et négatif pour la PM ($P < 0,001$), la MT, la VIAB et l'HOST ($P < 0,01$), ainsi pour la VSL, VAP, LIN, SRT, et WOB ($P < 0,05$). De même, après 24h de stockage, un effet significativement positif de l'âge a été enregistré pour la MDA ($P < 0,001$), et négatif pour la MP, la VAP, la VIAB et l'HOST ($P < 0,01$), ainsi pour la MT, la VCL, la VSL, la LIN, la SRT et la WOB ($P < 0,05$) (Tableau 19).

D'autre part, une amélioration significative a été observée directement après la dilution du sperme dans le TEY supplémenté d'EAS pour la VAP ($P < 0,001$), de même pour la MP, la VSL, LIN et WOB ($P < 0,01$), contre diminution de l'ALH et la MDA ($P < 0,01$), alors qu'il n'a pas eu d'effet sur la MT, la VCL, la SRT, la BCF, la VIAB et l'HOST. Mais après 24h de conservation, les résultats ont montré une amélioration significative suite à l'ajout d'EAS dans le TEY sur la MP, la SRT, l'HOST ($P < 0,001$), ainsi sur la VSL, VAP, LIN, VIAB ($P < 0,01$) et sur la MT, la VCL et la WOB ($P < 0,05$), contre une diminution des valeurs de l'ALH et la MDA ($P < 0,001$) et de BCF ($P < 0,05$) (Tableau 19).

Dans le TEY seule, à 0h, un effet significativement négatif de l'âge a été enregistré pour la MP à ($P < 0,001$), pour la VIAB, HOST et MT à ($P < 0,01$), ainsi pour la LIN et la WOB ($P < 0,05$), positive sur la VCL à ($P < 0,001$), ainsi sur l'ALH, la BCF et la MDA ($P < 0,05$) et sans effet sur la VSL, VAP et la SRT. Après 24h de conservation, on a enregistré une diminution significative des valeurs avec l'âge pour la VSL à ($P < 0,001$), de même pour la MP, VAP, LIN, SRT, VIAB et HOST à ($P < 0,01$), ainsi pour la MT et WOB à ($P < 0,05$), contre une augmentation pour la MDA à ($P < 0,01$), et sans variation significative pour la VCL, l'ALH et la BCF.

Dans de TEY supplémenté par l'EAS, à 0h de conservation, les résultats ont montré un effet significativement négatif de l'âge sur la VSL à (P<0,001), la MP, VAP, LIN, SRT, VIAB et HOST à (P<0,01), de même pour la MT, la VCL et la WOB à (P<0,05) et positif sur la MDA à (P<0,01) et la BCF à (P<0,05), alors qu'il n'a pas d'effet sur la ALH. Après 24h de conservation, un effet significativement négatif de l'âge a été enregistré pour la MT et la MP (P<0,01), la VSL, VAP, LIN, WOB, VIAB et l'HOST à (P<0,05) et positif sur la MDA à (P<0,05), alors qu'il n'a pas d'effet sur la VCL, SRT, ALH, et BCF (Tableaux 19 et 20).

Tableau 19 : Le degré de signification concernant l'effet d'EAS, de l'âge et la combinaison EAS * âge, pendant 24 heures de stockage dans le TEY à 5 °C

		MP	MT	VCL	VSL	VAP	LIN	SRT	WOB	ALH	BCF	VIAB	HOST	MDA
0h	Dilueur (TEY+ EAS)	0,67 **	-0,08 ns	-0,1 ns	0,61 **	0,91 ***	0,72 **	0,18 ns	0,69 **	-0,71 **	-0,08 ns	0,1 ns	0,15 ns	-0,74 **
	Age	-0,76 ***	-0,42 **	0,29 *	-0,37 *	-0,36 *	-0,25 *	-0,37 *	-0,4 *	0,18 ns	0,19 ns	-0,51 **	-0,62 **	0,37 *
	(SM+EAS) *Age	0,31 *	0,02 ns	-0,35 *	0,48 **	0,24 *	0,04 ns	-0,34 *	0,14 ns	0,08 ns	0,04 ns	0,09 ns	0,07 ns	0,01 ns
24h	Dilueur (TEY+ EAS)	0,97 ***	0,27 *	0,38 *	0,66 **	0,69 **	0,71 **	0,98 ***	0,37 *	-0,78 ***	-0,3 *	0,47 **	0,95 ***	-0,78 ***
	Age	-0,42 **	-0,35 *	-0,21 *	-0,27 *	-0,54 **	-0,25 *	-0,27 *	-0,33 *	-0,17 ns	0,19 ns	-0,45 **	-0,46 **	0,48 **
	(TEY+ EAS) *Age	0,27 *	0,21 *	0,28 *	0,24 *	2,1 *	0,22 *	0,2 *	0,23 *	0,01 ns	0,01 ns	0,32 *	0,35 *	0,65 **

* Significatif à P <0,05. ** significatif à P <0,01. *** significatif à P <0,001. ns : pas de signification P>0,05.

Tableau 20 : Effet du TEY supplémenté avec l'EAS (moyenne \pm SEM) sur la conservation du sperme chez les deux groupes d'âge de bélier à 5 °C

	0h				24h			
	STM	STA	STMS	STAS	STM	STA	STMS	STAS
MT	93,58\pm0,4^{ax}	91,84 \pm 0,8 ^{by}	93,33\pm0,3^{ax}	91,92 \pm 0,5 ^{by}	89,67\pm0,4^{bx}	86,33 \pm 0,4 ^{cy}	91,4\pm0,5^{ax}	87,43 \pm 0,4 ^{cy}
MP	76,75\pm0,9^{bx}	66,31 \pm 0,5 ^{dy}	79,5\pm0,4^{ax}	76,67 \pm 0,7 ^{cy}	46,8\pm0,3^{cx}	38,5 \pm 0,6 ^{dy}	66,73\pm0,8^{ax}	61,43 \pm 0,3 ^{by}
VCL	212,1 \pm 1,4 ^{dy}	225,3\pm1,7^{ax}	219,3\pm1,2^{bx}	216 \pm 1,8 ^{cy}	211,3 \pm 1,1 ^{bx}	211,2 \pm 1,7 ^{bx}	216,4 \pm 2,6 ^{ax}	213,1 \pm 1,3 ^{abx}
VSL	106,4 \pm 4,4 ^{bx}	106 \pm 0,9 ^{bx}	122\pm0,9^{ax}	110,2 \pm 1,4 ^{by}	71,75\pm1^{cx}	65,1 \pm 0,9 ^{dy}	87,1\pm1,4^{ax}	83,9 \pm 1 ^{by}
VAP	137,25 \pm 4,9 ^{cx}	134,75 \pm 2,6 ^{cx}	149,1\pm0,8^{ax}	143,1 \pm 2 ^{by}	112\pm1,4^{bx}	105,3 \pm 2,0 ^{cy}	118,4\pm1,6^{ax}	114 \pm 1,2 ^{by}
LIN	50\pm2^{bx}	47 \pm 0,4 ^{cy}	55,67\pm0,3^{ax}	51,92 \pm 0,8 ^{by}	34,4\pm0,5^{cx}	30,8 \pm 0,3 ^{dy}	40,2\pm0,2^{ax}	39,4 \pm 0,4 ^{by}
SRT	77,2 \pm 0,3 ^{bx}	78,6 \pm 1,5 ^{bx}	81,8\pm0,2^{ax}	77 \pm 0,5 ^{by}	65,4\pm0,4^{bx}	61,8 \pm 0,2 ^{cy}	73,5 \pm 0,2 ^{ax}	73,6 \pm 0,3 ^{ax}
WOB	64,7\pm2,1^{bx}	60 \pm 1,2 ^{cy}	68,08\pm0,3^{ax}	66,25 \pm 0,6 ^{by}	53,1\pm0,4^{bx}	49,9 \pm 0,5 ^{cy}	54,5\pm0,3^{ax}	53,4 \pm 0,7 ^{by}
ALH	3,25 \pm 0,22 ^{by}	3,83\pm0,17^{ax}	2,75 \pm 0,24 ^{bx}	3,23 \pm 0,45 ^{abx}	4,23 \pm 0,15 ^{ax}	4,04 \pm 0,2 ^{ax}	2,44 \pm 0,1 ^{bx}	2,3 \pm 0,08 ^{bx}
BCF	25,54 \pm 0,5 ^{by}	27,67\pm0,56^{ax}	25,33 \pm 0,3 ^{ay}	27,25\pm0,83^{ax}	23,3 \pm 0,8 ^{abx}	24,6 \pm 1 ^{ax}	21,5 \pm 0,9 ^{bx}	22,7 \pm 0,4 ^{bx}
VIAB	95,55\pm0,3^{bx}	93,8 \pm 0,2 ^{cy}	96,13\pm0,2^{ax}	93,9 \pm 0,2 ^{cy}	91,17\pm0,3^{bx}	88,18 \pm 0,3 ^{cy}	92,25\pm0,2^{ax}	91,38 \pm 0,3 ^{by}
HOST	85,58\pm0,3^{ax}	81,88 \pm 0,4 ^{by}	86,18\pm0,4^{ax}	82,27 \pm 0,3 ^{by}	67,17\pm0,5^{bx}	64,58 \pm 0,3 ^{cy}	74,92\pm0,4^{ax}	74,07 \pm 0,2 ^{by}
MDA	1,68\pm0,03^{bx}	1,8 \pm 0,04 ^{cy}	1,52\pm0,03^{ax}	1,63 \pm 0,04 ^{by}	2,58\pm0,08^{bx}	3,23 \pm 0,07 ^{cy}	1,73\pm0,05^{ax}	1,87 \pm 0,06 ^{by}

a,b : Différentes lettres dans les lignes indiquent un effet de groupe de traitement (P <0,05).

STM : sperme du bélier mature, **STA** : sperme du bélier âgé, **STMS** : sperme du bélier mature conservé à l'extrait de safran, **STAS** : sperme de l'ancien bélier témoin conservé à l'extrait de safran

VSL : Vitesse linéaire (en $\mu\text{m/s}$) ; **VCL** : Vitesse curvilinéaire (en $\mu\text{m/s}$) ; **VAP** : Vitesse de trajectoire moyenne (en $\mu\text{m/s}$) ; **LIN** : Linéarité de la trajectoire ($\text{VSL} \cdot 100 / \text{VCL}$) ; **SRT** : Rectitude ($\text{VSL} \cdot 100 / \text{VAP}$) ; **WOB** : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio ($\text{VAP} \cdot 100 / \text{VCL}$) ; **BCF** : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; **ALH** : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en μm).

II. Discussion

Pendant la conservation, des SPZ dans des niveaux plus élevés des ROS peuvent endommager les membranes cellulaires et l'ADN en réduisant la fertilité (Fraser et al., 2017). Par ailleurs ils peuvent conduire à l'apoptose (Agarwal et al., 2008). Le plasma séminal offre une certaine protection contre le stress oxydatif (Agarwal et al., 2014). Cependant, cette capacité devient insuffisante lors d'un stockage prolongé (Agarwal et al., 2006 ; Du Plessis et al., 2008). Devant cette situation l'utilisation d'antioxydants exogènes peut être une opportunité pour réduire l'effet des ROS et minimiser l'effet du choc thermique lors du refroidissement lent (Salamon et Maxwell, 2000).

Plusieurs travaux ont montré l'effet bénéfique des anti-oxydants dans la protection contre la peroxydation. En plus ils permettent d'améliorer la fluidité, la stabilité, la perméabilité, la production d'énergie, la motilité, la fertilité et l'intégrité de la membrane du sperme (Maia et al., 2009 ; Cohan et al., 2010 ; AminiPour et al., 2013). Dans ce sens, le safran ou ses composantes ont montré des effets bénéfiques pour améliorer la conservation du sperme chez l'homme stérile (Vaez et al., 2014 ; Asr Badr et al., 2017) le rat (Mardani et al., 2014) et le bovin (Sapanidou et al., 2015). D'autre part, le safran réduit la viscosité plasmatique (Ghanbari-Niaki et al., 2015), comme il inhibe l'agrégation plaquettaire (Liakopoulou-Kyriakides et al., 1985 ; Jessie et al., 2005), et empêche l'oxydation des lipides (Jessie et Krishnakantha, 2005 ; Kianbakht et al., 2009).

Le jaune d'œuf est connu par son effet bénéfique pour la conservation des spermatozoïdes en tant que protecteur de la membrane plasmique et de l'acrosome contre les lésions liées à la température. Ceci est surtout lié à la présence de phospholipides en combinaison avec d'autres composants (Surai et al., 2000). En revanche, le jaune d'œuf, a tendance à se coaguler en présence de plasma séminal, grâce à une lipase pancréatique (enzyme coagulante du jaune d'œuf ou BUSgp60) (Cseh et al., 2012). De plus, il entraîne une augmentation de la viscosité du milieu, ce qui influe négativement la respiration des Spz, leur mobilité (Sharafi et al., 2009 ; Forouzanfar et al., 2010) et leur linéarité (Aires et al., 2003). De même, le lait écrémé présente un effet similaire grâce à la caséine, mais son pouvoir anti oxydant diminue considérablement avec la durée de stockage.

L'objectif principal de cette étude était d'améliorer la conservation du sperme de deux groupes d'âge de bélier dans les deux milieux de conservation de base à savoir le SM et le TEY. Suivant cette hypothèse, nous avons examiné l'extrait aqueux de stigmatisation du safran en tant qu'antioxydant, anti-coagulant ainsi pour diminuer la viscosité de ces milieux.

Nos résultats concernant la caractérisation de safran ainsi la détermination de sa qualité sont en accord avec celui présenté par Garcin et Carral. (2007) réalisé sur cinq échantillons de la même région de Taliouine en 2003.

De plus, l'ajout de 60 µg d'EAS dans les deux milieux de conservation à savoir SM et TEY, a révélé une meilleure résistance des spermatozoïdes durant 24 heures de stockage liquide, avec des valeurs de MT et PM plus élevées, utilisées comme variables fortement corrélées avec la résistance à la conservation (Lasley, 1951). Par ailleurs, une toxicité à partir de l'addition de 100µg d'EAS peut être notée confirmant ainsi les résultats présentés par (Abdoulaye et al., 2004 ; Bostan et al., 2017).

Les résultats ont montré que l'addition d'EAS au SM avait un effet significativement positif à 0h de conservation sur la MP, MT, VSL, VAP, WOB, LIN, SRT et négatif sur la production de la MDA, contre une amélioration significativement de tous les paramètres étudiés sauf ALH ainsi une réduction des valeurs de la MDA après 24h. De même, avec la durée de conservation, une amélioration signification suite à l'addition d'EAS au dilueur SM entre 0h et 24h a été enregistrée pour la VCL, VSL, LIN, VIAB et HOST contre une diminution de la BCF et la MDA, ce qui montre l'effet protecteur d'EAS sur la membrane du sperme par le pouvoir anti-radicalaire et antioxydant du EAS lié à ses différentes molécules, notamment la crocine avec les polyphénols et les flavonoïdes (Ross et al., 2010 ; Papandreou et al., 2011 ; Mashmoul et al., 2013 ; Imamovic Kumalic et al., 2014).

De même, à 0h de conservation, un effet significativement négatif de l'âge a été enregistré pour la MP, MT, VSL, VAP, LIN, SRT, VIAB, HOST et positive pour la MDA, qui peut être expliqué par la différence de la qualité initiale du sperme entre les deux groupes, confirmant les résultats présentés dans la première expérimentation. Alors que tous les paramètres testés sauf la WOB et l'ALH ont été significativement affecté par l'âge après 24h de stockage. Cependant, d'EAS a significativement diminué l'effet de l'âge pour MP, MT contre une augmentation de cet effet pour VCL, VSL, VAP et BCF en faveur du groupe mature. Cela indique que ce traitement a amélioré d'avantage la MP, MT chez le groupe âgé, contrairement aux VCL, VSL, VAP et BCF.

Plusieurs études ont montré l'effet bénéfique du safran sur la motilité des spermatozoïdes chez les hommes stériles (Heidary et al., 2008 ; Papandreou et al., 2011 ; Asr Badr et al., 2017), la morphologie, les propriétés antioxydantes et l'intégrité de la membrane (Vaez et al., 2014). Comme il diminue les dommages de l'ADN et les anomalies de la chromatine chez le rat (Mardani et al., 2014). Cependant, la crocine à (1 mM) avait des effets positifs sur la mobilité, la viabilité, l'intégrité acrosomique et la fertilité, ainsi qu'une réduction de la peroxydation lipidique et fragmentation d'ADN (Sapanidou et al., 2015).

Dans une autre expérimentation, l'ajout d'EAS au TEY a très significativement amélioré la MP, VSL, VAP, LIN et WOB contre une diminution de l'ALH et la MDA, directement après la dilution.

Cependant, après 24h de conservation, nous avons enregistré une amélioration de l'effet de l'ajout d'EAS au TEY sur la MP, la MT, la VCL, la VSL, la VAP, la LIN, la SRT, la VIAB et l'HOST, contre une diminution de la ALH, la BCF et la MDA par rapport au groupe témoin.

Cela pourrait être attribué à une réduction de l'interaction entre les facteurs de coagulation du plasma séminal et les constituants du jaune d'œuf par l'EAS, à une diminution de la libération des acides gras et de lysolécithine (Iritani et Nishikawa, 1963), ainsi la viscosité du milieu (Ghanbari-Niaki et al., 2015), ou à l'inhibition de l'agrégation des membranes (Liakopoulou-Kyriakides et al., 1985 ; Jessie et Krishnakantha, 2005). De plus, l'EAS permet une protection contre les dommages oxydatifs qui pourrait être un facteur d'hyperviscosité du plasma séminal (Aydemir et al., 2007). Des résultats similaires ont montré une amélioration de l'HOST, contre une diminution de la production de la MDA suite à la supplémentation par le safran (Jessie et Krishnakantha, 2005 ; Kianbakht et al., 2009).

D'autre part, à l'exception de l'ALH et BCF, ce traitement a révélé un effet de l'âge sur toutes les formes de vitesse ainsi que pour la VIAB, HOST et MDA. De plus, on a enregistré une diminution de cet effet après 24h de stockage pour la MP et la MT, contre une augmentation de la VAP et la MDA. Ce résultat indique une amélioration d'avantage des formes de la trajectoire chez les béliers mature, qui n'empêche pas la possibilité d'améliorer la motilité des spermatozoïdes des béliers âgés en particulier la MP et MT par l'EAS. Des corrélations positives entre la fécondité et les paramètres de la mobilité analysés par CASA (Ben Ali, 2013), prévoient une amélioration de la réussite de l'IA avec l'utilisation d'un sperme traité par l'EAS. Des résultats similaires ont été enregistrés sur l'effet bénéfique du safran sur la conservation (Asr Badr et al., 2017 ; Sapanidou et al., 2015), la motilité, l'intégrité de la membrane et la fertilité (Maia et al., 2009 ; Coyan et al., 2010 ; AminiPour et al., 2013).

Les résultats de la présente étude sont très prometteurs pour améliorer la motilité du sperme, déminuer la viscosité et la toxicité du milieu pendant la conservation liquide en particulier lors de l'utilisation des dilueurs à base du TEY. Aussi pour inhiber l'effet négatif des enzymes de coagulation et éviter le lavage du sperme en particulier chez les chèvres avant le processus de conservation (Bliss et al., 2012 ; Chelucci et al., 2015 ; Barbas et al., 2018). Cela peut aider à développer le potentiel de fertilité pour la réussite de l'insémination artificielle, en particulier lors de l'utilisation de la semence de bélier plus âgé.

Chapitre 3 : Amélioration de la production et de la conservation du sperme par la supplémentation alimentaire en huile d'olive en absence et en présence de l'EAS chez le bélier Boujaâd

Dans le deuxième chapitre, on a pu améliorer la résistance du sperme à la conservation chez les deux groupes d'âge de béliers par l'ajout d'extrait aqueux de safran dans les deux types de dilueurs de base (SM et TEY). Cependant, la résistance du sperme à la conservation des béliers matures est significativement plus élevée par rapport aux béliers âgés. Ce qui est peut-être dû à la diminution de la qualité initiale du sperme et au faible teneur en lipides, protéines et cholestérol dans le plasma séminal chez les béliers âgés démontré dans le premier chapitre. Dans l'objectif d'améliorer la qualité de production et de conservation du sperme, des additifs alimentaires riches en antioxydants et en acides gras polyinsaturés tels que l'huile d'olive, pourrait être une bonne solution. Dans ce troisième chapitre, nous allons présenter les résultats de l'effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la qualité de production et de la conservation du sperme, et la composition de plasma séminale. Ainsi, l'effet de l'ajout d'extrait aqueux de safran dans le dilueur (SM), sur la conservation du sperme des béliers traités par l'huile d'olive.

I. Résultats

I.1. Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur le poids, la circonférence Scrotale, la production du sperme et sa conservation

Les résultats concernant la supplémentation alimentaire en huile d'olive n'ont montré ($P > 0,05$) aucun effet de la combinaison entre la durée de traitement et l'âge de bélier sur le poids la circonférence scrotale et le pourcentage d'anomalies. Par contre, un effet significativement positif ($P < 0,05$) du traitement alimentaire en huile d'olive sur la motilité massale, le volume d'éjaculat et le pourcentage de la viabilité a été enregistré (Tableau 21).

Tableau 21 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive pendant six semaines sur la masse, la Circonférence Scrotale et la production du sperme chez le bélier Boujaâd

Groupes	MC (Kg)	SC (cm)	ABN (%)	MM	VE (ml)	VIAB%
Témoin	73,34 ± 1,6 ^a	31,73 ± 0,5 ^a	10,71 ± 0,9 ^a	4,64 ± 0,10 ^b	1,25 ± 0,07 ^b	90,55 ± 0,8 ^b
Test	71,12 ± 1,2 ^a	32,24 ± 0,8 ^a	9,65 ± 1,2 ^a	4,83 ± 0,06 ^a	1,46 ± 0,06 ^a	92,98 ± 1,2 ^a

a, b. Des lettres différentes dans les colonnes un effet de groupe ($P < 0,05$)

MC : masse corporelle ; SC : Circonférence scrotale ; ABN % : le pourcentage d'anomalies MM : la motilité massale ; VE : le volume d'éjaculat ; VIAB% : le pourcentage de viabilité

La durée du traitement a montré un effet positif et significatif ($P < 0,05$), après deux semaines sur la concentration ($P < 0,01$) la mobilité individuelle et la viabilité. De même, un effet positivement significatif ($P < 0,01$) du traitement sur la mobilité massale a été enregistré après seulement une semaine (Tableau 22)

Tableau 22 : Effet de la durée de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la qualité du sperme de béliers Boujaâd

Semaines	SPC (10^9 spz/ml)	MM	MI (%)	VIAB (%)
P0	4,21± 0,33 ^b	4,60±0,09 ^b	89,70±1,2 ^b	91,28±0,7 ^b
P1	4,13± 0,53 ^b	4,85±0,10 ^a	91,49±0,9 ^{ab}	91,82±1,2 ^{ab}
P2	4,82± 0,61 ^a	4,90±0,07 ^a	93,27±0,7 ^a	93,41±1,1 ^a
P3	4,69± 0,30 ^a	4,87±0,04 ^a	92,82±1,3 ^a	93,80±1,3 ^a
P4	4,91± 0,48 ^a	4,93±0,04 ^a	93,14±1,1 ^a	94,58±0,9 ^a

a, b. Des lettres différentes dans les colonnes indiquent un effet de la durée de traitement ($P < 0,05$).

SPC : la concentration du sperme ; **MI** : la motilité individuelle ; **MM** : la motilité massale ; **VIAB%** : le pourcentage de viabilité

P0 : avant la supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P1** : après une semaine de supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P2** : après deux semaines de supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P3** : après quatre semaines de supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P4** : après six semaines de supplémentation alimentaire en huile d'olive

Chez les deux groupes (contrôle et test), les résultats n'ont montré aucun effet d'âge sur la circonférence scrotale, le volume d'éjaculat et la concentration du sperme, par contre le Poids était significativement différent entre les deux groupes d'âge, ainsi qu'une diminution de la motilité massale, la motilité individuelle et le pourcentage de la viabilité contre une augmentation du pourcentage d'anomalies ont été enregistré avec l'âge avancé et durant toute la période d'étude (Tableaux 23 et 24).

Cependant, les résultats ne montrent aucun effet du traitement en huile d'olive sur le poids, la circonférence scrotale et le pourcentage d'anomalies chez le groupe mature. Contrairement aux autres variables, la concentration du sperme, la motilité massale, la motilité individuelle et le pourcentage de viabilité qui ont présenté une augmentation significative avec ce traitement. En revanche, une amélioration de la concentration du sperme, la motilité individuelle et le volume d'éjaculat chez les deux groupes d'âge à partir de la deuxième semaine du traitement. Alors que la motilité massale a enregistré une augmentation significative ($P < 0,01$) après une semaine chez le groupe mature et après deux semaines chez le groupe âge.

Chez le groupe mature, une augmentation significative du pourcentage de la viabilité a été enregistrer après deux semaines de traitement. La même variation a été observer après six semaines de traitement chez le groupe âgé. En plus, nous avons enregistré une diminution du pourcentage d'anomalies chez le groupe âgé après quatre semaines du traitement (Tableau 24).

Tableau 23 : Effet de la durée du traitement par l'huile d'olive sur le Poids, Circonférence scrotale, et la qualité initiale du sperme chez les deux groupes contrôles

Semaines	Groupes	Poids	SC	VE	SPC	MM	MI	VIAB%	ABN%	
Témoin	P0	Âgé	76,12±1,3 ^{Aa}	31,6±0,3 ^{Aa}	1,35±0,03 ^{Aa}	4,2±0,05 ^{Aa}	4,4±0,1 ^{Ab}	87,93±0,5 ^{Ab}	88,7±0,7 ^{Ab}	12,33±0,7 ^{Aa}
		Mature	70,5±1,1 ^{Ab}	31,54±0,4 ^{Aa}	1,21±0,07 ^{Aa}	4,3±0,07 ^{Aa}	4,8±0,12 ^{Aa}	91,87±0,8 ^{Aa}	91,33±0,59 ^{Aa}	9,67±0,6 ^{Ab}
	P1	Âgé	77,9±0,9 ^{Aa}	31,2±0,5 ^{Aa}	1,34±0,06 ^{Aa}	4,18±0,03 ^{Aa}	4,53±0,07 ^{Ab}	88,45±1,05 ^{Ab}	89,39±0,33 ^{Ab}	12,64±0,31 ^{Aa}
		Mature	70,7±1 ^{Ab}	31,75±0,3 ^{Aa}	1,3±0,04 ^{Aa}	4,23±0,04 ^{Aa}	4,75±0,05 ^{Aa}	92,33±1,13 ^{Aa}	92,36±0,81 ^{Aa}	9,82±0,34 ^{Ab}
	P2	Âgé	75,83±1,3 ^{Aa}	32,3±0,8 ^{Aa}	1,31±0,07 ^{Aa}	4,5±0,06 ^{Aa}	4,37±0,06 ^{Ab}	88,08±0,89 ^{Ab}	88,6±0,97 ^{Ab}	11,97±0,5 ^{Aa}
		Mature	70,8±1,1 ^{Ab}	31,8±0,4 ^{Aa}	1,3±0,08 ^{Aa}	4,4±0,07 ^{Aa}	4,72±0,1 ^{Aa}	92,15±0,33 ^{Aa}	92,67±0,7 ^{Aa}	9,87±0,8 ^{Ab}
	P3	Âgé	75,77±0,9 ^{Aa}	32,33±0,7 ^{Aa}	1,27±0,03 ^{Aa}	4,3±0,05 ^{Aa}	4,59±0,09 ^{Ab}	87,61±0,41 ^{Ab}	88,27±0,67 ^{Ab}	11,49±0,46 ^{Aa}
		Mature	71,1±1,1 ^{Ab}	31,5±0,7 ^{Aa}	1,18±0,09 ^{Aa}	4,5±0,04 ^{Aa}	4,85±0,11 ^{Aa}	91,67±1,10 ^{Aa}	91,73±0,57 ^{Aa}	8,92±0,74 ^{Ab}
	P4	Âgé	75,53±0,9 ^{Aa}	32,01±0,2 ^{Aa}	1,23±0,06 ^{Aa}	4,4±0,07 ^{Aa}	4,58±0,08 ^{Ab}	88,76±1,13 ^{Ab}	89,73±0,44 ^{Ab}	11,15±0,6 ^{Aa}
		Mature	71±1,6 ^{Ab}	31,29±0,5 ^{Aa}	1,1±0,07 ^{Aa}	4,3±0,06 ^{Aa}	4,8±0,06 ^{Aa}	92,45±0,7 ^{Aa}	92,77±1,33 ^{Aa}	9,28±0,7 ^{Ab}

*a, b, c. Différentes lettres dans des colonnes indiquent un effet de groupe d'âge de bélier (P <0,05).

*A, B, C. Différentes lettres dans les colonnes indiquent un effet de la durée de traitement en huile d'olive (P <0,05).

Poids : masse corporelle ; **SC** : Circonférence scrotale ; **VE** : le volume d'éjaculat ; **SPC** : la concentration du sperme ; **MI** : la motilité individuelle ; **MM** : la motilité massale ; **VIAB%** : le pourcentage de viabilité ; **ABN %** : le pourcentage d'anomalies

P0 : avant la supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P1** : après une semaine de supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P2** : après deux semaines de supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P3** : après quatre semaines de supplémentation alimentaire en huile d'olive, **P4** : après six semaines de supplémentation alimentaire en huile d'olive

Tableau 24 : Effet de la durée du traitement par l'huile d'olive sur le Poids, la SC, et la qualité initiale du sperme chez les deux groupes Test

Semaines	Groupe	Poids	SC	VE	SPC	MM	MI	VIAB%	ABN%	
TEST	P0	Âgé	75,09±01,3 ^{Aa}	32,4±0,3 ^{Aa}	1,3±0,08 ^{Ba}	4,15±0,04 ^{Ba}	4,5±0,1 ^{Bb}	88,12±0,4 ^{Bb}	90,07±0,7 ^{Bb}	12,57±0,8 ^{Aa}
		Mature	66,5±0,9 ^{Ab}	32,64±0,7 ^{Aa}	1,34±0,05 ^{Ba}	4,37±0,05 ^{Ba}	4,7±0,07 ^{Ba}	91,28±0,7 ^{Ba}	92,5±0,68 ^{Ba}	8,87±1,1 ^{Ab}
	P1	Âgé	75,87±0,7 ^{Aa}	32,6±0,5 ^{Aa}	1,32±0,1 ^{Ba}	4,1±0,07 ^{Ba}	4,7±0,03 ^{Bb}	89,13±1,21 ^{ABb}	90,57±0,8 ^{Bb}	12,16±0,69 ^{Aa}
		Mature	66,51±1,1 ^{Ab}	32,83±1 ^{Aa}	1,46±0,1 ^{Ba}	4,16±0,03 ^{Ba}	5±0^{Aa}	93,84±0,8 ^{ABa}	93,07±1,4 ^{Ba}	8,21±0,79 ^{Ab}
	P2	Âgé	75,17±1,5 ^{Aa}	32,67±0,7 ^{Aa}	1,53±0,09^{Aa}	4,76±0,09^{Aa}	4,83±0,07^{Ab}	91,22±0,73^{Ab}	91,74±1,1 ^{Bb}	11,91±1,13 ^{ABa}
		Mature	66,83±0,9 ^{Ab}	32,3±1 ^{Aa}	1,56±0,26^{Aa}	4,88±0,08^{Aa}	4,98±0,04^{Aa}	95,33±0,51^{Aa}	95,08±1,2^{Aa}	7,25±1,04 ^{Ab}
	P3	Âgé	75,73±2 ^{Aa}	33,03±0,9 ^{Aa}	1,5±0,06^{Aa}	4,68±0,05^{Aa}	4,8±0,05^{Ab}	91,11±1,15^{Ab}	92,2±1,4 ^{ABb}	10,25±1,1^{Ba}
		Mature	66,67±2,5 ^{Ab}	32,83±1,2 ^{Aa}	1,6±0,07^{Aa}	4,7±0,06^{Aa}	4,95±0,02^{Aa}	94,53±1,07^{Aa}	95,4±1,17^{Aa}	7,48±0,52 ^{Ab}
	P4	Âgé	75,93±1,3 ^{Aa}	33,17±1,3 ^{Aa}	1,46±0,05^{Aa}	4,83±0,1^{Aa}	4,85±0,04^{Ab}	91,5±1^{Ab}	93,28±0,4^{Ab}	9,83±0,8^{Ba}
		Mature	66,71±3,4 ^{Ab}	32,8±1,3 ^{Aa}	1,51±0,05^{Aa}	4,98±0,08^{Aa}	5±0^{Aa}	94,78±0,64^{Aa}	95,88±1,15^{Aa}	7,97±1,34 ^{Ab}

*a, b, c. Différentes lettres dans des colonnes indiquent un effet de groupe d'âge de bélier (P <0,05).

*A, B, C. Différentes lettres dans les colonnes indiquent un effet de la durée de traitement en huile d'olive (P <0,05)

Poids : masse corporelle ; **SC** : Circonférence scrotale ; **VE** : le volume d'éjaculat ; **SPC** : la concentration du sperme ; **MI** : la motilité individuelle ; **MM** : la motilité massale ; **VIAB%** : le pourcentage de viabilité ; **ABN %** : le pourcentage d'anomalies

I.2. Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la conservation du sperme dans le SM à 15°C

Les deux groupes de béliers témoins ont montré une stabilité des valeurs de la mobilité totale (MT) et progressive (MP) à 0h et après 24h de conservation durant la période du traitement, avec des valeurs plus élevées enregistrés chez le groupe mature (Figures 24, 25, 26 et 27).

Par contre, à 0h de conservation, les deux groupes d'âge traités ont montré une augmentation significative de la mobilité à partir d'une semaine du traitement, avec une amélioration significative de la MT à ($P<0,01$) et de la MP à ($P<0,05$) chez le groupe âgé, contre une augmentation significative de la MT à ($P<0,05$) et de la MP à ($P<0,01$) enregistré par le groupe mature. Des valeurs maximales ont été enregistrées après quatre semaines de traitement pour les deux groupes d'âge (Figures 24, 25).

Après 24h de conservation, les valeurs de la MT ont montré une augmentation significative ($P<0,05$) à partir de la deuxième semaine avec un maximum à partir de la sixième semaine pour les deux groupes d'âges. De même, une augmentation significative de la MP à ($P<0,05$) a été enregistrée après une semaine de traitement chez les deux groupes. Des valeurs plus élevées ont été obtenues après deux semaines chez le groupe âgé et quatre semaines chez le groupe mature (Figures 26, 27).

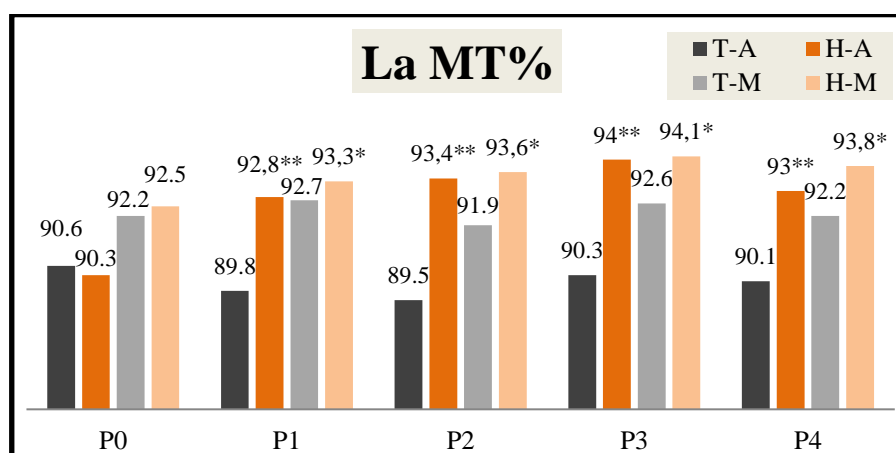


Figure 23: Effet de la durée du traitement sur le pourcentage de la MT du sperme à t0h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache

*Significatif à $P<0,05$, ** significatif à $P<0,01$, NS = non significatif : $P>0,05$.

T-A : groupe de béliers témoins âgés, **T-M** : groupe de béliers témoins matures, **H-A** : groupe de béliers âgés traités par l'huile d'olive, **H-M** : groupe de béliers matures traités par l'huile d'olive.

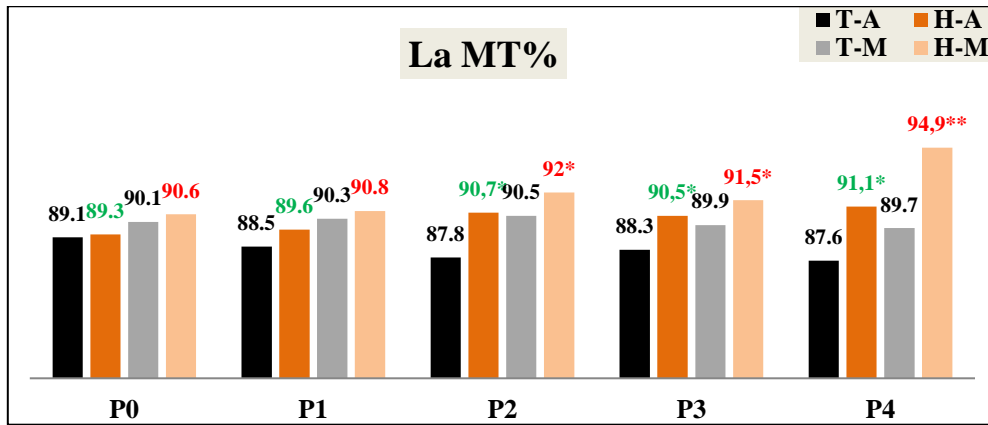


Figure 24: Effet de la durée du traitement sur le pourcentage de la MT du sperme après 24h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache

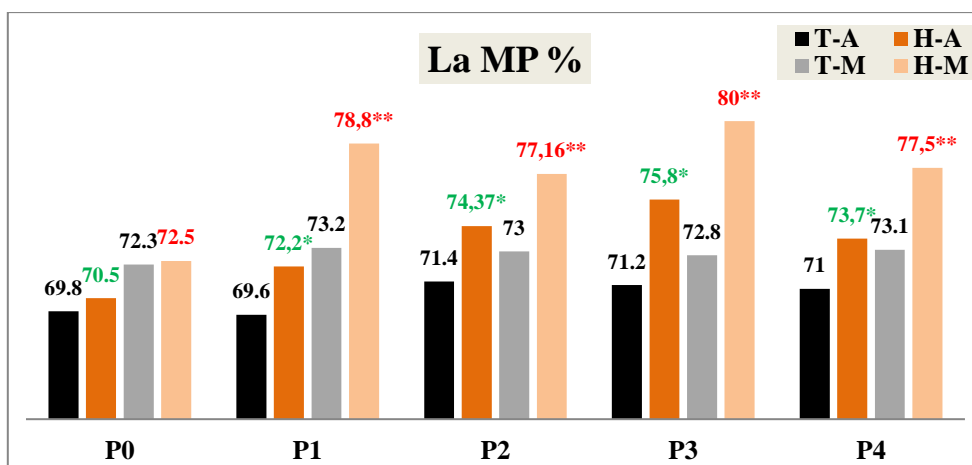


Figure 25: Effet de la durée de traitement sur le pourcentage de la MP du sperme à t0h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache

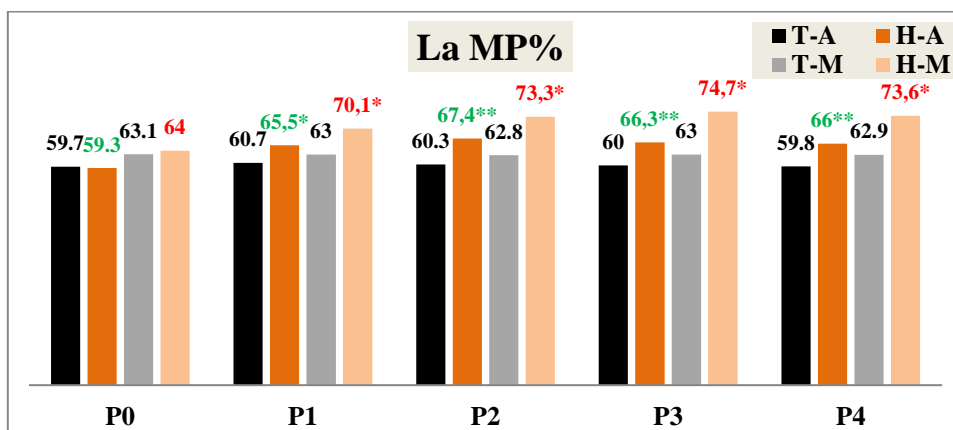


Figure 26: Effet de la durée du traitement sur le pourcentage de la MP du sperme après 24h de conservation à 15°C dans le Lait écrémé de vache

*Significatif à $P < 0,05$, ** significatif à $P < 0,01$, NS = non significatif : $P > 0,05$.

T-A : groupe de béliers témoins âgés, **T-M** : groupe de béliers témoins matures, **H-A** : groupe de béliers âgés traités par l'huile d'olive, **H-M** : groupe de béliers matures traités par l'huile d'olive.

I.3. Effet de la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive sur les paramètres biochimiques du plasma séminale

L'analyse biochimique du plasma séminale a révélé un effet significativement positif du traitement alimentaire en huile d'olive sur la concentration en protéines ($P < 0,01$) et en lipides totaux ($P < 0,05$), alors qu'il n'a pas affecté la concentration du cholestérol (Tableau 25).

Tableau 25 : Effet du traitement alimentaire par l'huile d'olive sur la composition biochimique du plasma séminale des béliers Boujaâd

Groupes	Protéine Totale (g/l)	Cholestérol (g/l)	Lipide totale (g/l)
Témoin	26,04 ± 0,17 ^b	1,42 ± 0,17 ^a	3,31 ± 0,17 ^b
Teste	29,13 ± 0,64 ^a	1,67 ± 0,14 ^a	3,88 ± 0,09 ^a
P- value	0,45**	0,14 ^{ns}	0,22*

a, b. Différentes lettres dans des colonnes indiquent un effet du traitement d'huile d'olive ($P < 0,05$).

*Significatif à $P < 0,05$, ** significatif à $P < 0,01$, ns = non significatif : $P > 0,05$.

I.4. Effet de l'ajout d'EAS dans le dilueur SM, sur la conservation du sperme de béliers supplémentés en huile d'olive

a. Effet du traitement en huile d'olive

A 0h de conservation : La supplémentation alimentaire en huile d'olive a montré un effet significativement positif sur la MP ($P < 0,01$), ainsi la linéarité de la trajectoire (LIN), la MT, la vitesse linéaire (VSL), la vitesse de trajectoire moyenne (VAP) et la rectitude (SRT) ($P < 0,05$), alors qu'elle n'a pas eu d'effet sur la vitesse curvilinéaire (VCL), l'oscillation (WOB), l'amplitude du déplacement latérale de la tête (ALH) et la fréquence de croisement de trajectoire BCF ($P > 0,05$). L'ajout d'EAS au milieu de conservation a significativement amélioré la MP et la LIN ($P < 0,01$), la MT, la VSL, la VAP et la WOB ($P < 0,05$), alors qu'il n'a pas eu d'effet sur la VCL, la SRT, l'ALH et la BCF. Cependant, la supplémentation alimentaire en huile d'olive plus l'ajout d'EAS ont amélioré la MP ($P < 0,001$), la MT, la VSL, la SRT et la LIN ($P < 0,01$), la VCL et la VAP ($P < 0,05$), alors qu'ils n'ont pas eu d'effet sur le WOB, l'ALH et la BCF ($P > 0,05$) (Tableaux 26 et 27).

Tableau 26 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive et l'ajout d'EAS dans le dilueur (SM) sur les formes de mobilité des spermatozoïdes à 0h de conservation à 15°C chez le bélier Boujaâd

A 0h	STM	STA	SHM	SHA	STMS	STAS	SHMS	SHAS
MT	92,24±0,56^B	90,28±0,64 ^D	93,86±0,51^A	92,42±0,39 ^B	93,84±0,35^A	91,47±0,39 ^C	94,19±0,45^A	92,45±0,54 ^B
MP	73,06±0,87^C	71,24±0,72 ^D	78,2±0,75^{AB}	74,58±0,66 ^C	75,52±0,65^B	73,63±0,67 ^C	78,89±0,75^A	74,24±0,41 ^C
VCL	200±4,34 ^D	223±2,65^A	213±2,3^B	208±2,55 ^C	215±2,81^B	195±3,77 ^D	215±2,22 ^B	215±1,18 ^B
VSL	120±2,22 ^{BC}	119±2,54 ^C	128±1,35^A	123±1,6 ^B	130±1,45^A	116±2,91 ^C	131±2,37^A	125±1,57 ^B
VAP	148±2,38 ^B	147±2,58 ^B	156±1,38^A	149±1,64 ^B	159±1,68^A	146±3,71 ^B	157±2,6^A	150±1,8 ^B
LIN	60±0,94^A	52±1,65 ^C	60±0,93 ^A	59±0,81 ^{AB}	60±1,11 ^A	59±1,37 ^{AB}	61±1,65^A	58±0,65 ^B
SRT	81±0,4^B	78±0,9 ^C	82±0,34 ^{AB}	82,5±0,65 ^A	82±0,66^{AB}	79±0,99 ^C	83±0,91 ^{AB}	83±0,45 ^{AB}
WOB	74±0,94^A	66±1,54 ^C	73±0,91^A	71±0,91 ^B	74±0,94 ^A	75±1,21 ^A	73±1,42^A	70±0,68 ^B
ALH	2,7±0,11 ^B	3,46±0,11^A	2,86±0,06 ^B	2,7±0,1 ^B	2,8±0,1 ^B	2,8±0,15 ^B	2,89±0,18 ^B	3,12±0,2 ^{AB}
BCF	23,5±0,45 ^B	25,2±0,47^A	25,2±0,39 ^A	24,3±0,48 ^{AB}	24±0,36 ^B	22,7±0,5 ^B	23,56±0,54 ^B	23,53±0,52 ^B

A, B, C. Différentes lettres dans les lignes indiquent un effet de groupe de traitement (P <0,05).

STM : sperme du bélier témoin mature, **STA** : sperme du bélier témoin âgé, **SHM** : sperme du bélier traité par huile d'olive mature, **SHA** : sperme du bélier traité par huile d'olive, **STMS** : sperme du bélier témoin mature conservé avec l'extrait de safran, **STAS** : sperme du bélier témoin âgé conservé avec l'extrait de safran, **SHMS** : sperme du bélier mature traité par huile d'olive et conservé avec l'extrait de safran, **SHAS** : bélier âgé traité par huile d'olive conservé avec l'extrait de safran

VSL : Vitesse linéaire (en µm/s) ; **VCL** : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; **VAP** : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; **LIN** : Linéarité de la trajectoire (VSL*100 / VCL) ; **SRT** : Rectitude (VSL*100/VAP) ; **WOB** : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP*100/VCL) ; **BCF** : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; **ALH** : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm).

Tableau 27 : Le degré de signification concernant l'effet de l'âge, d'EAS, de la supplémentation par l'huile d'olive et la combinaison d'EAS * huile d'olive, à 0 heure de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les béliers Boujaâd

A 0h	Effet âge	Effet safran	Effet huile d'olive	Effet huile d'olive + safran
MT	-0,49 **	0,31 *	0,21*	0,52 **
MP	-0,70 **	0,47 **	0,46 **	0,78 ***
VCL	-0,15 ns	-0,13 ns	0,17 ns	0,21 *
VSL	-0,30 *	0,21 *	0,31*	0,41 **
VAP	-0,25 *	0,32 *	0,34 *	0,28 *
LIN	-0,22 *	0,43 **	0,21 *	0,47**
SRT	-0,23 *	0,18 ns	0,22 *	0,20 *
WOB	-0,20 *	0,27 *	0,18 ns	0,16 ns
ALH	-0,07 ns	0,16 ns	-0,09 ns	0,12 ns
BCF	-0,04 ns	-0,08 ns	-0,18 ns	-0,11 ns

* Significatif à P <0,05. ** Significatif à P <0,01 et. *** Significatif à P <0,001. ns : Pas de signification P>0,05.
MT : la motilité totale ; **MP** : la motilité progressive ; **VSL** : Vitesse linéaire (en µm/s) ; **VCL** : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; **VAP** : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; **LIN** : Linéarité de la trajectoire (VSL*100 / VCL) ; **SRT** : Rectitude (VSL*100/VAP) ; **WOB** : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP*100/VCL) ; **BCF** : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; **ALH** : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm).

Après 24h de conservation : l'ajout d'EAS au milieu de conservation a amélioré significativement la MP, la VSL, la VAP, la WOB et la LIN (P<0,001), la SRT à (P<0,01), la BCF à (P<0,05), alors qu'il n'a pas eu d'effet sur la VCL, l'ALH et la MT (P>0,05).

De même, la supplémentation alimentaire en huile d'olive a montré significativement la MP, la VCL, la VSL, la VAP et la BCF (P<0,001), ainsi la MT (P<0,05). Toutefois elle n'a pas eu d'effet sur la LIN, la SRT, la WOB et l'ALH (P>0,05).

L'ajout d'EAS au sperme des béliers traités par huile d'olive, a montré une amélioration significative de la MP, la VSL, la VAP, la LIN et la WOB (P<0,001), ainsi la VCL et la SRT (P<0,01), la MT (P<0,05), contre une diminution de l'ALH, alors qu'il n'a eu pas affecté la BCF (Tableaux 28 et 29).

b. Effet des deux traitements sur la conservation du sperme selon l'âge de bélier

A 0h de conservation : la supplémentation alimentaire en huile d'olive a montré un effet significativement négatif avec l'âge sur la MT et la MP à ($P < 0,01$), ainsi sur la VSL, la VAP, la LIN, la SRT et la WOB ($P < 0,05$), alors qu'elle n'a pas eu d'effet sur la VCL, l'ALH et la BCF (Tableau 27).

Notamment, le groupe de bélier mature a montré une amélioration significative de la MP ($P < 0,001$), la MT, la VCL, la VSL et la VAP ($P < 0,01$), et sans aucune variation significative de la SRT, la LIN, la WOB, l'ALH et la BCF ($P > 0,05$).

Alors que, le groupe âgé a enregistré une augmentation significative des valeurs de la MT, la MP, la LIN, la SRT et la WOB à ($P < 0,01$), ainsi de la VSL, contre une diminution de la VCL et la BCF ($P < 0,05$), alors que chez le même groupe, la VAP et l'ALH ($P > 0,05$) n'ont montré aucune différence significative par comparaison avec le groupe témoin, (Tableau 30).

Tableau 28 : Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive et/ou l'ajout d'EAS dans le dilueur SM sur les formes de la motilité des spermatozoïdes après 24h de conservation chez les béliers Boujaâd

A 24h	STM	STA	SHM	SHA	STMS	STAS	SHMS	SHAS
MT	90,04±0,56 ^{BC}	87,91±0,86 ^D	92,81±0,45 ^A	90,76±0,54 ^B	90,83±0,7 ^B	89,15±0,69 ^C	91,97±0,49 ^A	90,81±0,6 ^B
MP	62,9±0,72 ^D	60,03±0,81 ^E	73,86±0,67 ^A	66,77±0,99 ^C	72,81±0,81 ^A	66,33±0,93 ^C	73,18±1,48 ^A	68,33±0,8 ^B
VCL	161±1,54 ^C	157±1,59 ^D	189±2 ^A	188±4,23 ^A	162±3,89 ^{BC}	162±1,83 ^C	164±3,82 ^{BC}	167±3,17 ^B
VSL	94±1,39 ^E	89±0,89 ^F	111±1,58 ^B	103±2,81 ^D	112±2,41 ^{AB}	107±0,72 ^C	115±1,28 ^A	114±1,38 ^A
VAP	117±1,35 ^D	113±1,98 ^E	136±1,7 ^A	129±2,9 ^{BC}	132±1,63 ^B	126±1,24 ^C	134±1,52 ^{AB}	133±1,98 ^{AB}
LIN	58,4±0,76 ^C	56,7±0,42 ^D	58,7±0,44 ^C	55±1,36 ^D	69,1±1,24 ^A	66±0,82 ^B	70,1±1,62 ^A	68,2±1,04 ^A
SRT	80,3±0,41 ^C	78,7±0,58 ^D	81,6±0,33 ^B	79,8±0,94 ^C	84,8±0,44 ^A	85±0,6 ^A	85,8±1,08 ^A	85,7±0,95 ^A
WOB	72,7±0,74 ^C	72±0,51 ^C	71,9±0,44 ^C	68,6±1,31 ^D	81,5±1,82 ^A	78±0,6 ^B	81,7±1,82 ^A	79,6±0,94 ^B
ALH	2±0,11 ^C	2,3±0,16 ^B	2,4±0,11 ^{AB}	2,6±0,12 ^A	2,1±0,09 ^B	1,7±0,19 ^D	1,7±0,33 ^D	1,8±0,23 ^D
BCF	20,8±0,54 ^C	21,9±0,66 ^B	23±0,54 ^B	24,7±0,39 ^A	21,7±0,96 ^{BC}	19,7±0,3 ^D	20,5±0,23 ^C	21±0,57 ^{BC}

A, B, C. Différentes lettres dans les lignes indiquent un effet de groupe de traitement (P <0,05).

STM : sperme du bélier témoin mature, STA : sperme du bélier témoin âgé, SHM : sperme du bélier traité par huile d'olive mature, SHA : sperme du bélier traité par huile d'olive, STMS : sperme du bélier témoin mature conservé avec l'extrait de safran, STAS : sperme du bélier témoin âgé conservé avec l'extrait de safran, SHMS : sperme du bélier mature traité par huile d'olive et conservé avec l'extrait de safran, SHAS : bélier âgé traité par huile d'olive conservé avec l'extrait de safran.

MT : la motilité totale ; MP : la motilité progressive ; VSL : Vitesse linéaire (en µm/s) ; VCL : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; VAP : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; LIN : Linéarité de la trajectoire (VSL*100 / VCL) ; SRT : Rectitude (VSL*100/VAP) ; WOB : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP*100/VCL) ; BCF : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; ALH : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm).

Tableau 29 : Le degré de signification concernant l'effet de l'âge, d'EAS, de la supplémentation par l'huile d'olive et la combinaison d'EAS * huile d'olive, après 24 heures de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les béliers Boujaâd

A 24h	Effet âge	Effet safran	Effet huile d'olive	Effet huile d'olive + safran
MT	-0,34 *	0,14 ^{ns}	0,37 *	0,35 *
MP	-0,75 ***	0,84 ***	0,86 ***	0,88 ***
VCL	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,89 ***	0,41 **
VSL	-0,22 *	0,87 ***	0,79 ***	0,91 ***
VAP	-0,21 *	0,75 ***	0,87 ***	0,88 ***
LIN	-0,27 *	0,81 ***	-0,07 ^{ns}	0,83 ***
SRT	-0,11 ^{ns}	0,56 **	0,08 ^{ns}	0,58 **
WOB	-0,14 ^{ns}	0,77 ***	-0,15 ^{ns}	0,79 ***
ALH	0,07 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,20 *
BCF	0,18 ^{ns}	-0,2 *	0,43 **	-0,17 ^{ns}

* Significatif à P <0,05. ** Significatif à P <0,01 et. *** Significatif à P <0,001. **ns** : Pas de signification P>0,05.

MT : la motilité totale ; **MP** : la motilité progressive ; **VSL** : Vitesse linéaire (en µm/s) ; **VCL** : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; **VAP** : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; **LIN** : Linéarité de la trajectoire (VSL*100 / VCL) ; **SRT** : Rectitude (VSL*100/VAP) ; **WOB** : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP*100/VCL) ; **BCF** : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; **ALH** : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm).

Après 24h de conservation : L'ajout d'EAS au sperme de béliers ayant reçu une supplémentation alimentaire en huile d'olive, a montré un effet significativement négatif de l'âge sur la MP à (P<0,001), ainsi sur la MT, la VSL, la VAP et la LIN à (P<0,05), mais sans effet sur la VCL, la SRT, la WOB, l'ALH et la BCF (P>0,05) (Tableau 29).

Cependant, le groupe de béliers matures a montré une amélioration significative de la MP, la VSL, la SRT et la LIN à (P<0,01), la MT et la VAP à (P<0,05), contre une diminution de l'ALH à (P<0,05), alors qu'il n'a pas montré de variation de la VCL, WOB et la BCF (P>0,05).

De même, le groupe âgé a enregistré une amélioration significative de la MP et la LIN à (P<0,001), de la MT, la VCL, la VSL, la VAP, la SRT et la WOB à (P<0,01), contre une diminution de l'ALH à (P<0,05), alors qu'il n'a pas eu de variation de la BCF (P>0,05) en comparaison avec le groupe témoin, (Tableau 31).

Tableau 30 : Le degré de signification concernant l'effet de la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive et l'ajout d'EAS à 0 heure de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les deux groupes d'âge de béliers Boujaâd

A 0h	Groupe âgé	Groupe Mature
MT	0,45 **	0,42 **
MP	0,51 **	0,73 ***
VCL	-0,21 *	0,44 **
VSL	0,22 *	0,42 **
VAP	0,13 ^{ns}	0,41 **
LIN	0,46 **	0,12 ^{ns}
SRT	0,41 **	0,16 ^{ns}
WOB	0,40 **	-0,08 ^{ns}
ALH	-0,15 ^{ns}	0,09 ^{ns}
BCF	-0,33 *	0,05 ^{ns}

* Significatif à P <0,05. ** significatif à P <0,01 et. *** significatif à P <0,001. **ns** : pas de signification P>0,05.

Tableau 31: Le degré de signification concernant l'effet de la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive et l'ajout d'EAS après 24 heures de conservation du sperme dans le SM à 15 °C chez les deux groupes d'âge de béliers Boujaâd

A 24h	Groupe âgé	Groupe Mature
MT	0,41 **	0,36 *
MP	0,73 ***	0,42 **
VCL	0,45**	0,1 ^{ns}
VSL	0,48 **	0,44 **
VAP	0,51 **	0,29 *
LIN	0,74 ***	0,43 **
SRT	0,41 **	0,45 **
WOB	0,42 **	0,08 ^{ns}
ALH	-0,20 *	-0,26*
BCF	0,15 ^{ns}	-0,17 ^{ns}

* Significatif à P <0,05. ** Significatif à P <0,01 et. *** Significatif à P <0,001. **ns** : Pas de signification P>0,05.

MT : la motilité totale ; **MP** : la motilité progressive ; **VSL** : Vitesse linéaire (en µm/s) ; **VCL** : Vitesse curvilinéaire (en µm/s) ; **VAP** : Vitesse de trajectoire moyenne (en µm/s) ; **LIN** : Linéarité de la trajectoire ($VSL \cdot 100 / VCL$) ; **SRT** : Rectitude ($VSL \cdot 100 / VAP$) ; **WOB** : Oscillation représentée par le pourcentage du ratio ($VAP \cdot 100 / VCL$) ; **BCF** : Fréquence de croisement de trajectoire (battements /s) ; **ALH** : Amplitude du déplacement latérale de la tête (en µm).

II. Discussion :

La membrane des spermatozoïdes des mammifères est riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) (Kelso et al., 1997 ; Díaz et al., 2015), tels que le DHA et d'acide docosapentaénoïque (DPA). Cependant, ces AGPI sont très sensibles à l'attaque des espèces réactives de l'oxygène. Cette peroxydation lipidique est en relation avec plusieurs étapes du processus de fécondation telles que l'hyperactivation des spermatozoïdes, la capacitation, la réaction acrosomique et la fécondation (Lenzi et al., 2002). Des variations spécifiques en acides gras (Wathes et al., 2007), non seulement entre les espèces (Swain and Miller, 2000 ; Waterhouse et al., 2006), mais également au sein de la même espèce (Poulos et al., 1976 ; White, 1993). Ont été rapportées que cette composition lipidique présente un facteur important dans le maintien de l'activité de différentes enzymes liées à la membrane, la flexibilité, la compressibilité (Neuringer et al., 1988) et la perméabilité (Wassall and Stillwell, 2009). Cependant, les vertébrés ne peuvent pas synthétiser les acides gras polyinsaturés (AGPI : n-3 et n-6). Ils doivent donc être fournis dans le régime alimentaire, sous forme de précurseurs végétaux à 18 carbones (acide linoléique) ou de dérivés de 20 à 22 atomes de carbone trouvés dans les tissus animaux (Samadian et al., 2010).

Dans cette troisième étude, nous avons évalué l'effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive (comme source d'AGPI de vitamine E et de α -Tocophérols), sur la production du sperme, en même temps avec l'effet de l'addition d'EAS dans le dilueur (comme source d'antioxydant), sur l'amélioration de la résistance des Spz à la conservation. Les résultats ont montré des améliorations significatives de la qualité et la quantité du sperme. Notamment, des augmentations significatives du volume d'éjaculat, de la concentration du sperme, la mobilité individuelle et massale, le pourcentage de la viabilité des Spz, avec une tendance à la diminution du % d'ABN en particulier chez les deux groupes d'âge ont été observées. En outre, les AGPI fournissent les précurseurs de la synthèse des prostaglandines et peuvent moduler les profils d'expression de nombreuses enzymes clés impliquées dans le métabolisme des prostaglandines et des stéroïdes. Ils sont aussi associés à l'activité d'hormones telles que la LH, la FSH, la testostérone, PGF2 α , IGF-1 (Tran et al., 2016). De même, une supplémentation alimentaire avec une composante énergétique (16,4 mégajoules/kg) et protéique (337,5g protéine brute/kg matière sèche) stimule la sécrétion pulsatile de la LH après seulement 2-3 jours, et la sécrétion tonique de la FSH après 1 semaine à 10 jours qui se maintient pendant plusieurs semaines et une augmentation aussi de la circonférence scrotale détectée après 2 semaines qui continue pendant au moins 5 semaines chez les béliers mérinos (Boukhliq et Martin, 1997).

De plus, le traitement par l'huile d'olive a montré une amélioration significative de la mobilité progressive et la mobilité totale et les autres formes de vitesse à savoir VCL, VSL, VAP et BCF. Cela reflète une amélioration de la résistance des spermatozoïdes à la conservation, qui pourrait être expliquée par une augmentation de la teneur en lipide et en protéines dans le plasma séminal consécutive au traitement par l'huile d'olive à partir de la 2^{ème} semaine. Des résultats similaires ont montré l'effet positif des régimes enrichis par les AGPI sur la motilité, la viabilité et la fertilité des spermatozoïdes pendant le refroidissement et la congélation (Samadian et al., 2010 ; Towhidi et Parks, 2012 ; Abavisani et al., 2013 ; Jafaroghli et al., 2014), ainsi chez d'autres espèces (Castellano et al., 2011 ; Towhidi et al., 2012 ; Fair et al., 2014). De même, l'ajout d'AGPI dans les diluants protègent la membrane des spermatozoïdes pendant la cryoconservation contre le stress oxydatif par des modifications de la fluidité de la membrane spermatique (Wathes et al., 2007 ; Kaeoket et al., 2008), ce qui réduit le cryodamage des spermatozoïdes chez le verrat (Maldjian et al., 2005) et le taureau (Kaka et al., 2015a, 2017).

Cette augmentation de la motilité des spermatozoïdes pourrait être liée à l'incorporation d'acides gras polyinsaturés dans leur membrane plasmique à la fin de la maturation épидидymaire comme l'a été démontré chez le chien, (Ramos Angrimani et al., 2017). Ces modifications du profil lipidique stabilisent la membrane plasmique des spermatozoïdes pour acquérir une motilité progressive (Amann et al., 1993 ; Jervis et Robaire, 2001), son intégrité cellulaire et sa capacité de fécondation (Parks et al., 1985 ; Petruszak et al., 1991).

Il a été établi qu'une supplémentation alimentaire en AGPI était capable de modifier le profil des acides gras membranaires des spermatozoïdes (Fair et al., 2014 ; Moallem et al., 2015) et d'augmenter ainsi la teneur en acide docosahexaénoïque (DHA) (D'iaz et al., 2017).

D'autres travaux ont rapporté des effets positifs de l'enrichissement d'aliments par plusieurs types d'AG comme, l'acide oléique, l'acide linoléique et le DHA sur la qualité du sperme de bélier (Samadian et al., 2010 ; Jafaroghli et al., 2014 ; Esmaeili et al., 2014). En outre, des résultats similaires ont été obtenus après l'addition de l'huile de poisson (Khoshvaght et al., 2016), des AG (n-3) ou de l'acide α -linoléique aux dilueurs *in vitro* chez le taureau (Nasiri et al., 2011 ; Kaka et al., 2015b). De plus, une diminution du pourcentage d'anomalies et une augmentation de la motilité progressive, la viabilité et la motilité des spermatozoïdes des bovins frais après une supplémentation alimentaire en huile de thon pendant six semaines a été signalée par (Rooke et al., 2001 ; Gholami et al., 2010).

Il existe une relation entre les AGPI et les taux d'antioxydants (GPx et SOD) dans le plasma séminal, la motilité et la fertilité du sperme (Kwon et al., 2015a, b).

Chez le bélier, Hashem et al. (2017) ont rapporté que la supplémentation en acide oléique augmentait la motilité totale, la motilité progressive, la VCL, la viabilité, l'intégrité de la membrane plasmique, la capacité antioxydante totale et le superoxyde dismutase et diminuait les quantités de Malon dialdéhyde et d'oxyde nitrique dans le plasma séminal durant le stockage liquide des spermatozoïdes.

De plus, les résultats de la présente étude ont montré une amélioration de la viabilité après deux semaines contre une diminution du pourcentage des anomalies après quatre semaines chez le groupe de béliers ayant été supplémentés par de l'huile d'olive. Ce résultat peut être attribué à l'incorporation efficace d'AG (n-3) dans la membrane plasmique des spermatozoïdes au cours de la maturation épидидymaire vers la fin du traitement (Wathes et al., 2007 ; Kaeoket et al., 2008 ; Ramos Angrimani et al., 2017 ; Kaka et al., 2015 ; 2017).

Les effets positifs des acides gras sur la qualité du sperme peuvent varier en raison des sources d'acides gras, des types d'acides gras (Esmaili et al., 2014), de la quantité d'acides gras incorporés dans le dilueur (Castellano et al., 2010 ; Kandelousi et al., 2013 ; Kaka et al., 2015), ainsi que du moment et de la durée du traitement (Kelso et al., 1997 ; Moallem et al., 2015). Cependant, la stabilité de la concentration en cholestérol dans la présente étude pourrait être due à la période de traitement qui est relativement insuffisante pour l'incorporation du cholestérol dans la membrane des spermatozoïdes (D'iaz et al., 2017). En outre, les résultats de la quatrième étude ont montré que, l'ajout d'EAS dans le dilueur du sperme des béliers traités par l'huile d'olive a augmenté la MT, la MP, la VCL, la VSL, la VAP, la LIN et la SRT chez les deux groupes d'âge. Une amélioration d'avantage de la LIN, la SRT et la WOB à 0h, ainsi de la MP, la MT, la VCL, la LIN et la WOB après 24h de conservation a été enregistrée chez le groupe âgé par rapport aux béliers matures. Ces résultats qui indiquent que le double traitement avait un impact positif plus important sur la qualité de conservation du sperme chez le groupe âgé en comparaison avec le groupe mature. Cela peut être attribué à l'effet synergique entre l'élévation de la teneur en lipides et l'effet protecteur des antioxydants d'EAS et des α -Tocophérols de l'huile d'olive.

Des résultats similaires ont démontré que la combinaison des AGPI et de vitamines E ou vitamines C dans les régimes alimentaires ou dans les dilueurs à un niveau approprié en fonction de chaque espèce, pourrait améliorer le pouvoir antioxydant du sperme en augmentant la teneur en SOD, TAC et SOD sérique et dans le plasma séminal, le maintien de l'intégrité membranaire des spermatozoïdes (Dolatpanah et al., 2008 ; Towhidi et al., 2013 ; Alizadeh et al., 2014 ; Jafaroghli et al., 2014), l'augmentation de la mobilité progressive des spermatozoïdes, la DHA, les (AGPI n-3) et diminuant la production de la MDA (Liu et al., 2015).

De même, l'ajout de la DHA et d'un antioxydant au dilueur pourrait améliorer la viabilité des spermatozoïdes cryoconservés en modifiant la composition lipidique des membranes (Nasiri et al., 2011).

Cependant, l'ajout d'EAS au sperme du groupe âgé dilué dans le SM, a montré une amélioration de la résistance à la conservation après 24h de stockage. Une amélioration d'avantage de la MT à 0h et de la MP après 24h de conservation chez le groupe âgé par apport au béliers matures a été notée.

Vue que la teneur en lipides des spermatozoïdes diminue avec l'âge chez plusieurs espèces (Blesbois et al., 2004 ; Castellano et al., 2011 ; Towhidi et al., 2012 ; Fair et al., 2014 ; Liu et al., 2015), ainsi qu'une diminution significative de la concentration en AGPI, de la motilité et du nombre des spermatozoïdes du sperme chez les taureaux âgés pendant la période de reproduction (Kelso et al., 1997).

Ces résultats suggèrent qu'on peut améliorer la qualité de production du sperme, ainsi que la composition du plasma séminal par la supplémentation alimentaire par l'huile d'olive en particulier la teneur en protéines et en lipides totaux, ce qui pourraient augmentés la résistance des spermatozoïdes à la conservation, en particulier avec l'ajout des antioxydants dans le milieu de conservations comme l'EAS, afin de protéger et /ou réparer les membranes des spermatozoïdes en particulier chez le groupe de béliers plus âgés lors de la conservation liquide à faible température.

D'autres études concernant l'incorporation d'AGPI dans la membrane des spermatozoïdes, avec une durée du traitement plus longue, ainsi l'utilisation du sperme des béliers âgés supplémenté par l'huile d'olive et conservé avec EAS dans l'IA serons nécessaires pour la confirmation.

Conclusion générale

La présente étude nous a permis d'avoir plusieurs informations sur la saisonnalité de la reproduction chez les béliers de la race Boujaâd. Notamment, l'étude de l'effet d'âge avancé sur la qualité de production et de la conservation du sperme. En plus, l'amélioration de la conservation du sperme par l'ajout d'extrait aqueux de safran et sa production par la supplémentation alimentaire en huile d'olive.

Les résultats, ont montré que les béliers de cette race présentent une saisonnalité non marquée de la reproduction, qui n'empêche pas l'utilisation du sperme de cette race durant toute l'année pour l'IA, de préférence pendant l'été et l'automne.

Notamment, la saison a affecté la circonférence scrotale, la composition du plasma séminale, la qualité du sperme et sa conservation à l'état liquide (à 15 °C). De même, l'âge avancé a affecté négativement la qualité de production du sperme à l'exception de la circonférence scrotale, le volume et la concentration des spermatozoïdes et sa conservation, ainsi la composition biochimique du plasma séminale.

En plus, une corrélation positive a été enregistrée entre la qualité de production du sperme, la composition biochimique du plasma séminale à savoir les teneurs en protéine totale, lipides totaux et cholestérol et la résistance des spermatozoïdes à la conservation.

En outre, nous avons constaté que, le Tris jaune d'œuf protège mieux contre le stress oxydatif alors que le Lait écrémé de vache conserve d'avantage la mobilité progressive et la linéarité des spermatozoïdes pendant la conservation liquide pendant 24h.

L'ajout d'extrait aqueux de safran dans le dilueur (TEY), a permis d'améliorer la résistance du sperme à la conservation en particulier la motilité progressive l'intégrité de la membrane la viabilité la linéarité la VSL et VAP, contre une diminution des valeurs de l'ALH et la MDA. Une réduction significative de l'effet âge enregistré pour la MP, la VCL, la VSL, la VAP, la LIN, la WOB, la VIAB, l'HOST et la MDA après 24h de conservation.

De même, l'ajout d'extrait aqueux de safran dans le dilueur (SM), a montré une amélioration significative de la VIAB, l'HOST, la MP, MT, VCL, VAP, VSL, LIN, la SRT, WOB et BCF contre une diminution de la MDA, avec une réduction significative de l'effet d'âge enregistré pour la MT et MP, contre une augmentation de cet effet pour la VCL, VSL et VAP et la VIAB.

Concernant la supplémentation alimentaire en huile d'olive, les résultats ont montré un effet significativement positif sur la production et la conservation du sperme.

Notamment, ce traitement a amélioré la concentration du sperme, la motilité individuelle et le volume d'éjaculat chez les deux groupes d'âge à partir de la deuxième semaine du traitement, la motilité massale après une semaine chez le groupe mature et après deux semaines chez le groupe âgé, la viabilité après deux semaines chez le groupe mature et après six semaines de traitement chez le groupe âgé, contre une diminution du pourcentage d'anomalies chez le groupe âgé après quatre semaines du traitement.

De même, après 24h de conservation, une augmentation significative de la MT à partir de la deuxième semaine et de la MP après une semaine de traitement chez les deux groupes. Des valeurs plus élevées ont été obtenues après deux semaines chez le groupe âgé et quatre semaines chez le groupe mature, ainsi sur la VCL, la VSL, la VAP et la BCF. En plus, le traitement alimentaire en huile d'olive a révélé un effet significativement positif sur la concentration en protéines et en lipides totaux.

L'amélioration de la résistance à la conservation par l'ajout d'EAS aux dilueurs (SM et TEY), ainsi l'amélioration de la production et la conservation par le traitement alimentaire en huile d'olive, a touché les deux groupes d'âges plus ou moins de la même manière.

Cependant, le double traitement (supplémentation alimentaire en huile d'olive, plus l'ajout d'EAS dans le dilueur), a amélioré significativement la résistance du sperme à la conservation en particulier chez le groupe âgé.

Notamment, l'ajout d'EAS au sperme des béliers traités par huile d'olive, a montré une amélioration significative de la MP, la VSL, la VAP, la LIN et la WOB, ainsi la VCL, la SRT et la MT, contre une diminution de l'ALH. Cependant, le groupe de béliers matures a montré une amélioration significative de la MP, la VSL, la SRT, la LIN, la MT et la VAP et une diminution de l'ALH, contre une amélioration significative de la MP, la LIN, la MT, la VCL, la VSL, la VAP, la SRT la WOB et une diminution de l'ALH en comparaison avec le groupe témoin. Ce qui révèle une amélioration d'avantage de la résistance du sperme de béliers âgés à la conservation par ce double traitement.

Perspectives

Les résultats présentés dans ce document sont très prometteurs pour la préparation des béliers que ce soit pour la lutte naturelle ou pour la production du sperme destiné à IA (in situ et ex situ). Cependant, nous proposons des perspectives pour exploiter les résultats obtenus qui sont articulés comme suite :

Les résultats obtenus in vitro dans ce document doivent être confirmés par des tests d'insémination artificielle chez les éleveurs.

Des études approfondies sur la recherche du principe actif présent dans le safran responsable de l'amélioration de la mobilité et de la diminution d'effet négatif des enzymes de coagulation du sperme avec le jaune d'œuf.

L'application d'EAS dans la cryoconservation du sperme de béliers traités par l'huile d'olive en particulier avec des dilueurs à base de jaune d'œuf et chez les béliers âgés.

ANNEXES :

Annexes 1 : Spécifications chimiques du safran en filaments coupés et en poudre.

Tableau : spécifications chimiques du safran en filaments, filaments coupés et en poudre

Caractéristiques	Spécifications			Méthodes d'essai
	Catégories			
	I	II	III	
Humidité et teneur en matières volatiles (fraction massique), %max				ISO 3632-2 2010, article 7
safran sous forme de filaments et filaments coupés	12	12	12	
safran sous forme de poudre	10	10	10	
Cendres totales (masse), sur matières sèche, % max	8	8	8	ISO 928 et ISO 3632-2 : 2010, article 12
Cendres insolubles dans l'acide (fraction massique), %, sur matières sèche, max	1,0	1,0	1,0	ISO 930 et ISO 3632-2 : 2010, article 13
Extrait soluble dans l'eau froide, (fraction massique), %, sur matière sèche, max	65	65	65	ISO 941 et ISO 3632-2 : 2010, article 11
Saveur amère (exprimé en picrocrocine) $E_{1cm}^{1\%}$ 257 nm, sur matière sèche, min (à cette longueur d'onde, l'absorbance de la picrocrocine est maximale)	70	55	40	ISO 3632-2 : 2010, article 14
Pouvoir aromatique (exprimé en safranal) $E_{1cm}^{1\%}$ 330nm, sur matière sèche, min max (à cette longueur d'onde, l'absorbance du safranal est maximale)	20 50	20 50	20 50	ISO 3632-2 : 2010, article 14
Pouvoir colorant (exprimé en crocine) $E_{1cm}^{1\%}$ 440 nm, sur matière sèche, min (à cette longueur d'onde, l'absorbance de la crocine est maximale)	200	170	120	ISO 3632-2 : 2010 : article 14
Colorants artificiels	absence	Absence	absence	ISO 3632-2 : 2010, article 16 et / ou 17

NOTE : des analyses complémentaires peuvent être réalisées (l'azote total et l'indice d'insoluble dit cellulosique), si nécessaire et si l'on dispose d'un échantillon suffisant.

Annexe 2 : Analyse du Safran de Taliouine.

SAFRAN DE TALIOUINE (MAROC) / Analyse de 5 échantillons + 1	
Lab. I.C.C.R.F. (Marseille, F) 03-01-2003	
Crocine (pouvoir colorant)	3 échantillons classés en Catégorie II 3 échantillons classés en Catégorie III
Observations:	pouvoir colorant moyen, correct
(la norme ISO compte 4 catégories)	
Picrocrocine (saveur)	6 échantillons classées en Catégorie I
Observations:	pouvoir gustatif excellent
(la norme ISO compte 4 catégories)	
Safranal (arôme)	6 valeurs comprises entre 27 et 35
Observations:	arôme satisfaisant
(la norme ISO indique min/max: 20/50)	

Annexe 3 : Le système d'analyse d'images automatisées CASA

➤ Les différents types de trajectoire d'un spermatozoïde

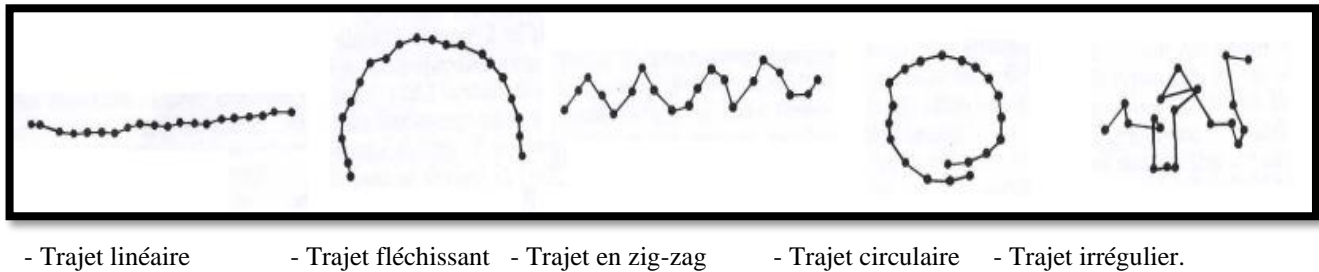


Figure 27 : Représentation de cinq types de trajets de spermatozoïdes de bélier (Varner et al., 1991)

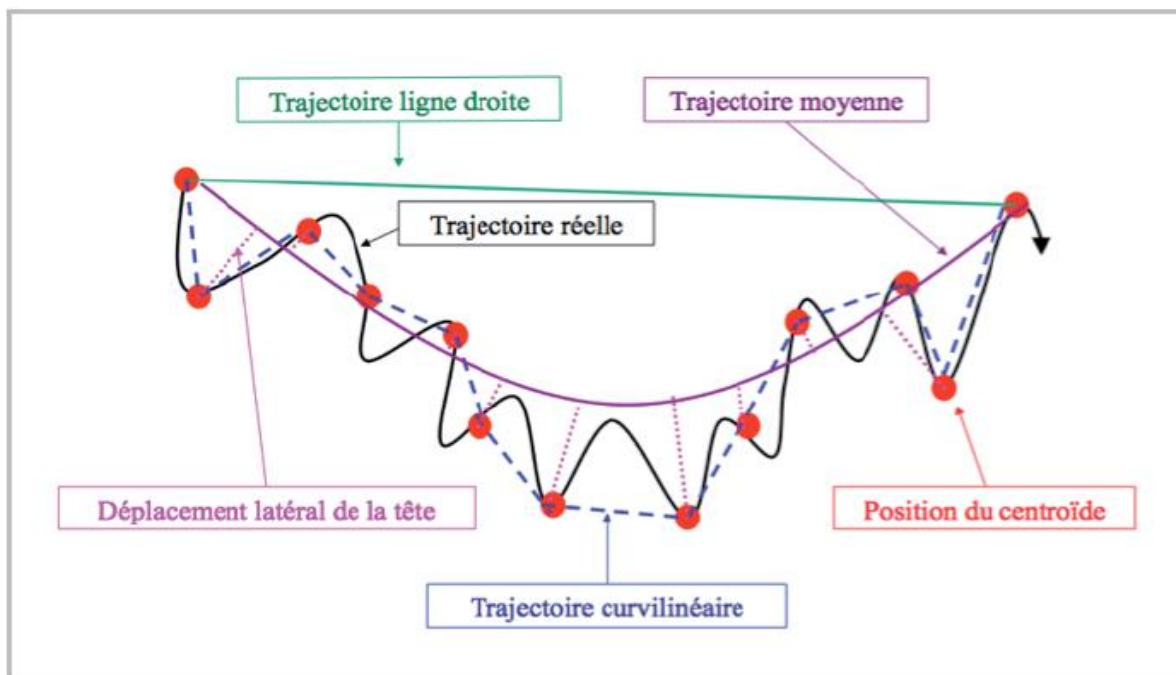


Figure 28 : Trajectoires analysées par les analyseurs de sperme assistés par ordinateur (computer assisted semen analyser, CASA). (Ponthier et al., 2014).

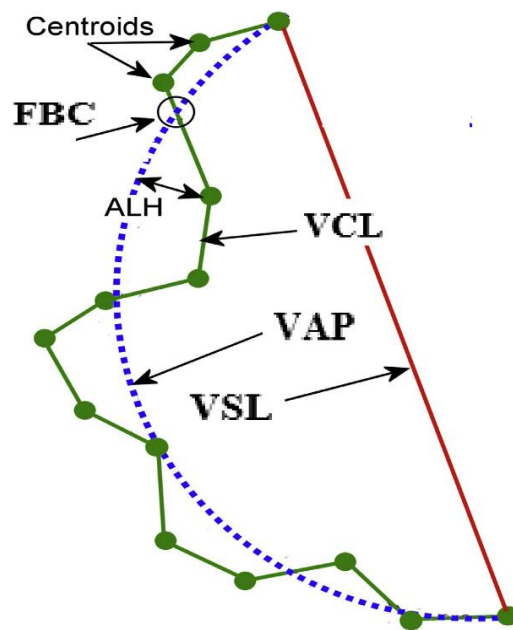


Figure 29 : Terminologie des différents paramètres mesurés par le système CASA (Amann et al., 2014)

Le système CASA permet de déterminer différentes formes de vitesse (Figure 29) à savoir :

-**VCL** = Vitesse curvilinéaire (en $\mu\text{m/s}$), elle représente la vitesse le long de la trajectoire réelle, mesurée entre chaque point de son déplacement.

-**VSL** = Vitesse linéaire droite (en $\mu\text{m/s}$). C'est la vitesse du spermatozoïde mesurée sur une trajectoire en ligne droite entre sa position initiale et sa position finale de son déplacement.

-**VAP** = vitesse de trajectoire moyenne (en $\mu\text{m/s}$). C'est la vitesse moyenne du spermatozoïde le long de sa trajectoire lissée du déplacement calculée et exprimée en tant que vitesse moyenne sur la trajectoire.

-La linéarité de la trajectoire (**LIN**) estime la proximité de la trace de la cellule par rapport à une ligne droite (VSL / VCL) et elle est exprimé en pourcentage.

-La rectitude (**STR**) c'est le pourcentage du ratio (VSL/VAP).

-**FBC**, c'est la fréquence de croisement de trajectoire (battements /s).

-**WOB**, c'est l'oscillation représentée par le pourcentage du ratio (VAP/VCL).

D'après la classification de l'OMS, la population globale de spermatozoïdes est subdivisée en quatre catégories selon que la valeur de la VAP est faible (LVV) ou moyenne (MVV) (Yeung et al., 1997) :

- 1) catégorie rapide quand $\text{VAP} > \text{MVV}$.
- 2) catégorie moyenne quand $\text{LVV} < \text{VAP} < \text{MVV}$.
- 3) catégorie lente quand $\text{VAP} < \text{LVV}$.

4) la catégorie statique constitué par la fraction de toutes les cellules qui ne bougent pas pendant l'analyse.

Par exemple, les Spz relativement rapides sont caractérisés par ($VCL, VAP, VSL > 100 \mu\text{m} / \text{s}$) avec une trajectoire linéaire ($LIN > 50\%$).

Les Spz ayant une $VAP \geq 75 \mu\text{m/s}$ et une $STR \geq 80\%$ présentent une motilité progressive. La motilité totale est exprimée en pourcentage de Spz ayant une $VCL > 15 \mu\text{m} / \text{s}$.

Publications & Communications

Les travaux de cette thèse, ont permis d'obtenir des publications dans des journaux indexés, des communications orales et affichées lors des congrès nationaux et internationaux :

A- Publications

❖ Publications en premier auteur :

- 1- **Badi, A.**, Benmoula, A., El Khalil, K., Allai, L., Essamadi, A., Nasser, B., El Amiri, B., 2018. **Does advanced age affect reproductive variables, semen composition, and liquid semen storage during different seasons in Boujaâd rams?** *Animal reproduction science*.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.004>
- 2- **Badi, A.**, Benmoula, A., El Khalil, K., Nasser, B., El Amiri, B., **Effect of age on Boujaâd ram semen quality extended in skim milk and tris egg yolk at 5°C.** *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* (2018) 6 (2): 220-225.
https://agrimaroc.org/index.php/Actes_IAVH2/article/download/602/609

❖ Publications en co-auteur dans le domaine de la conservation du sperme :

- 1- Allai, L., Druart, X., Contell, J., Louanjli, N., Moula, A.B., **Badi, A.**, Essamadi, A., Nasser, B., El Amiri, B., 2015. **Effect of argan oil on liquid storage of ram semen in Tris or skim milk based extenders.** *Anim. Reprod. Sci.* 160 : 57–67. doi:10.1016/j.anireprosci.2015.07.003.
- 2- Benmoula, A., **Badi, A.**, El Fadili, M., El Khalil, K., Allai, L., El Hilali, A., El Amiri, B., 2017. **Effect of season on scrotal circumference, semen characteristics, seminal plasma composition and spermatozoa motility during liquid storage in INRA180 rams.** *Anim. Reprod. Sci.* doi: 10.1016/j.anireprosci.2017.02.008
- 3- Benmoula, A., Allai, L. **Badi, A.**, El Khalil, K., El Amiri, B., 2018. **Effect of extender and storage temperature on sperm motility parameters of liquid ram semen.** *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6 (2 :) 211-219. <https://www.researchgate.net/publication/325757334>
- 4- Benmoula, A., **Badi, A.**, El Hilali, A., El Khalil, K., Allai, L., El Fadili, M., El Amiri, B., 2018. **In vitro evaluation of camel and cow milk as extenders for short-term storage of two ram breeds semen at 15°C.** *Journal of Livestock Science and Technologies.* 6 (1): 57-64. doi: 10.22103/jlst.2017.10987.1212

❖ Publications en co-auteur dans le domaine de la reproduction ovine :

- 1- EL khalil, K., Allai, L., Fatet, A., Benmoula, A., Hamidallah, N., **Badi, A.**, Moussafir, Z., Ibbelbachyr, M., El Amiri, B. **Morphometry and depth of inseminating catheter penetration in prolific and non- prolific ewes at different ages : A post mortem study.** *Animal Reproduction Science.* 196 : 43-47.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.017>

B- Communications Orales

➤ Communications orales en premier auteur :

1. **A. Badi**, A. Ben Moula., K. EL khalil., B. Nasser, B. El Amiri. **Effet du safran sur la conservation du sperme de bélier, dans le lait écrémé et dans le tris-jaune d'œuf à 15 °C.** *Colloque International : Substances Naturelles : Stress et métabolisme cellulaires – 15 et 16 décembre 2016 à FST de Settat.*
2. **A. Badi**^{1,2}, M. El Fadili³, B. Nasser², B. El Amiri¹. **Do advancing age, season and extender supplementation with aqueous extract of saffron influence the Boujaâd ram semen quality?** *(Summer school on reproduction in Call ruminants and dromedary: implications for livestock production. 24-25 October 2016. Rabat Morocco).*
3. **Badi, A.**, Ben Moula, A., EL Khalil, K., Allai, L., Nasser, B., El Amiri., B. **Effet de dilueurs sur la cryoconservation du sperme du bélier.** *Technique d'amélioration et maitrise de la production ovine juin-2017_ CRRA de SETTAT*
4. **Badi, A.**, Ben Moula, A., EL Khalil, K., Nasser, B., El Amiri., B. **Effet de la supplémentation alimentaire en huile d'olive sur la production et la conservation en frai du sperme de bélier de la race Boujaâd.** *2^{ème} journée nationale sur « bien-etre et benefices du dromadaire pour la sante humaine » faculté des Sciences Ben M'Sik à Casablanca Mercredi 19 Décembre 2017.*

➤ Communications orales en co-auteur :

1. Ben Moula, A., **Badi, A.**, El Fadili, M., El Hilali, A., EL khalil, K., Allai, L., El Amiri, B. **Seasonal changes of INRA-180 (an ovine breed) reproductive performances and semen quality after conservation** *(les ressources génétiques oasiennes 'rôles et enjeux pour la recherche et le développement. 29 et 30 mai 2015_ FST ERRACHIDIA)*
2. Ben Moula, A., **Badi, A.**, El Fadili, M., El Hilali, A., EL khalil, K., Allai, L., El Amiri, B. **La conservation de sperme de bélier avantages et défis** *(Technique d'amélioration et maitrise de la production ovine 13-03-2015_ CRRA de SETTAT).*
3. Ben Moula., A, **Badi, A.**, El Fadili, M., El Hilali, A., EL khalil, K., Allai, L., El Amiri, B. **Effet de lait de chamelle sur la conservation de sperme des bélier INRA-180 et Boujaâd à 15°C** *(Technique d'amélioration et maitrise de la production ovine 13-03-2015_ CRRA de SETTAT).*
4. Ben Moula, A., **Badi, A.**, El Hilali, A., EL khalil., K., Allai., L, El Amiri., B. **Le choix du dilueur vers une réparation du stress oxydatif chez le sperme du bélier congelé.** *Technique d'amélioration et maitrise de la production ovine juin-2017_ CRRA de SETTAT.*
5. 2^{ème} JOURNEE NATIONALE SUR « Bien-Etre Et Bénéfices Du Dromadaire Pour La Santé Humaine» Faculté des Sciences Ben M'Sik à Casablanca Mercredi 19 Décembre 2017.

-
6. Allai, L., Druart, X., Ben Moula, A., Ozturk, M., Ertas, A., **Badi, A.**, Louanjli, N., Contell, J., Essamadi, A., Nasser, B and El Amiri, B. **Could cactus extracts improve ram semen quality at 5°C in Skim milk extender ?** 2ème Édition du Congrès International « Substances Naturelles et Développement Durable (SNDD) », 19 au 21 Mai 2016 à la Faculté des Sciences Rabat.
 7. Allai, L., Druart, X., Contell, J., Louanjli, N., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Essamadi, A., Nasser, B et El Amiri, B. **L'effet de l'extrait éthanlolique de la raquette de cactus sur la conservation de la semence du bélier Boujaâd.** Journée porte ouverte. Centre régional de la Recherche Agronomique de Settât sur « Les techniques d'amélioration et de maîtrise de la reproduction ovine : contraintes d'adoption et perspectives » le jeudi 12 mars 2015.
 8. EL khalil, K., Allai, L., Fatet, A., Hamidallah, N., Ibelbachyr, M., Ben Moula, A., **Badi, A.**, B. El Amiri. **L'anatomie du col utérin chez les brebis Boujaâd et d'man : une contrainte majeure au développement de l'insémination artificielle** (Atelier sous le thème : les ressources génétiques oasiennes « Rôle et enjeux pour la recherche et développement » Le 29 et 30 /05/2015 FST ERRACHIDIA)
 9. EL khalil, K., Moussafir, Z., Allai, L., Fatet, A., Hamidallah, N., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Ibelbachyr, M., El Amiri, B. **L'étude de l'anatomie du col utérin et de scenarios de synchronisations chez la brebis Boujaâd vers la réussite de l'insémination artificielle.** Journée scientifique Nationale « Adaptation neurobiologiques du dromadaire, élevage camelin et intérêt des dosages radio-immunologiques » le 23/11/2016 FST BEN M'SIK Casablanca.
 10. El Amiri, B., Allai, L., Benmoula, A., **Badi, A.**, Essamadi, A., Nasser, B and Xavier Druart. **Fine-Tuning of Argan Oil Concentrations for a Better Liquid Storage of Boujaâd Ram Semen.** *Benefits of Argan Oil on Human Health— May 4–6 2017, Errachidia, Morocco*, "container-title": "International Journal of Molecular Sciences", "volume": "18", "issue": "7", "source": "PubMed.

C- Communications affichées

1. **Badi, A.**, Ben Moula, A., Nasser, B., El Khalil, K., Allai, L., El Amiri, B. **Effet de l'âge sur la conservation du sperme de bélier de race Boujaâd dans le lait écrème a 15°C.** 1er Colloque international "Santé, Environnement et Entreprise" FST MOUHAMEDIA le 21 et 22/11/2014
2. **Badi, A.**, Ben Moula, A., El Khalil, K., Allai, L., Nasser, B., El Amiri, B. **Effet de l'âge sur la conservation du sperme de bélier de race Boujaâd, dans le lait écrémé a 15°C.** Journée porte ouverte. Centre régional de la Recherche Agronomique de Settât sur « Les techniques d'amélioration et de maîtrise de la reproduction ovine : contraintes d'adoption et perspectives » le jeudi 12 mars 2015.
3. **Badi, A.**, El Fadili, M., Ben Moula, A., El Khalil, K., Allai, L., Nasser, B., El Amiri, B. **Effect of age and season on Boujaâd ram semen conserved in skim milk at 15°C.** *Renc. Rech. Ruminants*, 2016, 23-P130.
4. **Badi, A.**, Ben Moula, A., Hamidallah, N., El Khalil, K., Nasser, B and El Amiri, B. **Effect of Saffron extract on Boujaâd ram semen liquid storage.** 33rd Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE) ; Bath, UK, 8th and 9th, September.2017.

-
5. **Badi, A.**, Ben Moula, A., El Khalil, K., Allai, L., Nasser, B., El Amiri, B. **Effet de la saison sur la qualité de la semence de deux groupes d'âge de bélier de race Boujaâd.** *Le premier salon national professionnelle de Sardi.25-28 mars 2017.*
 6. **Badi, A.**, Ben Moula, A., El Khalil, K., Allai, L., Nasser, B., El Amiri, B. **Effect of saffron on the conservation of ram sperm in skimmed milk at 15 ° c, and the tris-yellow egg at 5 ° c.** *Le premier salon national professional de Sardi.25-28 mars 2017.*
 7. Ben Moula, A., **Badi, A.**, El Fadili, M., El Hilali, A., El Khalil, K., Allai, L., El Amiri, B. **Camel milk as an alternative to cow's milk for inra180 ram breed of sheep semen preservation at 15°C.** *Santé, Environnement et Entreprise" FST MOUHAMMEDIA le 21 et 22/11/2014*
 8. El Khalil, K., Hamidallah, N., Bendou, M., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Moussafir, Z., EL Amiri, B. **Impacte de l'alimentation sur la glycémie chez la brebis boujaad en fin de gestation et debut lactation.** *1er Colloque international "Santé, Environnement et Entreprise" FST MOUHAMMEDIA le 21 et 22/11/2014*
 9. EL Khalil, K., Allai, L., Fatet, A., Hamidallah, N., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Moussafir, Z., Inelbachyr, M., El Amiri, B. **L'anatomie du col utérin chez la brebis Boujaâd : un facteur qui peut entraver la réussite de l'insémination artificielle** (*Journée porte ouverte sur « techniques d'amélioration et Maitrise de la production ovine » CRRA Settat, le 12/03/2015*)
 10. Allai, L., Druart, X., Contell, J., Louanjli, N., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Essamadi, A., Nasser, B et El Amiri, B. **L'effet de l'extrait éthanolique de la raquette de cactus sur la conservation de la semence du bélier Boujaâd.** *Journée porte ouverte. Centre régional de la Recherche Agronomique de Settat sur « Les techniques d'amélioration et de maîtrise de la reproduction ovine : contraintes d'adoption et perspectives » CRRA Settat, le jeudi 12 mars 2015.*
 11. Allai, L., Druart, X., Contell, J., Louanjli, N., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Essamadi, A., Nasser, B et El Amiri, B. **Conservation de la semence du bélier Boujaâd par l'ajout des antioxydants naturelle.** *Journée porte ouverte. Centre régional de la Recherche Agronomique de Settat sur « Les techniques d'amélioration et de maîtrise de la reproduction ovine : contraintes d'adoption et perspectives » CRRA Settat, le jeudi 12 mars 2015.*
 12. El Khalil, K., Hamidallah, N., Ben Moula, A., Badi, A., Allai, L., El Amiri, B. **Impacte de l'alimentation sur la reproduction chez la brebis** (*Journée porte ouverte sur « techniques d'amélioration et Maitrise de la production ovine » CRRA Settat, le 12/03/2015*)
 13. Ben Moula, A., **Badi, A.**, El Fadili, M., El Khalil, K., El Hilali, A and El Amiri, B*. **Seminal plasma composition and its effect on spermatozoa during processing (Review).** *Colloque International : Substances Naturelles : Stress et métabolisme cellulaires ,15 et 16 décembre 2016 Settat*
 14. El Khalil, K., Ben Moula, A., Harrak, H., Hamidallah, N., **Badi, A.**, El Amiri, B*. **Effect of date palm pollen on female fertility.** *Colloque International de l'université Hassan I « Substances naturelles : Stress et métabolismes cellulaires » FST Settat le 15 et 16/12/2016*
 15. El Amiri, B., Ben Moula, A., **Badi, A.**, El Khalil, K., Allai, L., Gergatz, E., Gyökér, E., Otto, S. **Could an extra long-term boar semen extender be successfully used during liquid storage of ram semen at 15°C ?** *32nd Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE); Barcelona, Spain, September 9th and 10th, 2016*

-
16. Ben Moula, A., EL Fadili M., **Badi, A.**, EL Hilali A., EL Khalil, K., Allai, A., El Amiri B. **Seasonal variations of semen characteristics and concentrations of total proteins and lipids in seminal plasma of INRA180 rams.** *Renc. Rech. Ruminants, 2016, 23-P131.*
 17. Allai, L., Druart, X., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Louanjli, N., Contell, J., Essamadi, A., Nasser, B and El Amiri, B. **In Vitro Evaluation of ram semen stored at 5°C diluted in skim milk supplemented with Argan and Cactus seed oil.** *Substances Naturelles et Développement Durable (SNDD) .19 au 21 Mai 2016 à la Faculté des Sciences Mohammed V de Rabat.*
 18. Ben Moula, A., **Badi, A.**, Hamidallah, N., El Fadili, M., EL Khalil, K., El Hilali, A., El Amiri, B*. **Measurements of ram sperm quality under anaerobic and aerobic liquid storage conditions.** *33rd Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE); Bath, UK, 8th and 9th, September. 2017*
 19. EL Khalil, K., Hamidallah, N*., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Allai, L., Fatet, A., Ibelbachyr, M and El Amiri, B. **Comparative study of ewe's cervix anatomy of two Moroccan breed: A necessary step before the artificial insemination.** *33rd Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE); Bath, UK, 8th and 9th, September. 2017*
 20. El Amiri, B*., Ben Moula, A., Allai, L., **Badi, A.**, El Khalil, K and El Fadili, M. **What could be the impact of cervical mucus removal after oestrus synchronization on artificial insemination outcome in INRA180 prolific sheep?** *33rd Meeting of the European Embryo Transfer Association (AETE); Bath, UK, 8th and 9th, September. 2017*
 21. Ben Moula, A., EL khalil1, K., **Badi, A.**, Allai, L., El Fadili, M., El Hilali, A., El Amiri, B*. **Effet de la saison et de la fréquence de collecte sur la production et la conservation de sperme de bélier INRA180.** *Le premier salon national professionnelle de Sardi. 25-28 mars 2017*
 22. Ben Moula, A., EL khalil1, K., **Badi, A.**, Allai, L., El Fadili, M., El Hilali, A., El Amiri, B*. **La conservation de sperme et l'insémination artificielle dans la gestion de reproduction ovine.** *Le premier salon national professionnelle de Sardi. 25-28 mars 2017*
 23. El Amiri, B., Ben Moula, A., **Badi, A.**, Hamidallah, N., Allai, L., EL Khalil, K., Gergat, E., Gyökér, E., Szenci, O. **A set of conditions that could enhance fertility rates and litter size in Sardi Moroccan sheep after exo-cervical insemination.** *Proceedings of the 34rd Meeting of the Association of Embryo Transfer in Europe (AETE); Nantes, France, September 7th and 8th, 2018. Abstracts.*
 24. Ben Moula, A., El Amiri, B., **Badi, A.**, Allai, L., El Khalil, K., El Fadili, M. **"The post-thawing quality of INRA180 ram sperm held 4h at 15°C prior to cryopreservation".** *22nd Annual ESDAR Conference 2018 27-29 September 2018 in Córdoba/Spain.*
 25. El Amiri, B., Ben Moula, A., Allai, L., **Badi, A.**, El Khalil, K., El Fadili, M. **"Fine-tuning of estrus synchronization protocols to enhance the outcome of fertility rates in trans-cervically inseminated INRA180 ewes with or without mucus removal".** *22nd Annual ESDAR Conference 2018. 27-29 September 2018 in Córdoba/Spain*

Références Bibliographiques

- Abad, C., Amengual, M. J., Gosalvez, J., Coward, K., Hannaoui, N., Benet, J., ... & Prats, J., 2013. Effects of oral antioxidant treatment upon the dynamics of human sperm DNA fragmentation and subpopulations of sperm with highly degraded DNA. *Andrologia*. 45(3) : 211-216.
- Abayasekara, D. R. E., & Wathes, D. C., 1999. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*. 61(5) : 275–287.
- Abavisani, A., Arshami, J., Naserian, A.A., Kandelousi, M.A.S., Azizzadeh, M., 2013. Quality of bovine chilled or frozen-thawed semen after addition of omega-3 fatty acids supplementation to extender. *Int J Fertil Steril*. 7 : 161-8.
- Abdi-Benemar, H., Jafaroghli, M., Khalili, B., Zamiri, M.J., Ezazi, H., Shadparvar, A.A., 2015. Effects of DHA supplementation of the extender containing egg yolk and α -tocopherol on the freezability and post-thawing fertility of ram semen. *Small Rum Res*. 130:166–170.
- Abdi, K., Safarian, S., Esmaeili, N., & Ebrahimzadeh, H. 2011. Determination of some phenolic compounds in *Crocus sativus* L. corms and its antioxidant activities study. *Phar Mag*.7(25): 74.
- Abdullaev, F., Espinosa-Aguirre, J., 2004. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detec and Preven*. 28 (6): 426-432.
- Abecia, J.A., Arrébola, F., Macías, A., Laviña, A., González-Casquet, O., Benítez, F., Palacios, C., 2016. Temperature and rainfall are related to fertility rate after spring artificial insemination in small ruminants. *Int J Biometeorol*. 60: 1603–1609.
- Abella, D.F., Da Costa, M., Guerin, Y., Dacheux, J.L., 2015. Fertility of undiluted ram epididymal spermatozoa stored for several days at 4 °C. *Anim*. 9 : 313–319.
- Ackay, E., Reilas, T., Andersson, M., Katila, T., 2006. Effect of seminal plasma fractions on sperm survival after cooled storage. *J Vet Med*. A 53 : 481–485.
- Agarwal, V.K., Ram, L., Rai, A.K., Khanna, N.D., Agarwal, S.P., 2004. Physical and biochemical attributes of camel semen. *J Cam Res*. 1: 25.
- Agarwal, A., Said, T.M., Bedaiwy, M.A., Banerjee, J., Alvarez, J.G., 2006. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertil Steril*. 86:503-12.
- Agarwal, A., Makker, K., Sharma, R., 2008. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility an update. *Am J Reprod Immun*. 59: 2-11.
- Agarwal, A., and Sekhon, L. H., 2010. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Hum Fertil*. 13(4): 217–225.
- Agarwal, A., Durairajanayagam, D., Du Plessis, S.S., 2014a. Utility of antioxidants during assisted reproductive techniques: An evidence based review *Reprod. Biol. Endocrinol*. 12: 112.
- Agarwal, A., Ong, C., Durairajanayagam, D., 2014b. Contemporary and future insights into fertility preservation in male cancer patients. *Transl Androl Urol*. 3: 27–40.
- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., & du Plessis, S. S., 2014c. Effect of oxidative stress on male reproduction. *The world J of men's health*. 32(1): 1-17.
- Ahmed, T., Islam, R., Lone, F.A., Malik, A.A., 2016. Effect of washing on the post-thaw quality of cryopreserved ram epididymal spermatozoa. *Vet World*. 9 (5): 519-523.
- Aires, V.A., Hinsch, K.D., Mueller-Schloesser, F., Bogner, K., Mueller-Schloesser, S., Hinsch, E., 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk- based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Therio*. 60: 269-79.
- Aitken, R.J., Baker, M.A., 2004. Oxidative stress and male reproductive biology. *Reprod Fertil Dev*. 16: 581–588.
- Aitken, R., Smith, T., Jobling, M., Baker, M., & De Iuliis, G., 2014. Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J of Androl*. 16(1) : 31.
- Aitken, R. J., 2017. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Mol Reprod and Dev*. 84(10) : 1039–1052.
- Akhter, S., Ansari, M.S., Andrabi, S.M.H., Ullah, N., Qayyum, M., 2008. Effect of antibiotics in extender on

- bac-terial and spermatozoal quality of cooled buffalo (*Bubalus bubalis*) bull semen. *Reprod in Domc Anim.* 43: 272-278.
- Akhter, S., Ansari, M.S., Rakha, B.A., Ullah, N., Andrabi, S.M.H., Khalid, M., 2011. In Vitro Evaluation of Liquid-stored Buffalo Semen at 5 degrees C Diluted in Soya Lecithin Based Extender (Bioxcell (R)), Tris-Citric Egg Yolk, Skim Milk and Egg Yolk-Citrate Extenders. *Reprod Domc Anim.* 46(1): 45-9
- Al-Anazi, Y., Al-Mutary, M. G., Al-Ghadi, M., Alfuraiji, M. M., Al-Himaidi, A. R., & Ammari, A., 2017. Seasonal variations in scrotal circumference and semen characteristics of Naimi and Najdi rams in Saudi Arabia. *South African J of Anim Sci.* 47(4): 454-459.
- Alavizadeh, S.H., Hosseinzadeh, H., 2014. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food Chem Toxicol.* 64: 65-80.
- Al-Badry, K., Mohammed Al-Badrany, Q., Faisal Ibrahim, F., Yeedam Lateef, W., 2017. Effect of addition trehalose and steps of freezing on sperm properties of bull frozen in liquid nitrogen. *Int J Adv Res Biol Sci.* 4(4): 189-200
- Alcay, S., Toker, M.B., Gokce, E., Ustuner, B., Onder, N.T., Sagirkaya, H., Nur, Z. and Soyulu, M.K., 2015. Successful ram semen cryopreservation with lyophilized egg yolk-based extender. *Cryobiology.*71(2): 329-333.
- Alizadeh, A.R., Esmaceli, V., Shahverdi, A., Rashidi, L., 2014. Dietary fish oil can change sperm parameters and fatty acid profiles of ram sperm during oil consumption period and after removal of oil source. *Cell J.* 16 :289-98.
- Alkan, S., Baran, A., Ozdas, O.B., Evecen, M., 2002. Morphological defects in turkey semen. *Turk. J Vet Anim Sci.* 26:1087-1092.
- Al-kawmani, A.A., Alfuraiji, M.M., Abou-Tarboush, F.M., Alodan, M.A., Farah, M.A., 2014. Developmental changes in testicular interstitium in the Najdi Ram Lambs. *Saudi J Biol Sci.* 21 : 133-137.
- Allai, L., Druart, X., Contell, J., Louanjli, N., Benmoula, A., Badi, A., Essamadi, A., Nasser, B., El Amiri, B., 2015. Effect of argan oil on liquid storage of ram semen in Tris or skim milk-based extenders. *Anim Reprod Sci.* 160: 57-67.
- Allai, L., Druart, X., Öztürk, M., Benmoula, A., Nasser, B., El Amiri, B., 2016. Protective effects of *Opuntia ficus-indica* extract on ram sperm quality, lipid peroxidation and DNA fragmentation during liquid storage. *Anim Reprod Sci.* 175: 1-9.
- Allai, L., Druart, X., Louanjli, N., Contell, J., Nasser, B., EL Amiri, B., 2017. Improvements of ram semen quality using cactus seed oil during liquid preservation in Tris egg yolk and skim milk-based extenders. *Small Rum Res.* 151: 16-21.
- Allaoui, A., Safsaf, B., Laghrour, W., and Tlidjane, M. 2014. Factors Affecting Scrotal Measurements and Weight of Ouled Djellal Rams in Eastern and South-Eastern Algeria. *APCBEE Procedia.* 8: 260–265.
- Aller, J.F., Aguilar, D., Vera, T., Almeida, G.P., Alberio, R.H., 2012. Seasonal variation in sexual behavior, plasma testosterone and semen characteristics of Argentine Pampinta and Corriedale rams. *Span J Agric Res.* 10: 345-352.
- Almadaly, E.A., Farrag, F.A, Saadeldin, I.M., El-Magd, M.A., ElRazek, I.M.A., 2016. Relationship between total protein concentration of seminal plasma and sperm characteristics of highly fertile, fertile and subfertile Barki ram semen collected by electroejaculation. *Small Rum Res.* 144: 90-99.
- Almquist, J.O., Flipse, R.J., Thacker, D.L., 1954. Diluters for bovine semen. IV. Fertility of bovine spermatozoa in heated homogenized milk and skimmilk. *J Anim Sci.* 13: 1303-1307.
- Al-Somai, N., Vishwanath, R., Molan, P.C., Shannon, P., 1994. Anionic and cationic components from protein aggregates in bovine seminal plasma and their effects on sperm motility. *Mol Reprod Dev.* 39: 328-336.
- Amann, R. P., Hammerstedt, R. H., Veeramachaneni, D. N., 1993. The epididymis and sperm maturation: a perspective. *Reprod Fertil Dev.* 5(4) : 361–81.
- Amann, R.P., Katz, D.F., 2004. Reflections on CASA after 25 years. *J Androl.* 25:317–25.
- Amann, R. P., & Waberski, D., 2014. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Therio.* 81(1): 5-17.
- Amidi, F., Pazhohan, A., Shabani Nashtaei, M., Khodarahmian, M., Nekoonam, S., 2016. The role of antioxidants in sperm freezing: a review. *Cell Tissue Bank.* 17: 745-756.

- AminiPour, H., Tahmasbi, A.M., Naserian, A.A., 2013. The influence of vitamin E on semen characteristics of ghezel rams in during cooling and frozen proces. *Eur J Zool Res.* 2 : 94-99.
- Amiot, J., Fournier, S., Leboeuf, Y., Paquin, P. et Simpson, R., 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait. In : Lapoint-Vignola C. (Eds.), *Science et Technologie du lait : Transformation du lait*. Presse International Polytechnique, Québec.1-73.
- Amirat, L., Tainturier, D., Jeanneau, L., Thorin, C., Gérard, O., Courtens, J.L., Anton, M., 2004. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with Optidyl, a commercial egg yolk extender. *Therio.* 61 : 895-907.
- Amirat, L., Anton, M., Tainturier, D., Chatagnon, G.R., Battut, I., Courtens, J.L., 2005. Modifications of bull spermatozoa induced by three extenders: Biociphos, low density lipoprotein and Triladyl, before, during and after freezing and thawing. *Reprod.* 129 : 535-543.
- Anel, L., Alvarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E., de Paz, P., 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reprod Dome Anim.* 41: 30-42.
- Anand, M., Yadav, S., Shukla, P., 2014. Cryoprotectant in semen extender: From egg yolk to low-density lipoprotein (LDL). *Livestock Res Inter.* 1 2 (3): 48-53.
- Anand, M., Yadav, S., 2016. Assessment of motion and kinematic characteristics of frozen-thawed Sirohi goat semen using computer-assisted semen analysis. *Vet World.* 9: 203-206.
- Anand, M., Baghel, G. and Yadav, S., 2017. Effect of egg yolk concentration and washing on sperm quality following cryopreservation in Barbari buck semen. *J Appl Anim Res.* 45(1): 560-565.
- Ansari, M., Towhidi, A., Moradi Shahrabak, M. and Bahreini, M., 2012. Docosaehaenoic acid and alphatocopherol improve sperm cryosurvival in goat. *Slov J Anim Sci.* 45 : 7-13.
- Ansari, M.S., Rakha, B.A., Malik, M.F., Andrabi, S.M.H., Ullah, N., Iqbal, R., Holt, W.V. and Akhter, S., 2016. Effect of cysteine addition to the freezing extender on the progressive motility, viability, plasma membrane and DNA integrity of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *J Applied Anim Res.* 44(1): 36-41.
- Anton, M., 2007a. Low-density Lipoproteins (LDL) or Lipovitellenin Fraction. *Bioactive Egg Compounds.* 7-12.
- Anton, M., 2007b. High-density Lipoproteins (HDL) or Lipovitellin Fraction. *Bioactive Egg Compounds.* 13-16.
- Aquino-Cortez, A., Pinheiro, B.Q., Lima, D.B.C., Silva, H.V.R., Mota-Filho, A.C., Martins, J.A.M., Rodriguez-Villamil, P., Moura, A.A., Silva, L.D.M., 2017. Proteomic characterization of canine seminal plasma. *Therio.* 95: 178-186.
- Ardon, F. and Suarez, S. S., 2013. Cryopreservation increases coating of bull sperm by seminal plasma binder of sperm proteins BSP1, BSP3, and BSP5. *Reprod.* 146 (2) : 111-117.
- Argov, N., Sklan, D., Zeron, Y et Roth, Z., 2007. Association between seasonal changes in fatty acid composition, expression of VLDL receptor and bovine sperm quality. *Therio.* 67: 878-885.
- Arinola, O.G., Olaniyi, J.A. et Akiibinu, M.O., 2008. Evaluation of antioxidant levels and trace element status in Nigerian sickle cell disease patients with Plasmodium parasitaemia. *Pak J Nutr.* 7(6): 766-769.
- Armstrong, J. A., Cash, N. J., Ouyang, Y., Morton, J. C., Chvanov, M., Latawiec, D., ... Criddle, D. N., 2018. Oxidative stress alters mitochondrial bioenergetics and modifies pancreatic cell death independently of cyclophilin D, resulting in an apoptosis-to-necrosis shift. *J of Biol Chem.* 293(21): 8032-8047.
- Asadpour, R., Pourseif, M.M., Moghadam G., 2012. Effect of vitamin B12 addition to extenders on some physicochemical parameters of semen in crossbred rams. *Afr J Biotech.* 54: 11741-11745
- Asr Badr, Y. A., Sepehran, E., Azar, A., Sadeghi, H., & Nouri, M., 2017. The effect of saffron on semen analysis in infertile men with clinical varicocele after varicocelectomy. *Nephro-Urology Monthly.* 9.
- Augustin, M. A. & Oliver, C. M., 2014. Use of milk proteins for encapsulation of food ingredients, In A.G. Gaonkar, N. Vasisht, A. R. Khare and R. Sobel (eds) *Microencapsulation in the Food Industry: A Practical Implementation Guide.* 211-226. Waltham, MA: Academic Press.
- Aurich, C., Ortega Ferrusola, C., Peña Vega, F. J., Schrammel, N., Morcuende, D., & Aurich, J., 2018. Seasonal changes in the sperm fatty acid composition of Shetland pony stallions. *Therio.* 107: 149-153.

- Aydemir, B., Onaran, I., Kiziler, A. R., Alici, B., & Akyolcu, M. C., 2007. The Influence of Oxidative Damage on Viscosity of Seminal Fluid in Infertile Men. *J of Andro.* 29 (1): 41-46.
- Azawi, O.I., Ismaeel, M.A., 2012. Effects of seasons on some semen parameters and bacterial contaminations of Awassi ram semen. *Reprod Domc Anim.* 47: 403-406.
- Azawi, O.I., Hussein, E.K., 2013. Effect of vitamins C or E supplementation to Tris diluent on the semen quality of Awassi rams preserved at 5 °C. *Vet Res.* 4: 157-160.
- Baker, E.N., Baker, H.M., 2005. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin. *Cell Mol Life Sci.* 62: 2531–2539.
- Badr, M.R., Mary, G., Hassan, M.H., 2010. Effect of trehalose on cryopreservation, oxidative stress and DNA integrity of buffalo spermatozoa. *J Reprod Infert.* 1 :50-57
- Balthazart, J., Fabre-Nys, C., 2001. Le comportement sexuel. La reproduction chez les mammifères et l'Homme. *INRA Ellipse.* 2(27) : 611-637.
- Baghshahi, H., Riasi, A., Mahdavi, A.H., Shirazi, A., 2014. Antioxidant effects of clove bud (*Syzygium aromaticum*) extract used with different extenders on ram spermatozoa during cryopreservation. *Cryo.* 69 : 482-487.
- Banday, M. N., Lone, F. A., Rasool, F., Rashid, M., & Shikari, A., 2017. Use of antioxidants reduce lipid peroxidation and improve quality of crossbred ram sperm during its cryopreservation. *Cryo.* 74 : 25-30.
- Banerjee, P. P., Banerjee, S., Brown, T. R., & Zirkin, B. R., 2018. Androgen action in prostate function and disease. *American journal of clinical and experimental urology.* 6(2) : 62–77.
- Banihani, S., Agarwal, A., Sharma, R., & Bayachou, M., 2014. Cryoprotective effect of l-carnitine on motility, vitality and DNA oxidation of human spermatozoa. *Andrologia.* 46(6): 637-641.
- Banihani, S. A., 2017. Vitamin B12 and Semen Quality. *Biomolec.*7(4) : 42.
- Bansal, A.K., Bilaspuri, G., 2010. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int.*
- Barbas, J. P., Leahy, T., Horta, A. E., and García-Herreros, M., 2018. Sperm kinematics and subpopulational responses during the cryopreservation process in caprine ejaculates. *Cryobiology.* 82: 137-147.
- Barenton, B., & Pelletier, J., 1983. Seasonal Changes in Testicular Gonadotropin Receptors. *Endocrinology.* 112(4) : 1441-1446.
- Baril, G., et al., 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. *Etude FAO Production et Santé animale.* 83 : 1014-1137.
- Barranco, I., Tvarijonaviciute, A., Pérez-Patiño, C., Vicente-Carrillo, A., Parrilla, I., Ceron, J. J., Martinez, E. A., Rodriguez-Martinez, H., Roca, J., 2016. Glutathione peroxidase 5 is expressed by the entire pig male genital tract and once in the seminal plasma contributes to sperm survival and *in vivo* fertility. *PLoS One.* 11(9) : e0162958.
- Barrios, B., Perez-Pe, R., Gallego, M., Tato, A., Osada, J., Muino-Blanco, T., Cebrian-Perez, J.A., 2000. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biol Reprod.* 63 : 1531-1537.
- Baronne, R., 2001. Chapitre II : Appareil génital mâle. In : Anatomie compare des mammifères domestiques. Tome 4. *Splanchnographie II.* Vigot. 83-250.
- Batista, M., Nino, T., Santana, M., Alamo, D., Cabrera, F., Gonzalez, F., Gracia, A., 2014. Post-thaw quality of buck semen samples cooled at 5 degrees C up to 2 days before cryopreservation. *Small Rum Res.* 121: 101-105.
- Battellier, F., Magistrini, M., Fauquant, J., Palmer, E., 1997. Effect of milk fractions on survival of equine spermatozoa. *Therio.* 48: 391-417.
- Beccaglia, M., Anastasi, P., Chigioni, S., Luvoni, G.C., 2009. TRIS-lecithin extender supplemented with antioxidant catalase for chilling of canine semen. *Reprod Domc Anim.* 44 (2) : 345-349.
- Bechtold, D. A., & Loudon, A. S. I., 2007. Hypothalamic Thyroid Hormones: Mediators of Seasonal Physiology. *Endocrino.* 148(8) : 3605–3607.
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., Ghram, A., Dabbebi, H., Ben Mrad, M., Abdrabbah, M., 2014. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *Int J Hyperther.* 30 : 513–523.
- Belkadi, S., Safsaf, B., Heleili, N., Tlidjane, M., Belkacem, L., & Oucheriah, Y., 2017a. Seasonal influence

- on sperm parameters, scrotal measurements, and serum testosterone in Ouled Djellal breed rams in Algeria. *Vet world*. 10(12) : 1486-1492.
- Belkhir, Y., Bouzebda-Afri, F., Bouzebda, Z., Djaout, A., 2017b. Testicular morphometric measurements of Ouled Djellal lambs from birth to puberty. *Glob Vet*. 18(2) : 85-91.
- Belkhir, Y., Bouzebda-Afri, F., Bouzebda, Z and Mouffok, C., 2017a. Age and season effects on sexual parameters in mature rams used in artificial insemination centre (Algeria). *Glob Vet*.18(1) : 31-40.
- Belleanne, C., Thimon, V., Sullivan, R., 2012. Region-specific gene expression in the epididymis. *Cell Tissue Res*. 349 : 717–731.
- Ben Ali, H., 2013. Relation entre les caractéristiques du mouvement des spermatozoïdes humains et leur fixation à la zone pellucide. *J de Gynéco Obsté et Biol de La Reprod*. 42(1) : 49–55.
- Benmoula, A., Badi, A., El Fadili, M., El Khalil, K., Allai, L., El Hilali, A., El Amiri, B., 2017. Effect of season on scrotal circumference, semen characteristics, seminal plasma composition and spermatozoa motility during liquid storage in INRA180 rams. *Anim Reprod Sci*. 180: 17-22.
- Benmoula, A., Badi, A., Hilali, A., El Khalil, K., Allai, L., El Fadili, M., El Amiri, B., 2018a. Evaluation of camel milk as an extender for short-term storage of ram semen at 15°C. *J of Livest Sci and Tech*. 6 (1): 57-64.
- Benmoula, A., Allai, L., Badi, A., Khalil, K., El Amiri, B., 2018b. Effect of extender and storage temperature on sperm motility parameters of liquid ram semen.
- Bergeron, A., Manjunath, P., 2004. The mechanism of sperm protection by egg yolk low density lipoproteins. In: *Proceedings of the 20th NAAB technical conference on artificial insemination and reproduction; Milwaukee, WI, USA*. 68-75.
- Bergeron, A., Manjunath, P., 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Mol Reprod Dev*. 73: 1338-1344.
- Bergeron, A., Brindle, Y., Blondin, P., Manjunath, P., 2007. Milk caseins decrease the binding of the major bovine seminal plasma proteins to sperm and prevent lipid loss from the sperm membrane during sperm storage. *Biol Reprod*. 77: 120-126.
- Bergstein-Galan, T.G., Weiss, R.R., Bertol, M.A.F., Abreu, A., Busato, E., Kozicki, L.E., Bicudo, S.D., 2017. Quality and fertility of frozen ovine spermatozoa from epididymides stored at room temperature (18–25 °C) for up to 48 h post mortem. *Therio*. 96: 69–75.
- Bergstein-Galan, T.G., Weiss, R.R., Barbosa, T.S.R., Kozicki, L.E., & Bicudo, S.D., 2018. Viability of ovine spermatozoa collected from epididymides stored at 18°-25°C for 48 hours post mortem. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 70(4) : 1023-1028.
- Berlett, B. S., and Stadtman, E. R., 1997. Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *J of Bio Chem*. 272(33) : 20313–20316.
- Bernardini, A., Hozbor, F., Sanchez, E., Fornés, M. W., Alberio, R. H., & Cesari, A., 2011. Conserved ram seminal plasma proteins bind to the sperm membrane and repair cryopreservation damage. *Therio*.76(3) : 436-447.
- Bertol, M. A. F., Weiss, Romildo, R., Thomaz-Soccol, V., Kozicki, L. E., Fujita, A. S., de Abreu, R. A., & Green, K. T., 2013. Viability of bull spermatozoa collected from the epididymis stored at 18-20°C. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 56(5) : 777-783.
- Bhakat, M., Mohanty, T.K., Raina, V.S., Gupta, A.K., Khan, H.M., Mahapatra, R.K., Sarkar, M., 2011. Effect of age and season on semen quality parameters in Sahiwal bulls. *Trop Anim Health and Prod*.
- Bhandari, P.R., 2015. *Crocus sativus L. (saffron) for cancer chemoprevention: a mini review*. *J Tradit Compl Med*. 5: 81-87.
- Bielas, W., Nizański, W., Partyka, A., Rzaśa, A., Mordak, R., 2017. Effect of long-term storage in Safe Cell+ extender on boar sperm DNA integrity and other key sperm parameters. *Acta Vet Scand*. 59 : 58.
- Blache, D., Zhang, S., Martin, G.B., 2006. Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. *Reprod Nutr Dev*. 46: 379-390.
- Błaszczuk, M., Slanina, T., Massanyi, P., & Stawarz, R., 2013. Semen quality assessment of New Zealand white rabbit bucks. *The Journal of Microbiology, Biotech and Food Sci*. 2(1) : 1365–1376.
- Blesbois, E., Lessire, M., Grasseau, I., Hallouis, J. M., Hermier, D., 1997. Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Bio of Reprod*. 56(5) : 1216-1220.

- Blesbois, E., Douard, V., Germain, M., Boniface, P., Pellet, F., 2004. Effects of n-3 polyunsaturated dietary supplementation on the reproductive capacity of male turkeys. *Therio*. 61 : 537–549.
- Bliss, S. B., Voge, J. L., Hayden, S. S., Teague, S. R., Brinsko, S. P., Love, C. C., ... and Varner, D. D., 2012. The impact of cushioned centrifugation protocols on semen quality of stallions. *Therio*. 77(6): 1232-1239.
- Boe-Hansen, G.B., Ersbøll, A.K., Greve, T., Christensen, P., 2005. Increasing storage time of extended boar semen reduces sperm DNA integrity. *Therio*. 63 : 2006–2019.
- Boe-Hansen, G.B., Christensen, P., Vibjerg, D., Nielsen, M.B.F., Hedeboe, A.M., 2008. Sperm chromatin structure integrity in liquid stored boar semen and its relationships with field fertility. *Therio*. 69 : 728–736.
- Boskabady, M.H., & Farkhondeh, T., 2016. Antiinflammatory, Antioxidant, and Immunomodulatory Effects of *L. Crocus sativus* and its Main Constituents. *Phytotherapy Res*. 30(7): 1072-1094.
- Bostan, H.B., Mehri, S., Hosseinzadeh, H., 2017. Toxicology effects of saffron and its constituents: A review. *Iran J Basic Med Sci*. 20:110-121
- Boujenane, I., Ait Bihi, N., and Boukallouche, A., 1995. Amélioration génétique des ovins au Maroc. *Options méditerranéennes*. 11 : 109-119.
- Boukhliq, R., Martin, G.B., 1997. Nutrition and reproduction in the ram in a Mediterranean environment. *CIHEAM - Options Méditerranéennes*. 227-232.
- Boukhliq, R., 2002. Cours en ligne sur la reproduction ovine. Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II - MAROC.
- Boulanouar, B., et Paquay, R., 2006. L'élevage du mouton et ses systèmes de production au Maroc. *NADACOM*. 348.
- Bourfia, M., 1989. Sheep breeds in Morocco. In FAO (Ed.) *Small Ruminants in the Near East, Volume 111: North Africa*. FAO, Animal Production and Health, Paper No. 7447.
- Brinsko, S.P., Varner, D.D., Love, C.C., Blanchard, T.L., Day, B.C., Wilson, M.E., 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. *Therio*. 63 : 1519–1527.
- Broekhuijse, M.L., Sostaric, E., Feitsma, H., Gadella, B.M., 2011. Additional value of computer assisted semen analysis (CASA) compared to conventional motility assessments in pig artificial insemination. *Therio*. 76 : 1473–86.
- Broekhuijse, M. L. W. J., H. Feitsma, and B. M. Gadella. 2012. The value of microscopic semen motility assessment at collection for a commercial artificial insemination centre, a retrospective study on factors explaining variation in pig fertility. *Therio*. In press.
- Brown, B. W., 1994. A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams *Reprod. Nutr Dev*. 34 : 89-114.
- Brokaw, C. J., 1990. Computerized analysis of flagellar motility by digitization and fitting of film images with straight segments of equal length. *Cell Motil Cytoskeleton*. 17: 309–316.
- Bruneton, J., 2008. Acides phénols. In : *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 198-260.
- Bucak, M.N., Ateşşahin, A., Yüce, A., 2008. Effect of anti-oxidants and oxidative stress parameters on ram semen after the freeze–thawing process. *Small Rum Res*. 75: 128-134.
- Bucak, M.N., Tuncer, P.B., Sariözkan, S., Ulutaş, P.A., 2009. Comparison of the effects of glutamine and an amino acid solution on post-thawed ram sperm parameters, lipid peroxidation and anti-oxidant activities. *Small Rum Res*. 81: 13-17.
- Bucak, M.N., Cayan, K., Öztürk, C., Güngör, S., Omür, A.D., 2012. Methionine supplementation improves ram sperm parameters during liquid storage at 5°C. *Cryobiology*. 65: 335-337.
- Bucak, M.N., Keskin, N., Taşpınar, M., Çayan, K., Başpınar, N., Cenariu, M.C., Bilgili, A., Öztürk, C., Kurşunlu, A.N., 2013. Raffinose and hypotaurine improve the post-thawed Merino ram sperm parameters. *Cryobiology*. 67: 34-39.
- Buckett, W.M., Lewis-Jones, D.I., 2002. Fructose concentrations in seminal plasma from men with nonobstructive azoospermia. *Arch Androl*. 48 : 23–27
- Budworth, P.R., Amann, R.P., Chapman, P.L., 1988. Relationships between computerized measurements of motion of frozenthawed bull spermatozoa and fertility. *J Androl*. 9 : 41–54.

- Buhr, M., Curtis, E., Kakuda, N.S., 1994. Composition and behavior of head membrane lipids of fresh and cryopreserved boar sperm. *Cryobiology*. 31: 224-238.
- Bui, A. D., Sharma, R., Henkel, R., & Agarwal, A., 2018. Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility. *Andrologia*, e13012.
- Byrne, C. J., Fair, S., English, A. M., Holden, S. A., Dick, J. R., Lonergan, P., & Kenny, D. A., 2017. Dietary polyunsaturated fatty acid supplementation of young post-pubertal dairy bulls alters the fatty acid composition of seminal plasma and spermatozoa but has no effect on semen volume or sperm quality. *Therio*. 90 : 289–300.
- Caballero, I., Parrilla, I., Almiñana, C., del Olmo, D., Roca, J., Martínez, E.A., Vázquez, J.M., 2012. Seminal plasma proteins as modulators of the sperm function and their application in sperm biotechnologies. *Reprod Domc Anim*. 47: 12-21.
- Cabrera, F., González, F., Batista, M., Calero, P., Medrano, A., Gracia, A., 2005. The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary buck (*Capra hircus*). *Reprod. Domest. Anim*. 40: 191-195.
- Canabate-Diaz, B., Carretero, A. S., Fernandez-Gutierrez, A., Vega, A. B., Frenich, A. G., Vidal, J. L. M., et al. 2007. Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chem*. 102, 593–598.
- Carvajal-Serna, M., Cardozo, J. A., Grajales-Lombana, H., Cebrián-Pérez, J. A., and Muiño-Blanco, T., 2018. Sperm quality and seminal plasma proteins in three sheep breeds under high altitude and tropical conditions. *Spanish J of Agr Res*. 16(2): 0403.
- Castellano, C.A., Audet, I., Bailey, J.L., Laforest, J.P., Matte, J.J., 2010a. Dietary omega-3 fatty acids (fish oils) have limited effects on boar semen stored at 17 °C or cryopreserved. *Theriogenology*. 74: 1482-1490.
- Castellano, C.A., Audet, I., Bailey, J.L., Laforest, J.P. and Matte, J.J., 2010b. Effect of dietary omega-3 fatty acids (fish oils) on boar reproduction and semen quality. *J of Anim Sci*. 88: 2346–55.
- Castellano, C. A., Audet, I., Laforest, J. P., Matte, J. J., Suh, M., 2011. Fish oil diets alter the phospholipid balance, fatty acid composition, and steroid hormone concentrations in testes of adult pigs. *Therio*. 76(6) : 1134-1145.
- Cayot, P. and Lorient, D., 1998. Les propriétés d'hydratation des protéines. Structures et technofonctions des protéines du lait. 209-227.
- Chanasattru, W., Jones, O. G., Decker, E. A. & McClements, D. J., 2009. Impact of cosolvents on formation and properties of biopolymer nanoparticles formed by heat treatment of β lactoglobulin–Pectin complexes. *Food Hydrocoll*. 23: 2450-2457.
- Cevik, M., Tuncer, P.B., Tasdemir, U., O'zgu'rtas, T., 2007. Comparison of spermatological characteristics and biochemical seminal plasma parameters of normozoospermic and oligoasthenozoospermic bulls of two breeds. *Turk J Vet Anim Sci*. 31:381–387.
- Cheah, Y. and Yang, W., 2011. Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Adv Biosci Biot*, 2: 182-197.
- Chella, L., Kunene, N., Lehloeny, K., 2017. A comparative study on the quality of semen from Zulu rams at various ages and during different seasons in KwaZulu- Natal., South Africa. *Small Rum Res*. 151 : 104-109.
- Chelucci, S., Pasciu, V., Succu, S., Addis, D., Leoni, G. G., Manca, M. E., ... & Berlinguer, F., 2015. Soybean lecithin-based extender preserves spermatozoa membrane integrity and fertilizing potential during goat semen cryopreservation. *Therio*. 83(6) : 1064-1074.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A., Guérin, Y., Ravault, J.P., Thimonier, J., Pelletier, J., 1992. Control of sheep and goat's reproduction: use of light and melatonin. *Anim Reprod Sci*. 30: 157-184.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Pelletier, J., Leboeuf, B., Delgadillo, J.A., Deletang, F., Pobel, T., Brice, G., 1996b. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA Prod Anim*. 9 (1) : 45-60
- Chen, H., Hardy, M.P., Huhtaniemi, I., Zirkin, B.R., 1994. Age-related decreased Leydig cell testosterone production in the brown Norway rat. *J. Androl*. 15 : 551-557.

- Chen, S. J., Allam, J. P., Duan, Y. G., Haidl, G., 2013. Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches. *Archives of gynecology and obstetrics*. 288(1): 191-199.
- Chia, S.E., Ong, C.N., Chua, L.H., Ho, L.M., Tay, S.K., 2000. Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J Androl*. 21(1) : 53-7.
- Chikhi, A., Boujnane, I., 2003. Performances de reproduction et de production des ovins de la race. Boujaâd au Maroc. *Revue Elev Méd Vét Pays Trop*. 56 : 83-88.
- Chikhi, A., Boujenane, I., 2005. Performances d'enrichissement et caractéristiques descarcasses des agneaux boujaâd et sardi au maroc. *revue elev. méd. vét. pays trop*.58 (4) : 267-2722.
- Choong, C.H., Wales, R.G., 1962. The effect of cold shock on spermatozoa. *Aust J Biol Sci*, 15: 543-551.
- Choong, C.H., Wales, R.G., 1963. The use of various diluents for deep-freezing bull spermatozoa. *Aust J Biol Sci*. 16: 896-904.
- Colás, C., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., 2009. Changes in actin distribution of ram spermatozoa under different experimental conditions. *Reprod Domc Anim*. 44: 221-227.
- Clermont, Y., Lalli, M., Bencsath-Makkai, Z., 2009. Light-microscopic histology atlas.
- Colas, G., Dauzier, L., Courot, M., Ortavant, R., Signoret, J.P., 1968. Résultats obtenus au cours de l'étude de quelques facteurs importants de l'insémination artificielle ovine. *Annales de zootechnie*. 17 : 47-57.
- Colás, C., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., 2009. Changes in actin distribution of ram spermatozoa under different experimental conditions. *Reprod Domest Anim*. 44: 221-227.
- Considine, T., Flanagan, J. & Loveday, S. M., 2014. Interactions between Milk Proteins and Micronutrients. *Food Sci and Techno-Int Series*. 421-449.
- Cornwall, G.A., 2014. Role of posttranslational protein modifications in epididymal sperm maturation and extracellular quality control. *Adv Exp Med Biol*. 759:159-180.
- Counis, R., Combarnous, Y., Chabot, V., Taragnat, C., 2001. Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires. In Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), *la reproduction chez les mammifères et l'Homme*. 65-84. Coédition INRA-Ellipses.
- Covas, M. I., Ruiz-Gutierrez, V., de la Torre, R., Kafatos, A., LamuelaRaventos, R. M., Osada, J., et al. 2006. Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. *Nutr. Rev*. 64, S20–S30.
- Covas, M. I., 2008. Bioactive effects of olive oil phenolic compounds in humans: reduction of heart disease factors and oxidative damage. *Inflammopharmacology* 16, 216–218.
- Coyan, K., Başpınar, N., Bucak, M.N., Akalın, P.P., Ataman, M.B., Omür, A.D., Güngör, S., Küçükğünay, S., Ozkalp, B., Sariözkan, S., 2010. Influence of methionine and dithioerythritol on sperm motility, lipid peroxidation and antioxidant capacities during liquid storage of ram semen. *Res Vet Sci*. 89: 426-431.
- Çoyan, K., Başpınar, N., Bucak, M.N., Akalın, P.P., 2011. Effects of cysteine and ergothioneine on post-thawed Merino ram sperm and biochemical parameters. *Cryobiol*. 63: 1-6.
- Cross, N.L., 1998. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol Reprod*. 59: 7-11.
- Crozier, A., 2003. Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*. Ed. Goldberg. 27- 48.
- Crowe, J.H., Crowe, L.M., Oliver, A.E., Tsvetkova, N., Wolkers, W., and Tablin, F., 2001. The trehalose myth revisited: introduction to a symposium on stabilization of cells in the dry state. *Cryo*. 43 : 89–105.
- Crowther, J. M., Jameson, G. B. and Dobson, A. J. H., et Structure, R.C.J., 2016. Oligomerisation and Interactions of β -Lactoglobulin.
- Cseh, S., Faigl, V., Amiridis, G.S., 2012. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Anim Reprod Sci* .130: 187-92.
- Cummins, J.M., Woodall, P.F., 1985. On mammalian sperm dimensions. *J Reprod Fertil*. 75(1) : 153–75.
- Cunha, A. T. M., Carvalho, J. O., Guimarães, A. L. S., Leme, L. O., Caixeta, F. M., Viana, J. H. M., & Dode, M. A. N., 2019. Bovine epididymal spermatozoa treatment for in vitro fertilization : Heparin accelerates fertilization and enables a reduction in coincubation time. *Plos one*. 14(1) : e0209692.
- Dacheux, F., Dacheux, J.L., 2001. L'épididyme et les glands annexes. In Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), *la reproduction chez les mammifères et l'Homme*. 290-315. Coédition INRA-Ellipses.

- Dacheux, J.L., Belleanne, C., Guyonnet, B., Labas, V., Teixeira-Gomes, A.P., Ecroyd, H., Druart, X., Gatti, J.L., Dacheux, F., 2012. The contribution of proteomics to understanding epididymal maturation of mammalian spermatozoa. *Syst Biol Reprod Med.* 58 : 197-210.
- Dacheux, J.L., Dacheux, F., 2013. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. *Reprod.* 147 : 13-0420.
- Dacheux, J.L., Dacheux, F., Druart, X., 2016. Epididymal protein markers and fertility. *Anim Reprod Sci.* 169 : 76-87.
- Dagleish, D. G., Spagnuolo, P. A. Goff, H. D., 2004. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy . *International Dairy Journal.* 14: 1025 – 31.
- Dagleish, D. G., 2011. On the structural models of bovine casein micelles-review and possible improvements. *Soft Matter.* 7: 2265-2272.
- Dalimata, A.M., and Graham, J.K., 1997. Cryopreservation of rabbit spermatozoa using acetamide in combination with trehalose and methyl cellulose. *Therio.* 48(5) : 831- 841.
- D'Amours, O., Frenette, G., Fortier, M., Leclerc, P., Sullivan, R., 2010. Proteomic comparison of detergent-extracted sperm proteins from bulls with different fertility indexes. *Reprod.* 139: 545-556.
- Davis, B. K., Byrne, R., Bedigian, K., 1980. Studies on the mechanism of capacitation: albumin-mediated changes in plasma membrane lipids during in vitro incubation of rat sperm cells. *Proceedings of the national academy of sciences.* 77(3) : 1546-1550.
- Davis, B.K., 1981. Timing of fertilization in mammals: sperm cholesterol/phospholipid ratio as a determinant of the capacitation interval. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 78: 7560-7564.
- David, I., Kohnke, P., Lagriffoul, G., Praud, O., Plouarboue, F., Degond, P., Druart, X., 2015. Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Anim Repr Sci.* 161: 75–81.
- Del Prete, C., Ciani, F., Tafuri, S., Pasolini, M. P., Della Valle, G., Palumbo, V., ... Cocchia, N., 2018. Effect of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase supplementation in the extender on chilled semen of fertile and hypofertile dogs. *J of Vet Sci.* 19(5) : 667.
- Del Valle, I., Souter, A., Maxwell, W.M.C., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., 2013. Function of ram spermatozoa frozen in diluents supplemented with casein and vegetable oils. *Anim Repr Sci.* 138 : 213-219.
- De Menezes, E.B., van Tilburg, M., Plante, G., de Oliveira, R.V., Moura, A.A., & Manjunath, P., 2016. Milk proteins interact with goat Binder of SPerm (BSP) proteins and decrease their binding to sperm. *Cell and tissue Res.* 366(2): 427-442.
- De Paz, P., Estes, M.C., Alvarez, M., Mata, M., Chamorro, C.A., Anel, L., 2010. Development of extender based on soybean lecithin for its application in liquid ram semen. *Therio.* 74 : 663-671.
- Díaz, R., Torres, M.A., Bravo, S., Sanchez, R., Sepúlveda, N., 2015. Determination of fatty acid profile in ram spermatozoa and seminal plasma. *Andrologia.* 48(6) : 723-26.
- Díaz, R., Torres, M. A., Paz, E., Quiñones, J., Bravo, S., Farías, J. G., & Sepúlveda, N., 2017. Dietary inclusion of fish oil changes the semen lipid composition but does not improve the post-thaw semen quality of ram spermatozoa. *Animal Reproduction Science.* 183 : 132-142.
- Didion, B.A., 2008. Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. *Therio.* 70: 1374–1376.
- Dogan, I., Nur, Z., Polat, U., 2009. Correlations between seminal plasma enzyme activities and semen parameters in seminal fluid of Arabian horses. *Iran. J Vet Res.* 10 : 119-124.
- Dolatpanah, M.B., Towhidi, A., Farshad, A., Rashidi, A., Rezayazdi, A., 2008. Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. *Asian-Australas J Anim Sci.* 21 : 29-34.
- Dominguez, M.P., Falcinelli, A., Hozbor, F., Sanchez, E., Cesari, A., Alberio, R.H., 2008. Seasonal variations in the composition of ram seminal plasma and its effect on frozen –thawed ram sperm. *Therio.* 69 : 564-573.
- Dong, Q., and VandeVoort, C. A., 2009. Effect of egg yolk on cryopreservation of rhesus monkey ejaculated and epididymal sperm. *J of andrology.* 30(3): 309-316.
- Dong, Q., Correa, L. M., VandeVoort, C. A., 2009. Rhesus monkey sperm cryopreservation with TEST-yolk extender in the absence of permeable cryoprotectant. *Cryobiol.* 58(1): 20–27.
- Douet, D.G. N., 2000. Congélation de sperme de mammifères, application aux antilopes. Thèse Docteur vétérinaire. Ecole nationale de Nantes. 111.

- Druart, X., Guerin, J.L. Gatti, J.L. Dacheux., 2009. Conservation de la semence ovine. *INRA Prod Anim.* 22 : 91-96.
- Druart, X., Rickard, J.P., Mactier, S., Kohnke, P.L., Kershaw-Young, C.M., Bathgate, R., Gibb, Z., Crossett, B., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Grupen, C.G., de Graaf, S.P., 2013. Proteomic characterization and cross species comparison of mammalian seminal plasma. *J. Proteom.* 91 : 13-22.
- Druart, X., and de Graaf, S., 2018. Seminal plasma proteomes and sperm fertility. *Anim Repr Sci.* 194 : 33-40.
- Du Plessis, S.S., Makker, .K, Desai, N.R., Agarwal, A., 2008. Impact of oxidative stress on IVF. *Exp Rev Obstet Gynecol.*3:539-54.
- Du Plessis, S.S., Hagenaar, K., Lampiao, F., 2010. The in vitro effects of melatonin on human sperm function and its scavenging activities on NO and ROS. *Andrologia.* 42 : 112 e 6.
- Du Plessis, S. S., Agarwal, A., Halabi, J., Tvrda, E., 2015. Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics,* 32, 509–520.
- Dziekońska, A., Fraser, L., Majewska, A., Lecewicz, M., Zasiadczyk, L., Kordan, W., 2013. Effect of commercial long-term extenders on metabolic activity and membrane integrity of boar spermatozoa stored at 17°C. *Polish Journal of Vet Sci Vol.* 16 (3) : 517–525.
- Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., and Yousefzadi, M., 2008. Essentiel oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. *Food chem.* 110: 927-931.
- Eduardo Villena, F., Jose Jimenez, R.M., Mendoza, E., Lopez, J.C., 2003. *Technicien en élevage.* Editions Cultural, S.A Tome2, Madrid – Espagne. 226.
- Eggert-Kruse, W., Zwick, E.M., Batschulat, K., Rohr, G., Armbruster, F.P., Petzoldt, D., et al., 2002. Are zinc levels in seminal plasma associated with seminal leukocytes and other determinants of semen quality? *Fertil Steril.* 77(2): 260-9.
- Eghbali, M., Alvi-Shoushtari, S.M., Rezaii, S.A., 2008. Effects of copper and superoxide dismutase content of seminal plasma on buffalo semen characteristics. *Pak J Biol Sci.* 11:1964–1968.
- El-Badry, D. A., Abo El-Maaty, A. M., El Sisy, G. A., 2017. The Effect of Trehalose Supplementation of INRA-82 Extender on Quality and Fertility of Cooled and Frozen-Thawed Stallion Spermatozoa. *J of Equi Veter Sci.* 48 : 86–92.
- El-Sharkawy, A.A., Hattab, S.A., Ghanema, I.I., El-Garhy, M.N., Soliman, M.K., El-Badry, D.A., 2016. Effect of Different Semen Extenders on Post-Thawing Activity of Arabian Stallion Spermatozoa. *Alexandria J of Vet Sci.* 51(2) : 178-182.
- El-Sheshtawy, R. I., Sisy, G. A., & El-Nattat, W. S., 2015. Effects of different concentrations of sucrose or trehalose on the post-thawing quality of cattle bull semen. *Asian Pacific J of Reprod.* 4(1) : 26–31.
- El-Sisy, G. A., El-Nattat, W. S., El-Sheshtawy, R. I., & Abo El-Maaty, A. M., 2016a. Substitution of egg yolk with different concentrations of soybean lecithin in tris-based extender during bulls' semen preservability. *Asian Pacific J of Reprod.* 5(6): 514–518.
- El-Sisy, G. A., Shahba, M. I., & El-Sheshtawy, R. I., 2016b. Freezability of buffalo semen with TRIS extender enriched with disaccharides (trehalose or sucrose) and different glycerol concentrations. *Asian Pacific J of Reprod.* 5(5) : 416–418.
- Elzanaty, S., 2007. Association between Age and Epididymal and Accessory Sex Gland Function and their Relation to Sperm Motility. *Arch of Andro.* 53(3) : 149–156.
- Esmaeili, V., Shahverdi, A.H., Alizadeh, A.R., Alipour, H., Chehraz, M., 2014. Saturated, omega-6 and omega-3 dietary fatty acid effects on the characteristics of fresh, frozen-thawed semen and blood parameters in rams. *Andro.* 46 : 42–49.
- Esmaeili, V., Shahverdi, A. H., Moghadasian, M. H., Alizadeh, A. R., 2015. Dietary fatty acids affect semen quality: a review. *Androl.* 3(3) : 450–461.
- Esposito, E., Roti/i, D., Di Matteo, V., Di Giu/i, C., Cacchio, M., et A/geri, S., 2002. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical/ mechanisms re/ated to neurodegenerative processes. *Neuro of Aging.* 23: 719-735.
- Etim, N. N., 2015. Physiological relationship between scrotal morphometric characteristics and reproductive efficiencies of rams. *Am J Agric Sci.* 2(4) :150-4.

- Fair, S., Doyle, D.N., Diskin, M.G., Hennessy, A.A., Kenny, D.A., 2014. The effect of dietary *n-3* polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. *Therio.* 81 : 210-9.
- Fallah, A., Mohammad-Hasani, A., Hosseinzadeh Colagar, A., 2018. Zinc is an Essential Element for Male Fertility: A Review of Zn Roles in Men's Health, Germination, Sperm Quality, and Fertilization. *J Rep Inf.*19(2) : 69-81.
- Falsig, A. M. L., Glerup, C. S., Knudsen, U. B., 2019. The influence of omega-3 fatty acids on semen quality markers : a systematic Prisma review. *Andrology.*
- Fang, Y., Zhong, R., Zhang, X., Zhang, J., & Zhou, D., 2018. Boar seminal plasma inhibits cryo-capacitation of frozen-thawed ram sperm and improves fertility following intracervical insemination. *Therio.*105: 84-89.
- Favier, A., 2006. Oxidative stress in human diseases. *Ann. Pharm. Fr.* 64 : 390-396.
- Fawcett, D.W., 1970. A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol Reprod Suppl.* 2 : 90–127.
- Flesh, F.M., Gadella, B.M., 2000. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta.* 1469 :197–235.
- Flipse, R.J., 1960. Metabolism of bovine semen IX glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase activities. *J Dairy Sci.* 43 : 773–776.
- Focșăneanu, V., Bogdan, L., Andrei, S., Bogdan, S., Blaga Petrean, A., 2014. Performance of some variables used as a procedure for estimating sexual capacity (fertility) of the ram. *Vet. Med.* 71: 52-58.
- Forouzanfar, M., Sharafi, M., Hosseini, S.M., Ostadhosseini, S., Hajian, M., Hosseini, L., Abedi, P., Nili, N., Rahmani, H.R., Nasr-Esfahani, M.H., 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Therio.* 73: 480-487.
- Foulkes, J.A., 1977. The separation of lipoproteins from egg yolk and their effect on the motility and integrity of bovine spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 49: 277-284.
- Foulkes, J.A., Sweasey, D., Goodey, R.G., 1980. Fertility of bull spermatozoa in egg-yolk diluents of varied lipid fatty acid composition. *J. Rep Fertil.* 60 : 165-169.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H., 2017. Chemistry of Milk Constituents. in *Fundamentals of Cheese Sci.* 71-104.
- Fraser, L., Strzeżek, J., Filipowicz, K., Mogielnicka-Brzozowska, M., Zasiadczyk, L., 2016. Age and seasonal-dependent variations in the biochemical composition of boar semen. *Therio.* 86: 806-816.
- Fraser, L., Strzeżek, J., Wasilewska, K., and Pareek, C. S., 2017. Sperm DNA damage in relation to lipid peroxidation following freezing-thawing of boar semen. *South Afr J of Anim Sci.* 47(2): 213.
- Fukui, Y., Kohno, H., Togari, T., & HIWASA, M., 2007. Fertility of ewes inseminated intrauterinally with frozen semen using extender containing bovine serum albumin. *J of Reprod and Dev.*
- Gączarzewicz, D., Udała, J., Piasecka, M., Błaszczuk, B., Stankiewicz, T., 2015. Storage temperature of boar semen and its relationship to changes in sperm plasma membrane integrity, mitochondrial membrane potential, and oxidoreductive capability. *Turk J Biol.* 39 : 582–594.
- Gadea, J., 2003. Semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Span J Agric Res.* 1 : 17–27.
- Gadea, J., 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Therio.* 63 : 431–444.
- Gadella, B.M., 2008. Sperm membrane physiology and relevance for fertilization. *Anim Reprod Sci* 107, 229–236.
- Gadella, B.M., 2017. Reproductive tract modifications of the boar sperm surface. *Mol Reprod Dev.* 84: 822-831.
- Gage, M.J., 1998. Mammalian sperm morphometry. *Proc Biol Sci.* 22:97–103.
- García-Contreras, A., De Loera, Y., García-Artiga, C., Palomo, A., Guevara, J.A., Herrera-Haro, J., et al., 2011. Elevated dietary intake of Zn-methionate is associated with increased sperm DNA fragmentation in the boar. *Rep Toxicol.*31(4): 570-3.
- Garde, J. J., Del Olmo, A., Soler, A. J., Espeso, G., Gomendio, M., & Roldan, E. R. S., 2008. Effect of egg yolk, cryoprotectant, and various sugars on semen cryopreservation in endangered Cuvier's gazelle (*Gazella cuvieri*). *Anim reprod sci.* 108(3-4): 384-401.
- Gavella, M., Lipovac, V., 1998. In vitro effect of zinc on oxidative changes in human semen. *Andrologia.* 30 : 317–323.

- Genovese, P., Núñez, ME., Pombo, C., Bielli, A., 2010. Undernutrition During Foetal and Post-Natal Life Affects Testicular Structure and Reduces the Number of Sertoli Cells in the Adult Rat. *Rep Dom Anm.* 45 (2): 233-236.
- Ghanbari-Niaki, A., Saeidi, A., Aliakbari-Beydokhti, M., Ardeshiri, S., Kolahdouzi, S., Javad Chaichi, M., Hedayati-Monfared, B., 2015. Effects of Circuit Resistance Training and Saffron on Plasma Viscosity and Fibrinogen. *Annals of Applied Sport Sci.* 3 (2) : 01-10.
- Gholami, H., Chamani, M., Towhidi, A., Fazeli, M., 2010. Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutraceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holstein bulls. *Therio.* 74 :1548-58.
- Ghorbankhani, F., Souri M., Moeinin, M.M. and Mirmahmoudi, R., 2015. Effect of nutritional state on semen characteristics, testicular size and serum testosterone concentration in Sinjabi ram lambs during the natural breeding season. *Anim Reprod Sci.* 153 : 22-28.
- Giaretta, E., Munerato, M., Yeste, M., Galeati, G., Spinaci, M., Tamanini, C., ... Bucci, D. 2017. Implementing an open-access CASA software for the assessment of stallion sperm motility: Relationship with other sperm quality parameters. *Anim Repr Sci.* 176: 11-19.
- Gibb, Z., and Aitken, R. J., 2016. The impact of sperm metabolism during in vitro storage: the stallion as a model. *BioMed Res int.*
- Gil, J., Januskauskas, A., Haard, M.C., Haard, M.G.M., Johanisson, A., Soderquist, L., Rodriguez-Martinez, H., 2000. Functional sperm parameters and fertility of bull semen extended in Biociphos Plus. *Reprod Dom Anim.* 35: 69–77.
- Gil, J., Soderquist, L., Rodriguez-Martinez, H., 2000. Influence of centrifugation and different extenders on post-thaw sperm quality of ram semen. *Therio.* 54(1): 93-108.
- Gil, J., Rodriguez-Irazoqui, M., Lundeheim, N., Söderquist, L., Rodríguez-Martínez, H., 2003. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell and used for cervical artificial insemination. *Therio.* 59: 1157-1170.
- Gil, M.C., Garcia-Herreros, M., Baron, F.J., Aparicio, I.M., Santos, A.J., Garcia-Marín, L.J., 2009. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. *Therio.* 71: 254–263.
- Gil, L., Mascaro, F., Mur, P., Gale, I., Silva, A., Gonzalez, N., Malo, C., Cano, R., 2010. Freezing ram semen: the effect of combination of soya and rosemary essences as a freezing extender on post-thaw sperm motility. *Rep Dom Anim.* 45: 91.
- Gilany, K., Minai-Tehrani, A., Savadi-Shiraz, E., Rezaadost, H., Lakpour, N., 2015. Exploring the human seminal plasma Proteome: an unexplored gold mine of biomarker for male infertility and male reproduction disorder. *J Reprod Infert.* 16: 61-71.
- Gilles, R., Anctil, M., Baguet, F., Charmantier, M., Charmantier, G., Péqueux, A., et al., 2006. *Physiologie animale.* Edition De Boeck et Larciens. A: 677.
- Goeritz, F., Quest, M., Wagener, A., Fassbender, M., Broich, A., Hildebrandt, T.B., Hofmann, R.R., Blottner, S., 2003. Seasonal timing of sperm production in roe deer: interrelationship among changes in ejaculate parameters, morphology and functions of testis and accessory glands. *Therio.* 59:1487–1502.
- Goli, S.A.M., Mokhtari, F., Rahimmalek, M., 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) petal. *J Agr Sci.* 4: 175-181.
- González, F. S., Encinas, M. G., & Napal, S. L., 1997. Testicular microlithiasis associated with infertility. *Archivos espanoles uro.* 50(1): 71-74.
- Graham, J.K., Foote, R.H., 1987. Effect of several lipids, fatty acyl chain length, and degree of unsaturation on the motility of bull spermatozoa after cold shock and freezing. *Cryobiol.* 24: 42-52.
- Gresta, F., et al. 2008. Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. *Areview. Agronomy for sustainable development.* 28(1) : 95-112.
- Griffin, M.C., Roberts, G.C., 1985. Study of casein micelles. *Biochem J.* 228 : 273-276.
- Gu, N.H., Zhao, W.L., Wang, G.S., & Sun, F., 2019. Comparative analysis of mammalian sperm ultrastructure reveals relationships between sperm morphology, mitochondrial functions and motility. *Reprod Biol and Endocr.* 17(1).
- Guinda, A., Rada, M., Delgado, T., Gutierrez-Adanez, P., and Castellano, J. M., 2010. Pentacyclic triterpenoids from olive fruit and leaf. *J. Agr. Food Chem.* 58, 9685–9691.

- Gunay, U., Dogan, I., Nur, Z., Manolov, I., Sagirkaya, H., Soylu, M. K., Kaptan, C., Akpınar, L., 2006. Influence of bull seminal plasma on post-thaw ram semen parameters and fertility. *Bull Vet Inst Pulawy*. 50:503-507.
- Gündoğan, M., Tekerli, M., Uçar, M., & Türkmenoğlu, I., 2003. Effect of diluents on motility of ram sperm during storage at 5°C. *Arch of Androl*. 49 : (1) 69-75.
- Gundogan, M & Elitok, B., 2004. Seasonal changes in reproductive parameters and seminal plasma constituents of rams in Afyon province of Turkey. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 111: 158-161.
- Gündogan, M., Serteser, M., 2005. Some reproductive parameters and biochemical properties in Akkaraman and Awassi rams. *Turk J Vet Anim Sci*. 29: 595-599.
- Gündogan, M., 2006. Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams. *Turk J Vet Anim Sci*. 30: 95-100.
- Gürler, H., Calisici, O., Calisici, D., Bollwein, H., 2015. Effects of feeding omega-3-fatty acids on fatty acid composition and quality of bovine sperm and on antioxidative capacity of bovine seminal plasma. *Anim Reprod Sci*. 160: 97-104.
- Guthrie, H. D., Welch, G.R., Long, J.A., 2008. Mitochondrial function and reactive oxygen species action in relation to boar motility. *Theriogenology*. 70(8):1209-15.
- Gutiérrez-Pérez, O., de Lourdes Juárez-Mosqueda, M., Carvajal, S.U., Ortega, M.E.T., 2009. Boar spermatozoa cryopreservation in low glycerol/trehalose enriched freezing media improves cellular integrity. *Cryobio*. 58(3) : 287-292.
- Gutteridge, J.M.C., 1995. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin. Chem*. 41(12) : 1819-1 828.
- Guyonnet, B., Dacheux, F., Dacheux, J.L., Gatti, J.L., 2011. The epididymal transcriptome and proteome provide some insights into new epididymal regulations. *J Androl*. 32: 651-664.
- Hafez, E.S.E., 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J Agric Sci Camb*. 42: 189-265.
- Hafez, E.S.E., 1987. *Reproduction in Farm Animals*, 5th edition. Lea. Febiger., Philadelphia.
- Hafez, E.S.E., 1993. *Semen Evaluation. Repr. Farm. Anim*, 6th edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 405-423.
- Haila, A.A & Tulsiani, D.R.P., 2009. Signal transduction pathways that regulate sperm capacitation and the acrosome reaction. *Arch in Bioch and Bioph*. 485: 72-81.
- Halenar, M., Medvedova, M., Maruniakova, N., & Kolesarova, A., 2015. Assessment of a potential preventive ability of amygdalin in mycotoxin-induced ovarian toxicity. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 50(6): 411-416.
- Halenár, M., Chrastinova, L., Ondruška, L., Jurčík, R., Zbyňovska, K., Kováčiková, E., Kováčik, A. & Kolesárová, A., 2017. The evaluation of endocrine regulators after intramuscular and oral application of cyanogenic glycoside amygdalin in rabbits. *Biologia*. 72(4) : 468- 474.
- Halliwell, B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration : where are we now ? *J Neurochem*. 97 : 1634-1658.
- Halo Jr, M., Tirpák, F., Kováčik, A., Lípová, P., Greň, A., & Massányi, P., 2018. Biochemical parameters of seminal plasma affect motility traits of stallion spermatozoa. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 7(5): 516.
- Hamamah, S and Gatti, J.L., 1999. Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity. *Human reproduction (Oxford, England)*. 13 Suppl. 4 : 20-30.
- Hamedani, M. A., Tahmasbi, A. M., and Ahangari, Y. J., 2013. Effects of vitamin B 12 supplementation on the quality of ovine spermatozoa. *Open veterinary journal*, 3(2), 140-144.
- Hammerstedt, R.H., Graham, J.K., Nolan, J.P., 1990. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *J Androl*. 11 : 73-88.
- Han, X.H., Hong, S.S., Hwang, J.S., Lee, M.K., Hwang, B.Y., Ro, J.S., 2007. Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Arch Phar Res*. 30 : 07-13.
- Hanon, E.A., Lincoln, G.A., Fustin, J.M., Dardente, H., Masson-Pevet, M., Morgan, P.J., Hazlerigg, D.G., 2008. Ancestral TSH mechanism signals summer in a photoperiodic mammal. *Curr Biol*. 18:1147-1152.

- Hashem, N., Secher, J., Pryor, J.H., Long, C.R., Looney, C.R., Avery, B., Hyttel, P., Stroebech, L., 2017. Bovine embryo development rates are affected when oocytes are matured in different vials containing HEPES/Bicarbonate buffered medium. *Rep Fertil Dev.* 29 :179.
- Hassan, M.R., Pervage, S., Ershaduzzaman, M., Talukder, M.A.I., 2009. Influence of age on the spermogrammic parameters of native sheep. *J Bangladesh Agril Univ.* 7 : 301–304.
- Hazman, Ö., Bozkurt, M.F., 2015. Anti-inflammatory and antioxidative activities of safranal in the reduction of renal dysfunction and damage that occur in diabetic nephropathy. *Inflammation* 38: 1537-1545.
- Hazout, A., Menezo, Y., Madelenat, P., Yazbeck, C., Selva, J., Cohen-Bacrie, P., 2008. Causes et implications cliniques des altérations de l'ADN des spermatozoïdes. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* 36(11): 1109–1117.
- Heidary, M., Vahhabi, S., Reza Nejadi, J., Delfan, B., Birjandi, M., Kaviani, H., et al., 2008. Effect of saffron on semen parameters of infertile men. *Urol J.* 5(4):255-9.
- Herrera, C., Brogliatti, G., Cavia, R., Conde, P., Revora, M., Pasqualini, R.S., 2005. CASA sperm parameters and their relation with in vitro fertilization. *Proceedings of the 15th International Congress on Anim Repr.* 2: 411.
- Hess, R.A., Zhou, Q., Nie, R., Oliveira, C., Cho, H., Nakaia, M., Carnes, K., 2001. Estrogens and epididymal function. *Reprod Fertil Dev.* 13: 273–283.
- Hidiroglou, M., Knipfel, J.E., 1984. Zink in mammalian sperm: a review. *J Dairy Sci.* 67:1147–1156.
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., Kondo, K., 2001. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 47: 357-362.
- Hochereau, M.T., Courot, M., Ortavant, R., Claire, B., Boivineau, L., de Fontaubert, Y., 1964. Marquage des cellules germinales du bélier et du taureau par injection de thymidine tritiée dans l'artère spermatique, in : *Annales de Biol Anim Bioch Biophys.* EDP Sci. 157-161.
- Holstein, A.F., 1994. Männliche Geschlechtsorgane; Dans: Graumann W., Holstein A.-F., Sasse D. et al. (Éd.), *Taschenbuch der Anatomie. Innere Organe, Kreislaufsystem, Abwehrsystem.* Elsevier, München, Stuttgart. 714.
- Holt, C., W. V. Holt, H. D. M. Moore, H. C. B. Reed, and R. M. Curnock. 1997. Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: Results of two fertility trials. *J. Androl.* 18: 312–323.
- Hong, Z., Hailing, L., Hui, M., Guijie, Z., Leyan, Y., Dubing, Y., 2010. Effect of vitamin E supplement in diet on antioxidant ability of testis in Boer goat. *Anim Reprod Sci.* 117: 90–94.
- Horne, D. S., 2014. Casein Micelle Structure and Stability. *Milk Proteins.* 169–200.
- Hosseinzadeh, H., & Noraei, N. B., 2009. Anxiolytic and hypnotic effect of Crocus sativus aqueous extract and its constituents, crocin and safranal, in mice. *Phytotherapy Res.* 23(6) : 768–774.
- Hosseinzadeh, H., Noraei, B., 2009a. Anxiolytic and hypnotic effect of Crocus sativus aqueous extract and its constituents, crocin and safranal, in mice. *Phytotherapy Res.* 23 (6): 768-774.
- Hosseinzadeh, H., Molaei, M., Shakeri, M., Rajabi, O., Shamsa, A., 2009b. Evaluation of Crocus sativus L. (saffron) on male erectile dysfunction: a pilot study. *Phytomedicine.* 16 (8): 690-693.
- Imamovic Kumalic, S., & Pinter, B., 2014. Review of Clinical Trials on Effects of Oral Antioxidants on Basic Semen and Other Parameters in Idiopathic Oligo astheno teratozoospermia. *BioMed Research International.* 1–11.
- Iritani, A., Nishikawa, Y., 1963. Studies on the egg yolk coagulating factor in goat semen. III. Release of some acids accompanied by the coagulating phenomena. *J Anim Repr.* 8: 109-112.
- Ishijima, S., 2012. Mechanical constraint converts planar waves into helices on tunicate and sea urchin sperm flagella. *Cell Struct. Funct.* 37: 13–19.
- Islam, R., Khan, M.Z., 2010. Preservation of ram semen with egg yolk citrate extender at refrigeration temperature. *Indian Vet J.* 87: 463-465.
- ISO/TS., 2003. “Safran (Crocus sativus L.) - Partie 1: spécifications, Partie 2: Méthodes d'essai.” Norme Européenne ISO/TS 3632-1 3632-2.
- ISO/TC 34. 2010, Épices – Safran (Crocus sativus L.) – Partie 2: Méthodes d'essai. Norme ISO 3632-2.
- Jafaroghli, M., Khalili, B., Farshad, A., Zamiri, M.J., 2011. The effect of supplementation of cryopreservation diluents with sugars on the post-thawing fertility of ram semen. *Small Rum Res.* 96: 58-63.

- Jafaroghli, M., Abdi-Benemar, H., Zamiri, M.J., Khalili, B., Farshad, A., Shadparvar, A.A., 2014. Effects of dietary n-3 fatty acids and vitamin C on semen characteristics, lipid composition of sperm and blood metabolites in fat-tailed Moghani rams. *Anim Repr Sci.* 147: 17-24.
- Jara, M., Carballada, R., Esponda, P., 2004. Age-induced apoptosis in the male genital tract of the mouse. *Repr.* 127: 359-366.
- Jervis, K. M., Robaire, B., 2001. Dynamic changes in gene expression along the rat epididymis. *Biol Reprod.* 65(3) : 696–703.
- Jessie, S. W., & Krishnakantha, T. P., 2005. Inhibition of human platelet aggregation and membrane lipid peroxidation by food spice, saffron. *Mol and Cell Bioch.* 278 (1-2) : 59–63.
- Jobim, M.I.M., Oberst, E.R., Salbego, C.G., Souza, D.O., Wald, V.B., Tramontina, F., Mattos, R.C., 2004. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of bovine seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. *Therio.* 61: 255–266
- Jodar, M., Soler-Ventura, A., Oliva, R., 2017. Semen proteomics and male infertility. *Journal of Proteom.* 162: 125–134.
- Jøhnke, M., & Petersen, T. E., 2012. The alpha-lactalbumin/oleic acid complex and its cytotoxic activity. In *Milk protein.* Intech Open.
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P., Maxwell, W.M., 2000. Storage of boar semen. *Anim Repr Sci.* 62: 143-172.
- Johnson, F., et Giulivi, C., 2005. Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol Aspects Med.* 26: 340-352.
- Juyena, N. S., and Stelletta, C., 2011. Seminal Plasma: An Essential Attribute to Spermatozoa. *J of Andro.* 33(4): 536-551.
- Juyena, N. S., Stelletta, C., 2012. Seminal plasma : an essential attribute to spermatozoa. *J Androl.* 33(4) : 536-51.
- Kaeoket, K., Tantiparinyakul, W., Kladkaew, W., Chanapiwat, P et Techakumphu, M., 2008. Effect of Different Antioxidants on Quality of Cryopreserved Boar Semen in Different Breeds. *Thai. J Agri Sci.* 41(1-2): 1-9.
- Kaeoket, K., Sang-urai, P., Thamniyom, A., Chanapiwat, P., Techakumphu, M., 2010. Effect of docosahexaenoic acid on quality of cryopreserved boar semen indifferent breeds. *Reprod Domest Anim.* 45: 458–463.
- Kafi, M., Safdarian, M., Hashemi, M., 2004. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams: technical note. *Small Rum Res.* 53: 133-139.
- Kaka, A., Wahid, H., Rosnina, Y., Yimer, N., Khumran, A.M., Sarsaifi, K., Behan, A.A., Kaka, U., Ebrahimi, M., 2015a. α -Linolenic acid supplementation in BioXcell® extender can improve the quality of post-cooling and frozen-thawed bovine sperm. *Anim Repr Sci.* 153: 1-7.
- Kaka, A., Wahid, H., Rosnina, Y., Yimer, N., Khumran, A., Behan, A. and Ebrahimi, M., 2015b. Alpha-linolenic acid supplementation in tris extender can improve frozen–thawed bull semen quality. *Reprod Dom Anim.* 50 : 29-33.
- Kaka, A., Haron, W., Yusoff, R., Yimer, N., Khumran, A.M., Memon, A.A., Sarsaifi, K., Ebrahimi, M., 2017. Frozen-Thawed Quality of Bull Semen after Combined Supplementation of Docosahexaenoic Acid and Alpha Linolenic Acid into Tris based Semen Extender. *Pakistan J Zool.* 49(6) : 2051-2055.
- Kandelousi, M.A.S., Arshami, J., Naserian, A.A., Abavisan, A., 2013. The effects of addition of omega-3, 6, 9 fatty acids on the quality of bovine chilled and frozen-thawed sperm. *Open Vet J.* 3 : 47-52.
- Kareskoski, M., and Katila, T., 2008. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim Repr Sci.* 107(3-4): 249-256.
- Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., and Jaafar, H. Z., 2010. Evaluation of *Crocus sativus* L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. *Molecules.* 15(9): 6244-6256.
- Kasimanickam, R., Kasimanickam, V., Tibary, A., and Pelzer, K., 2011. Effect of semen extenders on sperm parameters of ram semen during liquid storage at 4°C. *Small Rum Res.* 99(2-3): 208-213.
- Keber, R., Rozman, D & Horvat, S., 2013. Sterols in spermatogenesis and sperm maturation. *J Lipid Res.* 54 : 20-33.
- Kelso, K.A., Redpath, A., Noble, R.C., Speake, B.K., 1997a. Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bulls. *J Reprod Fertil.* 109: 1-6.

- Kelso, K.A., Cerolini, S., Speake, B.K., Cavalchini, L.G., Noble, R.C., 1997b. Effects of dietary supplementation with alpha-linolenic acid on the phospholipid fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 weeks of age. *J Reprod Fertil.* 110(1):53-9.
- Kershaw-Young, C.M., Maxwell, W.M.C., 2011. The effect of seminal plasma on alpaca sperm function. *Therio.* 76: 1197-1206.
- Khalifa, T., Lymberopoulos, A., 2013. Changeability of sperm chromatin structure during liquid storage of ovine semen in milk-egg yolk- and soybean lecithin-based extenders and their relationships to field-fertility. *Cell Tissue Bank.* 14: 687-698.
- Khan, M.S., Zaman, S., Sajjad, M., Shoaib, M. and Gilani, G., 2011. Assessment of the level of trace element zinc in seminal plasma of males and evaluation of its role in male infertility. *Int J App Basic Med Res.* 1: 93-96.
- Khayatnouri, M., Safavi, S.E., Safarmashaei, S., Babazadeh, D., Mikailpourardabili, B., 2011. The effect of Saffron Orally Administration on Spermatogenesis Index in Rat. *Adv Environ Biol.* 5: 1514-1521.
- Kheradmand, A., Babaei, H., Abshenas, J., 2006. Comparative evaluation of the effect of antioxidants on the chilled-stored ram semen. *Iran J Vet Res.* 7: 40–45.
- Khoshvaght, A., A. Towhidi, A. Zare-shahneh, M. Noruozi, M. Zhandi, N. D. Davachi, and R. Karimi. 2016. Dietary n-3 PUFA improve fresh and post-thaw semen quality in Holstein bulls via alteration of sperm fatty acid composition. *Therio.* 85:807-812.
- Kianbakht, S., & Mozaffari, K., 2009. Effects of saffron and its active constituents, crocin and safranal, on prevention of indomethacin induced gastric ulcers in diabetic and non-diabetic rats. *J Med Plants.* 8: 30-38.
- Kikuchi, M., Mizoroki, S., Kubo, T., Ohiwa, Y., Kubota, M., Yamada, N., Orino, K., Ohnami, Y., Watanabe, K., 2003. Seminal plasma lactoferrin but not transferrin reflects gonadal function in dogs. *J Vet Med Sci.* 65: 679-684.
- King, L. M., D. R. Holsberger, and A. M. Donoghue. 2000. Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm mobility phenotype in turkeys. *J. Androl.* 21: 65–71.
- King, M.E., McKelvey, W.A.C., Dingwall, W.S., Matthews, K.P., Gebbie, F.E., Mylne, M.J.A., Stewart, E., Robinson, J.J., 2004. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Therio.* 62: 1236-1244.
- Kodama, H., Kuribayashi, Y., Gagnon, C., 1996. Effect of sperm lipid peroxidation on fertilization. *J And.* 17: 151-157.
- Konyali, C., Tomás, C., Blanch, E., Gómez, E. A., Graham, J. K., Mocé, E., 2013. Optimizing conditions for treating goat semen with cholesterol-loaded cyclodextrins prior to freezing to improve cryosurvival. *Cryobio.* 67(2): 124–131.
- Krakowski, L., Wąchocka, A., Brodzki, P., Wrona, Z., Piech, T., Wawron, W., & Chałabis-Mazurek, A., 2015. Sperm quality and selected biochemical parameters of seminal fluid in dogs with benign prostatic hyperplasia. *Anim Reprod Sci.* 160: 120–125.
- Kuksis, A., 1992. Yolk lipids. *Biochim Biophys Acta.* 1124 : 205-222.
- Kulaksız, R., Çebi, Ç., Akçay, E., Daşkın, A., 2010. The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen. *Small Rum Res.* 88: 12-15.
- Kumar, A., Farooq, A., 1994. Effect of oxytocin on the concentration of fructose in the accessory glands of mouse. *Life.Sci.* 55 :19-24.
- Kumar, D., Naqvi, A-J. S. M. K., 2010. Objective assessment of sperm motion characteristics of Malpura ram lambs raised under intensive management system in semiarid tropical environment. *Trop Anim Health Prod.* 42 : 653–658.
- Kwon, W.S., Oh, S, A., Kim, Y.J., et al. 2015a. Proteomic approaches for profiling negative fertility markers in inferior boar spermatozoa. *Sci Rep.* 5 : 13821.
- Kwon, W.S., Rahman, M.S., Ryu, D.Y., Park, Y.J., Pang, M.G., 2015b. Increased male fertility using fertility-related biomarkers. *Sci Rep.* 5 : 15654.
- Lacroix, M., 1976. Circuit physique de la semence ovine. 81-93. In *Insémination artificielle ovine* Editions Searle-Paris, 105.

- La Falci, V.S.N., Yrjö-Koskinen, A.E., Fazeli, A., Holt, W.V., Watson, P.F., 2011. Antioxidant combinations are no more beneficial than individual components in combating ram sperm oxidative stress during storage at 5°C. *Anim Repr Sci.* 129: 180-187.
- Lagares, M. A., Martins, H. S., Carvalho, I. A., Junior, C. A., Souza, M. R., Penna, C. F. A. M., ... & Henry, M. R. J. M. 2012. Caseinate protects stallion sperm during semen cooling and freezing. *Cryo Letters.* 33(3) : 213-218.
- Lage, M., Faiz. C., Cantrell, C.L., 2007. Developmental project for introducing saffron (*Crocus sativus* L.) as an alternative crop in other Moroccan regions. *ISHS Acta Horticulturae. International symposium on saffron biology and technology, Masshad (Iran).* n. 739 : 49-52.
- Lange-Consiglio, A., Meucci, A., Cremonesi, F., 2013. Fluorescent multiple staining and CASA system to assess boar sperm viability and membranes integrity in short and long-term extenders. *Open Vet J.* 3 (1) : 21–35.
- Lapointe, S., Ahmad, I., Buhr, M.M., et al., 1996. Modulation of post thaw motility, survival, calcium uptake and fertility of bovine sperm by magnesium and manganese. *J. Dairy Sci.* 12 : 2163-2169.
- Lasley, J. F., 1951. Spermatozoan Motility as a Measure of Semen Quality. *Journal of Animal Science.* 10(1) : 211–218.
- Lavara, R., Mocé, E., Lavara, F., Viudes Castro, M.P., Vicente, J.S., 2005. Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits? *Therio.* 64:1130-1141.
- Leahy, T., Marti, J.I., Evans, G., Maxwell, W.M.C., 2010. Seasonal variation in the protective effect of seminal plasma on frozen-thawed ram spermatozoa. *Anim Repr Sci.* 119: 147–153.
- Leahy, T., and B. M. Gadella. 2011. Capacitation and capacitationlike sperm surface changes induced by handling semen. *Reprod. Domest. Anim.* 46(2):7–13.
- Leahy, T., & de Graaf, S., 2012. Seminal Plasma and its Effect on Ruminant Spermatozoa During Processing. *Reprod in Dom Anim.* 47: 207–213.
- Leboeuf, B., Restall, B., Salamon, S., 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci.* 62: 113-141.
- Leboeuf, B., Guillouet, P., Batellier, F., Bernelas, D., Bonné, J.L., Forgerit, Y., Renaud, G., Magistrini, M., 2003. Effect of native phosphocaseinate on the in vitro preservation of fresh semen. *Therio.* 60: 867-877.
- Lenzi, A., Gandini, L., Lombardo, F., Picardo, M., Maresca, V., Panfili, E., et al. 2002. Polyunsaturated fatty acids of germ cell membranes, glutathione and blutathione-dependent enzyme-PHGPx: from basic to clinic. *Contraception.* 65(4):301–4.
- Lewis-Jones, D.I., Aird, I.A., Biljan, M.M, Kingsland, C.R., 1996. Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Hum Repr.* 11(11): 2465-2467
- Li, Y., Kalo, D., Zeron, Y., Roth, Z., 2016. Progressive motility a potential predictive parameter for semen fertilization capacity in bovines. *Zyg.* 24: 70–82.
- Liakopoulou-Kyriakides, M., Sinakos, Z., Kyriakidis, D.A., 1985. A high molecular weight platelet aggregating factor in *Crocus sativus*. *Plant Sci.* 40(2) :117-20.
- Lindsay, D.R., Pelletier, J., Pisselet, C et Courot, M., 1984. Changes in photoperiod and nutrition and their effect on testicular growth of rams. *J. Reprod. Fertil.* 71: 351-356.
- Livney, Y. D., 2010. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 15 :73–83.
- Liu, D. Y., C. N. Clarke, and H. W. Gordon Baker. 1991. Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn motility analyzer and fertilization rates in vitro. *J. Androl.* 12: 231–239.
- Liu, Q., Zhou, Y.F., Duan, R.J., Wei, H.K., Jiang, S.W., Peng, J., 2015. Effects of dietary n-6 : n-3 fatty acid ratio and vitamin E on semen quality, fatty acid composition and antioxidant status in boars. *Anim. Reprod. Sci.* 162 : 11-19.
- Livney, Y. D., 2010. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 15:73-83.
- Loomis, P.R., Amann, R.P., Squires, E.L., Pickett, B.W., 1983. Fertility of unfrozen and frozen stallion spermatozoa extended in EDTA-lactose-egg yolk and packaged in straws. *J Anim Sci.* 56 :687-693.
- López-Rodríguez, A., Rijsselaere, T., Beek, J., Vyt, P., Van Soom, A., Maes, D., 2013. Boar seminal plasma components and their relation with semen quality. *Syst Biol Reprod Med.* 59(1):5-12.
- López-Sáez, A., Ortiz, N., Gallego, L., Garde, J.J., 2000. Liquids storage (5 degrees C) of ram semen in different diluents. *Arch Androl.* 44: 155-164.

- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem.* 193: 265-275.
- Lusignan, M.F., Bergeron, A., Lafleur, M., Manjunath, P., 2011. The major proteins of bovine seminal plasma interact with caseins and whey proteins of milk extender. *Biol Reprod.* 85: 457-464.
- MacDonald, B.J., Foulkes, J.A., 1981. A spectrofluorometric investigation, using 1-anilinonaphthalen-8-sulphonate, of the interaction between washed bovine spermatozoa and seminal plasma or egg-yolk lipoprotein. *J Reprod Fertil.* 63: 407-414.
- Mahmood, S.A., Ijaz, A., Ahmad, N., Rehman, H., Zaneb, H., Farooq, U., Karaniwala, S.P.U., 2014. A study on relationships among age, body weight, orchidometry and semen quality parameters in adult Cholistani breeding bulls. *J Anim Plant Sci.* 24: 380-384.
- Mahouachi, M., Chafri, N., Ben Hamouda, M., Reki, k M., Lassoued, N., 2011. Effets de la nutrition sur les performances reproductives chez l'agneau et le bélier. Zaragoza. CIHEAM IRESA OEP. 117-121
- Mahsud, T., Jamil, H., Qureshi, Z.I., Asi, M.N., Lodhi, L.A., Waqas, M.S., Ahmad, A., 2013. Semen quality parameters and selected bio-chemical constituents level in plasma of Lohi rams. *Small Rum Res.* 113: 175-178.
- Maia, M.S., 2006. Sperm viability and reactive oxygen species (ROS) generation in ram semen cryopreserved in extenders with sodium lauryl sulfate (OEP), Trolox-c and catalase. Thesis (Doctor in Veterinary Medicine). Faculty of Vet Med and Anim Sci, UNESP, Botucatu.
- Maia, M.S., Bicudo, S.D., Azevedo, H.C., Sicherle, C.C., Sousa, D.B., Rodello, L., 2009. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. *Small Rum Res.* 85:85-90.
- Maia, M.S., Bicudo, S.D., Sicherle, C.C., Rodello, L., Gallego, I.C.S., 2010. Lipid peroxidation and generation of hydrogen peroxide in frozen–thawed ram semen cryopreserved in extenders with antioxidants. *Small Rum Res.* 122 : 118-123.
- Maksimovic, N., Hristov, S., Stankovic, B., Petrovic, M.P., Mekic, C., Ruzic-Muslic, D. and Cardo-Petrovic, M., 2016. Investigation of serum testosterone level, scrotal circumference, body mass, semen characteristics, and their correlations in developing MIS lambs. *Turk J Vet Anim Sci.* 40 : 53-59.
- Maldjian, A., Pizzi, F., Gliozzi, T., Cerolini, S., Penny, P., Noble, R., 2005. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Therio.* 63 : 411–421.
- Malpoux, B., Vigui, C., Thiéry, J.C., Chemineau, P., 1996. Contrôle photopériodique de la reproduction. *INRA Prod Anim.* 9 (1) : 9-23.
- Malpoux, B., 2001. Environnement et rythmes de reproduction. In Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), la reproduction chez les mammifères et l'Homme, 699-724. Coédition INRA-Ellipses.
- Manjunath, P., Nauc, V., Bergeron, A., Ménard, M., 2002. Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. *Biol Repr.* 67: 1250-1258.
- Mann, T., 1964. *The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract.* Published by Methuen, London.
- MAPM, 2008. *Elevage en chiffres 2007.* Rabat, Maroc, direction de l'Élevage, ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime.
- Marko Halo, J.r., Tirpák, F., Kováčik, A., Lípová, P., Greň, A., Massányi, P., 2018. Biochemical parameters of seminal plasma affect motility traits of stallion. *Microbiol Biotech Food Sci.* 7 (5) : 472-474.
- Mardani, M., Vaez, A., Razavi, S., 2014. Effect of saffron on rat sperm chromatin integrity. *Iranian J of reprod med.* 12 : 343-50.
- Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgaria fruits and vegetables. *J of the Univ of Chem Techno and Metal.* 40: 255-260.
- Martin, G. B., Blache, D., Miller, D. W., Vercoe, P. E., 2010. Interactions between nutrition and reproduction in the management of the mature male ruminant. *Animal.* 4(07) : 1214–1226.
- Martínez-Soto, J. C., Landeras, J., Gadea, J., 2013. Spermatozoa and seminal plasma fatty acids as predictors of cryopreservation success. *Androl.* 1(3) : 365-375.
- Mashmoul, M., Azlan, A., Khaza'ai, H., Yusof, Bnm., Noor, Sm., 2013. Saffron: A natural potent antioxidant as a promising anti-obesity drug. *Antioxidants.* 2:293-308.

- Massányi, P., Trandzik, J., Nad, P., Toman, R., Skalická, M., Koreňeková, B., 2003. Seminal concentrations of trace elements in various animals and their correlations. *Asian J Androl.* 5: 101–104.
- Mata-Campuzano, M., Álvarez-Rodríguez, M., Tamayo-Canul, J., López-Urueña, E., de Paz, P., Anel, L., Martínez-Pastor, F., Álvarez, M., 2014. Refrigerated storage of ram sperm in presence of Trolox and GSH antioxidants: Effect of temperature, extender and storage time. *Anim Reprod Sci.* 151:137-147.
- Mata-Campuzano, M., Álvarez-Rodríguez, M., Álvarez, M., Tamayo-Canul, J., Anel, L., de Paz, P., Martínez-Pastor, F., 2015a. Post-thawing quality and incubation resilience of cryopreserved ram spermatozoa are affected by antioxidant supplementation and choice of extender. *Therio.* 83: 520-528.
- Mata-Campuzano, M., Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Martinez-Pastor, F., de Graaf, S.P., Druart, X., 2015b. Motility of liquid stored ram spermatozoa is altered by dilution rate independent of seminal plasma concentration. *Anim Reprod Sci.* 162: 31-36.
- Matsuoka, T., Imai, H., Kohno, H., Fukui, Y., 2006. Effects of bovine serum albumin and trehalose in semen diluents for improvement of frozen–thawed ram spermatozoa. *J Reprod Dev.* 52: 675–683.
- Matsuoka, T., Imai, H., Asakuma, S, Kohno, H, Fukui, Y., 2006b. Changes of fructose concentrations in seminal plasma and glucose and testosterone concentrations in blood plasma in rams over the course of a year. *J Reprod Dev.* 52 : 805– 810.
- Maurya, V.P., Sejian, V., Kumar, D. and Naqvi, S.M.K., 2016. Impact of heat stress, nutritional restriction and combined stresses (heat and nutritional) on growth and reproductive performance of Malpura rams under semi-arid tropical environment. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 100(5) : 938-46.
- Maxwell, W., Stojanov, T., 1996. Liquid storage of ram semen in the absence or presence of some antioxidants. *Reprod Fertil Dev.* 8: 1013-1020.
- Maxwell, W.M., de Graaf, S.P., Ghaoui Rel, H., Evans, G., 2007. Seminal plasma effects on sperm handling and female fertility. *Soc Reprod Fertil.* 64: 13-38.
- McLean, D. J., L. G. Jones Jr., and D. P. Froman. 1997. Reduced glucose transport in sperm from roosters (*Gallus domesticus*) with heritable subfertility. *Biol. Reprod.* 57: 791–795.
- Medeiros, C.M.O., Forell, F., Oliveira, A.T.D., Rodrigues, J.L., 2002. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Therio.* 57: 327–344.
- Medrano, A., Contreras, C.F., Herrera, F.M., Alcantar-Rodriguez, A.M., 2017. Melatonin as an antioxidant preserving sperm from domestic animals. *Asian Pac J Reprod.* 6: 241-6.
- Mehdipour, M., Daghig Kia, H., Najafi, A., Vaseghi Dodaran, H., García-Álvarez, O., 2016. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract and pre-freezing equilibration time on the post-thawing quality of ram semen cryopreserved in a soybean lecithin-based extender. *Cryobiol.* 73 : 297-303.
- Melnyk, J., Marcone, M., Wang, S., 2010. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice : Saffron. *Food Res Internat.* 43 (8) : 1981-1989.
- Meyer, C., Faye, B., Karembe, H., Poivey, J.P., Mohammedi, D., et al., 2004. Guide de l'élevage du mouton méditerranéen et tropical. Cirad-emvt. Ceva Santé Animale. Ecole National Vété d'Alger.154.
- Milardi, D., Grande, G., Vincenzoni, F., Castagnola, M., Marana, R., 2013. Proteomics of human seminal plasma : identification of biomarker candidates for fertility and infertility and the evolution of technology. *Mol Reprod Dev.* 80 : 350-357.
- Mir, M. A., Parihar, K., Tabasum, U., and Kumari, E. 2016. Estimation of alkaloid, saponin and flavonoid, content in various extracts of *Crocus sativa*. *J of Med Plants.* 4(5) : 171-174.
- Miranda-Vilela, A. L., Cristina, Z.A. P., K Akimoto, A., Carlos, S. P. L., Klautau, N., Grisolia, C., 2010. The Effect of Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress on Leukocytes Depends on Age and Physical Training in Healthy Human Subjects Carrying the Same Genotypes of Antioxidant Enzymes' Gene Polymorphisms. *American journal of human biology : the official J of the Hum Biol Council.* 22 : 807-12.
- Moce, E., Graham, J.K., 2006. Cholesterol-loaded cyclodextrins added to fresh bull ejaculates improve sperm cryosurvival. *J Anim Sci.* 84 : 826-833.
- Moce, E., Blanch, E., Tomas, C., Graham, J.K., 2010a. Use of cholesterol in sperm cryopreservation : present moment and perspectives to future. *Reprod Domest Anim.* 45 (2) : 57-66.
- Moce, E., Purdy, P.H., Graham, J.K., 2010b. Treating ram sperm with cholesterol-loaded cyclodextrins improves cryosurvival. *Anim Reprod Sci.* 118 : 236-247.

- Moghaddam, G.H., Pourseif, M.M. and Rafat, S.A., 2012. Seasonal variation in semen quality and quality traits of Iranian crossbred rams. *Slovak J Anim Sci.* 45 : 67–75.
- Morrell, J. M., 2011. Artificial insemination : current and future trends. In *Artificial insemination in farm animals*. InTech.
- Mortimer, D., 2018. The functional anatomy of the human spermatozoon: relating ultrastructure and function. *Mol Hum Reprod.* 24(12) : 567–92.
- Motlagh, M.K., Sharafi, M., Zhandi, M., Mohammadi-Sangcheshmeh, A., Shakeri, M., Soleimani, M. & Zeinoaldini, S., 2014. Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in soybean lecithin-based semen extender following freeze–thawing process of ram sperm. *Cryo.* 69 : 217-222
- Moallem, U., Neta, N., Zeron, Y., Zachut, M., Roth, Z., 2015. Dietary α -linolenic acid from flaxseed oil or eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from fish oil differentially alter fatty acid composition and characteristics of fresh and frozen-thawed bull semen. *Therio.* 83 : 1110-20.
- Moura, A.A., Andrade, C.R., Souza, C.E.A., Rêgo, J.P.A., Martins, J.A.M., Oliveira, R.V., Menezes, E.B.S., 2011. Proteínas do plasma seminal, funções espermáticas e marcadores moleculares da fertilidade. *Rev Brasileira Reprod Anim Belo Horizonte.* 35 :139-144.
- Muino, R., Fernandez, M., Pena, A.I., 2007. Post-thaw survival and longevity of bull spermatozoa frozen with an egg yolk-based or two egg yolk-free extenders after an equilibration period of 18 h. *Reprod Dom Anim.* 42: 305-311.
- Mucsi, I., 1997. Budapest. *Sheep Breeding and Keeping*. Mezőgazda Press.
- Mukai, C., Okuno, M., 2004. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biol of Reprod.* 71:540-7.
- Muratori, M., Tamburrino, L., Marchiani, S., Cambi, M., Olivito, B., Azzari, C., et al., 2015. Investigation on the origin of sperm DNA fragmentation : role of apoptosis, immaturity and oxidative stress. *Mol Med.* 21 : 109–22.
- Murphy, C., English, A., Holden, S., Fair, S., 2014. Cholesterol-loaded-cyclodextrins improve the post-thaw quality of stallion sperm. *Anim Reprod Sci.* 145 : 123 e 9.
- Murphy, C., Holden, S. A., Murphy, E. M., Cromie, A. R., Lonergan, P., Fair, S., 2016. The impact of storage temperature and sperm number on the fertility of liquid-stored bull semen. *Reprod Fert and Devel.* 28(9) : 1349-1359.
- Murphy, E. M., Stanton, C., Brien, C. O., Murphy, C., Holden, S., Murphy, R. P., ... Fair, S., 2017. The effect of dietary supplementation of algae rich in docosahexaenoic acid on boar fertility. *Therio.* 90 : 78–87.
- Najafi, A., Kia, H.D., Mohammadi, H., Najafi, M.H., Zanganeh, Z., Sharafi, M., Martinez-Pastor, F., Adeldust, H., 2014. Different concentrations of cysteamine and ergothioneine improve microscopic and oxidative parameters in ram semen frozen with a soybean lecithin extender. *Cryobio.* 69:68-73.
- Nasiri, A. H., Towhidi, A., Zeinoaldini, S., 2012. Combined effect of DHA and α -tocopherol supplementation during bull semen cryopreservation on sperm characteristics and fatty acid composition. *Androl.* 44 : 550-555.
- Neumark, H., Schindler, H., 1967. Amino acids, amines and peptides of ram epididymal semen. *J Reprod Fertil.* 14 :469–471.
- Neuringer, M., Anderson, G.J., Connor, W.E., 1988. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Ann Rev Nutr.* 8 : 517-41.
- Nicholls, T.J., Follett, B.K., Goldsmith, A.R., Pearson, H., 1988. Possible homologies between photorefractoriness in sheep and birds : the effect of thyroidectomy on the length of the ewe's breeding season. *Reprod Nutr Dev.* 28 : 375–385.
- Nicolino, M., Forest, M.G., 2001. La puberté. In Thibault, C., Levasseur, M-C. (ed), *la reproduction chez les mammifères et l'Homme.* 655-679. Coédition INRA-Ellipses.
- Noblac, A., Peltier, M., Damon-Soubeyrand, C., Kerchkove, N., Chabory, E., Vernet, P., Saez, F., Cadet, R., Janny, L., Pons-Rejraji, H., Conrad, M., Drevet, J.R., and Kocer, A., 2012. Epididymis response partly compensates for spermatozoa oxidative defects in snGP5 double mutant mice. *PLoS. One.* 7.e38565.
- O'Hara, L., Hanrahan, J.P., Richardson, L., Donovan, A., Fair, S., Evans, A.C.O., Lonergan, P., 2010. Effect

- of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Therio*. 73: 541-549.
- Oke, M., Jacob, J.K. and Paliyath, G., 2010. Effect of soy lecithin in enhancing fruit juice/sauce quality. *Food Res Int*. 43: 232-240.
- Oksala, N. K. J., Ekmekçi, F. G., Özsoy, E., Kirankaya, Ş., Kokkola, T., Emecen, G., ... Atalay, M., 2014. Natural thermal adaptation increases heat shock protein levels and decreases oxidative stress. *Redox Biology*. 3: 25–28.
- Olah, J., Kusza, S., Harangi, S., Posta, J., Kovacs, A., Pecs, A., Budai, C., Javor, A., 2014. Seasonal changes in scrotal circumference, the quantity and quality of ram semen in Hungary *Arch Tierz*. 56: 102-108.
- Ollero, M., Perez-Pe, R., Muino-Blanco, T., Cebrian-Perez, J.A., 1998. Improvement of ram sperm cryopreservation protocols assessed by sperm quality parameters and heterogeneity analysis. *Cryobiology*. 37: 1-12.
- O'Mahony, J. A. and Fox, P. F., 2013. Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. In *Adv Dairy Chem*. 43-85.
- O'shea, T., Wales, R.G., 1966. Effect of casein, lecithin, glycerol, and storage at 5 C on diluted ram and bull semen. *Aust J of bio sci*. 19: 871-882.
- Papa, F.O., Felicio, G.B., Melo-O'na, C.M., Alvarenga, M.A., De Vita, B., Trinque, C., Puoli-Filho, J.N.P. and Dell'Aqu, J. A., 2010. Replacing egg yolk with soybean lecithin in the cryopreservation of stallion semen. *Anim Reprod Sci*. 129 : 73-77.
- Papandreou, M.A., Tsachaki, M., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Lamari, F.N., Margarity, M., 2011. Memory enhancing effects of saffron in aged mice are correlated with antioxidant protection. *Behav Brain Res*. 219: 197-204.
- Parks, J. E., and Hammerstedt, R. H., 1985. Development changes occurring in the lipids of ram epididymal spermatozoa plasma membrane. *Biol of Reprod*. 32(3) : 653-668.
- Parks, J. E., and Graham, J. K., 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Therio*. 38(2) : 209-222.
- Partyka, A., Łukaszewicz, E., Nizański, W., 2012. Effect of cryopreservation on sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in fowl semen. *Therio*. 77(8) : 1497–1504.
- Patel, A.B., Srivastava, S., Phadke, R.S., Govil, G., 1998. Arginine activates glycolysis of goat epididymal spermatozoa : an NMR study. *Biophys J*. 75 :1522–1528.
- Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R., Berg, K.A., 2002. Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Therio*. 57 : 823-836.
- Pérez-Pé, R., Barrios, B., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., 2001. Seasonal differences in ram seminal plasma revealed by partition in an aqueous two-phase system. *Journal of Chromatography B: Biomedc Sci and Applic*. 760:113-121.
- Perez-Patino, C., Barranco, I., Parrilla, I., Valero, M.L., Martinez, E.A., Rodriguez-Martinez, H., Roca, J., 2016. Characterization of the porcine seminal plasma proteome comparing ejaculate portions. *J Proteo*. 142: 15-23.
- Perumal, P., 2014. Scrotal Circumference and Its Relationship with Testicular Growth, Age, and Body Weight in Tho Tho (*Bos indicus*) Bulls. *Int Sch Res Not*.
- Perumal, P., Chamuah, J., Nahak, A., Rajkhowa, C., 2015a. Effect of seasons on semen production, effect of melatonin on the liquid storage (5 °C) with correlated study of birth rate in mithun (*Bos frontalis*). *Asian Pacific J of Reprod*. 4(1) : 1–12.
- Perumal, P., Kezhavituo Vupru., Rajkhowa, C., 2015b. Effect of addition of trehalose on the liquid storage(5oC) of mithun (*Bos frontalis*) semen. *Ind J Of Anim Res*. (49) : 837-846.
- Petruszak, J. A., Nehme, C. L., Bartles, J. R., 1991. Endoproteolytic cleavage in the extracellular domain of the integral plasma membrane protein CE9 precedes its redistribution from the posterior to the anterior tail of the rat spermatozoon during epididymal maturation. *J Cell Biol*. 114(5) : 917–27.
- Pickett, B.W., Komarek, R.J., 1966. Lipid and dry weight of bovine seminal plasma and spermatozoa from first and second ejaculates. *J Dairy Sci*. 50 : 742–746.
- Pillet, E., Duchamp, G., Batellier, F., Beaumal, V., Anton, M., Desherces, S., Schmitt, E., Magistrini, M., 2011. Egg yolk plasma can replace egg yolk in stallion freezing extenders. *Therio*.75, 105-114.
- Pipan, M. Z., Mrkun, J., Strajn, B.J., Vrtač, K.P., Kos, J., Pišlar, A., Zrimšek, P., 2017. The influence of macro-

- and microelements in seminal plasma on diluted boar sperm quality. *Acta Vet Scand.* 59(1) :11.
- Plante, G., Lusignan, M. F., Lafleur, M., & Manjunath, P., 2015a. Interaction of milk proteins and Binder of Sperm (BSP) proteins from boar, stallion and ram semen. *Reprod Biol and Endocrino.* 13(1): 92.
- Plante, G., Prud'homme, B., Fan, J., Lafleur, M., Manjunath, P., 2015b. Evolution and function of mammalian binder of sperm proteins. *Cell Tissue Res.* 19: 19.
- Plante, G., Prud'homme, B., Fan, J., Lafleur, M., Manjunath, P., 2016. Evolution and function of mammalian binder of sperm proteins. *Cell Tissue Res.* 363: 105–127.
- Poiani, A., 2006. Complexity of seminal fluid : a review. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60: 289–310.
- Ponthier, J., van den Berghe, F., Parrilla Hernandez, S., Hanzen, C., Deleuze, S., 2014. Congélation de sperme dans l'espèce équine : état des lieux et perspectives. *Ann Méd Vét.* 159 (1): 56–71.
- Poulos, A., Darin Bennett, A., White, I.G., 1976. The phospholipid bound fatty acids and aldehydes of mammalian spermatozoa. *Comp Bioch Phys B.* 46 : 541-9.
- Pourseif, M.M., Moghaddam, G.H., Rafat, S.A., Daghighkia, H., Pourseif, A., 2013. Photoperiod as a Factor for Studying Fluctuations of Seminal Traits during Breeding and Non-Breeding Season. *Iran. J Appl Anim Sci.* 3: 313-321.
- Powrie, W.D., Nakai, S., 1986. The chemistry of eggs and egg products. In: Stadelman WJ, Cotterill OJ (eds.), *Egg science and technology*, 3 ed. Westport: AVI publishing company. 97-138.
- Purdy, P. H., Ericsson, S. A., Dodson, R. E., Sternes, K. L., & Garner, D. L., 2004. Effects of the flavonoids, silibinin and catechin, on the motility of extended cooled caprine sperm. *Small Rumin Res.* 55(1-3): 239-243.
- Quan, G. B., Wua, G. Q., Wangd, Y. J., Lia, D. J., Maa, Y., Honga, Q. H., 2016. Effects of the Tris, Tes, or skim milk based extender on in vitro parameters of ram spermatozoa during liquid storage. *Small Rumin Res.* 134: 14–21.
- Quinn, P.J., Chow, P.Y., White, I.G., 1980. Evidence that phospholipid protects ram spermatozoa from cold shock at a plasma membrane site. *J Reprod Fertil.* 60: 403-407.
- Rajabi-Toustani, R., Roostaei-Ali Mehr, M., and Motamedi-Mojdehi, R. 2014. Effect of different levels of egg yolk on ram sperm coating and preserving at 5°C. *Iran J of Vet Res.* 15 (47): 168-171.
- Ramos Angrimani, D. S., Nichi, M., Losano, J. D. A., Lucio, C. F., Lima Veiga, G. A., Franco, M. V. M. J., & Vannucchi, C. I., 2017. Fatty acid content in epididymal fluid and spermatozoa during sperm maturation in dogs. *J of Anim Sci and Biotech.* 8 (1).
- Rassu, S. P. G., Enne, G., Ligios, S., and Molle, G., 2004. Nutrition and Reproduction. In G. Pulina, & R. Bencini (Eds.), *Dairy Sheep Nutr.* 109-128.
- Rather, H.A., Islam, R., Malik, A.A., Lone, F.A., 2016. Addition of antioxidants improves quality of ram spermatozoa during preservation at 4°C. *Small Rumin Res.* 141: 24-28.
- Reed, M. L., Ezeh, P. C., Hamic, A., Thompson, D. J., & Caperton, C. L., 2009. Soy lecithin replaces egg yolk for cryopreservation of human sperm without adversely affecting postthaw motility, morphology, sperm DNA integrity, or sperm binding to hyaluronate. *Fertil and Steril.* 92 (5): 1787–1790.
- Rejraji, H., Saez, F., Drevet, J., 2009. Changes in spermatozoa plasma membrane lipid composition during epididymal maturation. *Androl.* 19(1): 17-28.
- Revell, S., 2003. Assessment of the morphology of frozen–thawed bull sperm in relation to its cryopreservation for artificial insemination. *Vet Record.* 152: 765-767.
- Revel, F.G., Saboureau, M., Masson-Pevet, M., Pevet, P., Mikkelsen, J.D., Simonneaux, V., 2006. Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamsters. *Curr Biol.* 16 :1730 –1735.
- Ribadeau-Dumas, B., 1981. Actualités dans le domaine de la connaissance de la structure et des propriétés biochimiques des protéines laitières. *Rev Lait.* 17-32.
- Rickard, J.P., Leahy, T., Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Lynch, G.W., Druart, X., de Graaf, S.P., 2015. The identification of proteomic markers of sperm freezing resilience in ram seminal plasma. *J Proteo.* 126: 303-311.
- Rijsselaere, T., Van Soom, A., Maes, D., de Kruif, A., 2003. Effect of technical settings on canine semen motility parameters measured by the Hamilton-Thorne analyzer. *Therio.* 60 : 1553–1568.
- Rikmenspoel, R., 1984. Movements and active moments of bull sperm flagella as a function of temperature and viscosity. *J Exp Biol.* 108 : 205–230.

- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E. and Bourdon, E., 2008. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*. 582 : 1783–1787.
- Rodríguez-Martínez, H., Kvist, U., Ernerudh, J., Sanz, L., & Calvete, J. J., 2011. Seminal Plasma Proteins: What Role Do They Play? *American J of Reprod Immuno*. 66 : 11–22.
- Rodrigues, M.A.M., Souza, C.E.A., Martins, J.A.M., Rego, J.P.A., Oliveira, J.T.A., Domont, G., Moura, A.A., 2013. Seminal plasma proteins and their relationship with sperm motility in Santa Ines rams. *Small Rum Res*. 109: 94-100.
- Rooke, J., Shao, C., Speake, B., 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *Reprod*. 121 : 315-22.
- Roostaei-Ali Mehr, M., & Noori, H., 2013. Effect of different levels of l-Glutamine and glycerol on freezing of ram spermatozoa. *Small Rum Res*. 115(1-3) : 103–107.
- Rosa, H. J. D., Silva, C. C., & Bryant, M. J., 2012. The effect of melatonin treatment in rams on seasonal variation of testicular size and semen production parameters. *Small Rum Res*. 102(2-3) : 197–201.
- Ross, C., Morriss, A., Khairy, M., Khalaf, Y., Braude, P., Coomarasamy, A., & El-Toukhy, T. 2010. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod BioMedicine Online*. 20(6): 711-723.
- Rovegno, M., Feitosa, W.B., Rocha, A.M., Mendes, C.M., Visintin, J.A., D'Avila Assumpção, M.E.O., 2013. Assessment of post-thawed ram sperm viability after incubation with seminal plasma. *Cell Tissue Bank*. 14: 333-339.
- Saadi, M.A., Mefti, K.H., Benia, A.R., Bellala, R., Kaidi, R., 2016. Effect of season and age rams breed “Ouled Djellal” on quality of their seed and reproduction in vivo. *Int J Adv Res Biol Sci*. 3(5):42-47.
- Saadi, M.A., Mefti, K.H., Benia, A.R., Bellala, R., Kaidi, R., 2016. Effect of season and age rams breed “Ouled Djellal” on quality of their seed and reproduction in vivo. *Int J. Adv Res Biol Sci*. 3(5): 42–47.
- Salamon, S., Maxwell, W.M.C., 2000. Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci*. 62: 77-111.
- Salvador, I., Yantz, M., Viudes-De-Castro, P., Gomez, E.A., Silvestre, M. A., 2006. Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5°C. *Therio.vol*. 64: 252-260.
- Salvador, I., Viudes-de-Catra, M.P., Yaniz, J., Gomez, E.A., Silvestre, M.A., 2007. Effect of different extenders and washing of seminal plasma on buck semen storage at 5°C. *J Anim Vet Adv*. 6: 272–277.
- Samadian, F., Towhidi, A., Rezayazdi, K., Bahreini, M., 2010. Effects of dietary n -3 fatty acids on characteristics and lipid composition of ovine sperm. *Animal*. 4 : 2017-22.
- Samper, J. C., Hellander, J. C., Crabo, B. G., 1991. Relationship between the fertility of fresh and frozen stallion semen and semen quality. *J Reprod Fertil Suppl*. 44 : 107–114.
- Sánchez-Vioque, R., Santana-Méridas, O., Polissiou, M., Vioque, J., Astraka, K., Alaiz, M., ... Girón-Calle, J. 2016. Polyphenol composition and in vitro antiproliferative effect of corm, tepal and leaf from *Crocus sativus* L. on human colon adenocarcinoma cells (Caco-2). *J of Func Foods*. 24: 18-25.
- Sangeeta, S., Kulkarni, S., Arangasamy, A., Selvaraju, S., 2015b. Effect of amino acids on sperm motility, velocity parameters, plasma membrane integrity and lipid peroxidation levels at cooled and post-thawed ram epididymal semen. *Indian J Anim Sci*. 85: 729-735.
- Santiago-Moreno, J., Toledano-Díaz, A., Pulido-Pastor, A., Dorado, J., Gómez-Brunet, A., López-Sebastián, A., 2006. Effect of egg yolk concentration on cryopreserving Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) epididymal spermatozoa. *Therio*. 66: 1219-1226.
- Sapanidou, V., Taitzoglou, I., Tsakmakidis, I., Kourtzelis, I., Fletouris, D., Theodoridis, A., ... Tsantarliotou, M., 2015. Antioxidant effect of crocin on bovine sperm quality and in vitro fertilization. *Therio*. 84(8): 1273-1282.
- Sarıözkan, S., Bucak, M. N., Tuncer, P. B., Taşdemir, U., Kinet, H., & Ulutaş, P. A., 2010. Effects of different extenders and centrifugation/washing on postthaw microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of Angora buck sperm. *Therio*. 73(3): 316-323.
- Sarsaifi, K., Haron, A.W., Vejayan, J., Yusoff, R., Hani, H., Omar, M.A., Hong, L.W., Yimer, N., Ju, T.Y., Othman, A.M., 2015. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of Bali bull (*Bos javanicus*) seminal plasma proteins and their relationship with semen quality. *Therio*. 84: 956-968.
- Sarlós, P., Molnár, A., Kókai, M., Gábor, G., Rátky, J., 2002. Comparative evaluation of the effect of antioxidants in the conservation of ram semen. *Acta Vet Hungarica*. 50: 235- 245.

- Sarlós, P., Egerszegi, I., Balogh, O., Molnár, A., Cseh, S., Rátky, J., 2013. Seasonal changes of scrotal circumference, blood plasma testosterone concentration and semen characteristics in Racka rams. *Small Rum Res.* 111: 90-95.
- Schmidt, M., Betti, G., Hensel, A., 2007. Saffron in phytotherapy: Pharmacology and clinical uses. *Wien. Med. Wochenschr.* 157: 315-319.
- Scholfield, C.N., 1981. Intracellular and extracellular recordings in the isolated olfactory cortex slice and some problems associated with assessing drug action. In G.A. Kerkut and H.V. Wheal (Eds.), *Electrophysiology of Isolated Mammalian CNS Preparations*, Academic Press, New York. 133-152.
- Şen, Ç. Ç., Tekin, K., Akçay, E., 2015. Effect of egg yolk and removal of seminal fluid on semen cryopreservation in Norduz goat. *Harran Üniv Vet Fak Derg.* 4(2) : 64-67.
- Setchell, B.P., et Brooks, D., 1988. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. In: *The Physiology of Reproduction*, vol. 1 (Knobil, E. and Neill, J.D., eds.) Raven Press, New York. 753-836.
- Shahi, T., Assadpour, E., Jafari, SM., 2016. Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of ‘red gold’; saffron. *Trends Food Sci Technol.* 58 : 69-78.
- Sharafi, M., Forouzanfar, M., Hosseini, S.M., Hajian, M., Ostadhosseini, S., Hosseini, L., Abedi, P., Nili, N., Rahmani, H.R. and rezaJavaheri, A., 2009. In vitro comparison of soybean lecithin based-extender with commercially available extender for ram semen cryopreservation. *Int J Fertil Steril.* 3 (3): 149-152.
- Sharafi, M., Zhandi, M. and Sharif, A.A., 2015. Supplementation of soybean lecithin-based semen extender by antioxidants: complementary flowcytometric study on post-thawed ram spermatozoa. *Cell and Tissue Banking.* 16 (2):261-269.
- Sharma, L., Pandey, V., Nigam, R., Singh, P., Saxena, A., Swain, D., 2014. Seasonal Variations in Seminal Plasma Proteins of Buffalo. *Reprod in Dom Anim.* 49(3) : 387–391.
- Shiva, M., Gautam, A.K., Verma, Y., Shivgotra, V., Doshi, H., Kumar, S., 2011. Association between sperm quality, oxidative stress, and seminal antioxidant activity. *Clin Biochem.* 44: 319-324.
- Shquirat, W.D., Al-Daghistani, H.I., Hamad, A.W., Abdel-Dayem, M.K., and Al-Swaifi, M. 2013. Zinc, Manganese and Magnesium in Seminal Fluid and Their Relationship to Male Infertility in Jordan. *Int J of Phar and Medic Sci.* 3 (1): 01-10.
- Sicherle, C.C., Maia, M.S., Bicudo, S.D., Rodello, L., Azevedo, H.C., 2011. Lipid peroxidation and generation of hydrogen peroxide in frozen-thawed ram semen supplemented with catalase or Trolox. *Small Rum Res.* 95: 144-149.
- Silva, E.C.B., Cajueiro, J.F.P., Silva, S.V., Soares, P.C., Guerra, M.M.P., 2012. Effect of antioxidants resveratrol and quercetin on in vitro evaluation of frozen ram sperm. *Therio.* 77: 1722-1726.
- Simon, L., Emery, B. R., & Carrell, D. T., 2017. Review : Diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.* 44 : 38–56.
- Singhi, A.K., Tiwari, A.K., Singh, P.B., Udais, D., Sameer, T., Surya, K., Singh, N., Agrawal, K., and Hripda, B.D., 2010. Multivitamin and micronutrient treatment improves semen parameters of azoospermic patients with maturation arrest. *Indian J Physio Phar.* 54(2): 157-163.
- Singleton, V. L., Rossi, J. R., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid. *Am. J. Enol Vitic.* 16: 144–158.
- Smith, L. B., & Walker, W. H., 2014. The regulation of spermatogenesis by androgens. *Seminars in Cell & Devel Biol.* 30 : 2–13.
- Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Kohnke, P.L., Dacheux, J.L., Guerin, Y., Gatti, J.L., de Graaf, S.P., Druart, X., 2014. Ram seminal plasma proteome and its impact on liquid preservation of spermatozoa. *J Proteo.* 109: 245-260.
- Somashekar, L., Selvaraju, S., Parthipan, S., Ravindra, J.P., 2015. Profiling of sperm proteins and association of sperm PDC-109 with bull fertility. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 61 : 376–387.
- Somashekar, L., Selvaraju, S., Parthipan, S., Patil, S.K., Binsila, B.K., Venkataswamy, M.M., Karthik Bhat, S., Ravindra, J.P., 2017. Comparative sperm protein profiling in bulls differing in fertility and identification of phosphatidylethanolamine-binding protein 4, a potential fertility marker. *Andro.* 5 : 1032–1051.

- Snowder, G. D., Stellflug, J. N., VanVleck, L. D., 2002. Heritability and repeatability of sexual performance scores of rams. *J. Anim Sci.* 80 :1508-1511.
- Stojanović, S., Sprinz, H., Brede, O., 2001. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Arch. Bioch. Biophys.* 391: 79-89.
- Stolc, L., Jezkova, A., Stadnik, L., Louda, F., 2009. Effect of Ram's Breeds and Ages on Quantitative and Qualitative Traits of Their Sperm. *Výzkum v chovu skotu - Cattle Res.* 51: 14-21.
- Strzezek, J., Wysocki, P., Kordan, W., Kuklinska, M., 2005. Proteomics of boar seminal plasma - current studies and possibility of their application in biotechnology of animal reproduction. *Reprod Biol.* 5 : 279-290.
- Stubbs, C.D., Smith, A.D., 1984. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Bioch Biophys Acta.* 779 : 89-137.
- Sullivan, R., Mieusset, R., 2016. The human epididymis : its function in sperm maturation. *Hum Reprod Update.* 22 : 574-587.
- Surai, P.F., Brillard, J.P., Speake, B.K., Blesbois, E., Seigneurin, F., Sparks, N.H., 2000. Phospholipid fatty acid composition, vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation of duck spermatozoa. *Therio.* 53: 1025-1039.
- Swain, J.E., Miller Jr, R.R., 2000. A postcryogenic comparison of membrane fatty acids of elephant spermatozoa. *Zoo Biol.* 19 : 461-73.
- Tabbaa, M.J., Kridli, R.T., Al-Ghalban, A., Barakeh, F.S., 2006. Age related changes in scrotal circumference and some semen characteristics in Awassi rams. *Anim Reprod.* 3: 431-438.
- Taha, T.A., Abdel-Gawad, E.I., Ayoub, M.A., 2000. Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical conditions 1. Semen characteristics and hormonal levels. *Anim Sci.* 71: 317-324.
- Tavilani, H., Goodarzi, M.T., Doosti, M., Vaisi-Raygani, A., Hassanzadeh, T., Salimi, S., Joshaghani, H.R., 2008. Relationship between seminal antioxidant enzymes and the phospholipid and fatty acid composition of spermatozoa. *Reprod Biomed.* 16: 649-656.
- Tekin, K., Daşkin, A., 2016. Effect of different extenders on motility and some sperm kinematics parameters in Norduz goat semen. *Turk J Vet Anim. Sci.* 40 : 490-495.
- Thiangtum, K., Hori, T., Kawakami, E., 2012. Effect of catalase and superoxide dismutase on motility, viability and acrosomal integrity of canine spermatozoa during storage at 5°C. *Thai J Vet Med.* 42(4) : 447- 453.
- Thibault, C., 2001. A reproduction chez les mammifères et l'homme. *Ellipses.*
- Thrun, L. A., Dahl, G. E., Evans, N. P. and Karsch, F. J., 1996. Time-course of thyroid hormone involvement in the development of anestrus in the ewe. *Biol Reprod.* 55 : 833-837.
- Thun, R., Hurtado, M., Janett, F., 2002. Comparison of Biociphos-plus and TRIS-egg yolk extender for cryopreservation of bull semen. *Therio.* 57 : 1087-1094.
- Tkáčová, J., and Angelovičová, M., 2012. Heat Shock Proteins (HSPs) : a Review. *Anim Sci and Biotech.* 45 (1).
- Toe, F., Rege, J.E.O., Mukasa-Mugerwa, E., Tembely, S., Anindo, D., Baker, R.L., Lahlou Kassi, A., 2000. Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep. I. Genetic parameters of testicular measurements in ram lambs and relationship with age at puberty in ewe lambs. *Small Rum Res.* 36: 227-240.
- Tomas, C., Blanch, E., Cebrian, B., Moce, E., 2013. In vivo fertilising ability of frozen-thawed boar sperm treated with cholesterol-loaded cyclodextrins prior to cryopreservation. *Anim Reprod Sci.* 140: 77-82.
- Tomas, C., Gomez-Fernandez, J., Gomez-Izquierdo, E., Moce, E., de Mercado, E., 2014. Addition of cholesterol-loaded cyclodextrins to the thawing extender: effects on boar sperm quality. *Reprod Domest Anim.* 49: 427-432.
- Towhidi, A., & Parks, J. E., 2012. Effect of n-3 fatty acids and α -tocopherol on post-thaw parameters and fatty acid composition of bovine sperm. *J of assisted reprod and gen.* 29(10) : 1051-1056.
- Towhidi, A., Zeinoaldini, S., Ardebili, R., Davachi, N.D., Nasiri, A.H., 2013. Combined n-3 fatty acids and α -tocopherol supplementation improved the ovine sperm cryosurvival. *Iran J Biotech.* 11 : 238-43.

- Tran, L. V., Malla, B. A., Kumar, S., & Tyagi, A. K., 2016. Polyunsaturated Fatty Acids in Male Ruminant Reproduction — A Review. *Asian-Australasian J of Anim Sci.* 30(5) : 622-637.
- Travis, A.J., & Kopf, G.S., 2002. The role of cholesterol efflux in regulating the fertilization potential of mammalian spermatozoa. *J of Clin Invest.* 110: 731–736.
- Tuncer, P.B., Sariözkan, S., Bucak, M.N., Ulutaş, P.A., Akalın, P.P., Büyükleblebici, S. and Canturk, F., 2011. Effect of glutamine and sugars after bull spermatozoa cryopreservation. *Therio.* 75(8) :1459-1465.
- Tuncer, P.B., Taşdemir, U., Büyükleblebici, S., Özgürtaş, T., Coşkun, E., Erol, H., Aydın, F.N. and Gürcan, İ.S., 2013. Effects of different doses of trehalose supplementation in egg yolk extender in frozen-thawed Angora buck semen. *Small Rum Res.* 113(2): 383-389.
- Usuga, A., Rojano, B., and Restrepo, G., 2017. Effect of Seminal Plasma Components on the Quality of Fresh and Cryopreserved Stallion Semen. *J of Eq Vet Sci.* 58: 103-111.
- Vaez, A., Mardani, M., and Razavi, S., 2014. Impact of saffron on rat sperm membrane integrity and spermatogenesis status. *Adv biomed res.* 3: 146.
- Vagnini, L., Baruffi, R.L., Mauri, A.L., Petersen, C.G., Massaro, F.C., Pontes, A., Oliveira, J.B., Franco, J.G. Jr., 2007. The effects of male age on sperm DNA damage in an infertile population. *Reprod Biomed Online.* 15: 514-9.
- Valente, L.M.M., da Paixão, D., do Nascimento, A.C., dos Santos, P.F.P., Scheinvar, L.A., Moura, M.R.L., Tinoco, L.W., Gomes, L.N.F., da Silva, J.F.M., 2010. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chem.* 123: 1127-1131.
- Van den Berghe, F., Paris, M. C. J., Briggs, M. B., Farstad, W. K., & Paris, D. B. B. P., 2018. A two-step dilution tris-egg yolk extender containing Equex STM significantly improves sperm cryopreservation in the African wild dog (*Lycaon pictus*). *Cryobiol.* 80 : 18–25.
- Varner, D.D., Vaughan, S.D., Johnston, L., 1991. Use of a computerized system for evaluation of equine spermatozoa motility. *Am J Vet Res.* 52 : 224-228.
- Vishwanath, R., Shannon, P., Curson, B., 1992. Cationic extracts of egg yolk and their effects on motility, survival and fertilizing ability of bull sperm. *Anim Reprod Sci.* 29 : 185-194.
- Vishwanath, R., Shannon, P., 1997. Do sperm cells age ? A review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature. *Reprod Fertil Dev.* 9 : 321–331.
- Vishwanath, R. and Shannon, P.S., 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62 : 23–53.
- Vitku, J., Kolatorova, L., Hampl, R., 2017. Occurrence and reproductive roles of hormones in seminal plasma. *Basic and Clinical Andrology.* 27(1).
- Vyt, P., D. Maes, C. Quinten, T. Rijsselaere, W. Deley, M. Aerts, A. de Kruif, and A. van Soom. 2008. Detailed motility examination of porcine semen and its predictive value towards reproductive performance in sows. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* 77 : 291–298.
- Walstra, P., 1990. On the Stability of Casein Micelles. *J. Dairy Sci.* 73 : 1965–1979.
- Wani, A.L., Parveen, N., Ansari, M.O., Ahmad, M.F., Jameel, S., Shadab, G., 2017. Zinc: An element of extensive medical importance. *Curr Med Res Pract.* 7 (3) : 90-8.
- Wassall, S.R., Stillwell, W., 2009. Polyunsaturated fatty acid-cholesterol interactions : domain formation in membranes. *Bioch Biophys Acta.* 1788 : 24-32.
- Watanabe, M., Yasuo, S., Watanabe, T., Yamamura, T., Nakao, N., Ebihara, S., Yoshimura, T., 2004. Photoperiodic regulation of type 2 deiodinase gene in Djungarian hamster: possible homologies between avian and mammalian photoperiodic regulation of reproduction. *Endocrino.* 145 : 1546–1549.
- Waterhouse, K.E., Hofmo, P.O., Tverdal, A., Miller Jr, R.R., 2006. Within and between breed differences in freezing tolerance and plasma membrane fatty acid composition of boar sperm. *Reprod.* 131 : 887-94.
- Wathes, D.C., Abayasekara, D.R.E., Aitken, R.J., 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol Reprod.* 77 : 190-201.
- Watson, P.F., 1975. The interaction of egg yolk and ram spermatozoa studied with a fluorescent probe. *J Reprod Fertil.* 42: 105-111.
- Watson, P.F., 1976. The protection of ram and bull spermatozoa by low density lipoprotein fraction of egg yolk during storage at 5°C and deep freezing. *J Therm Biol.* 1 : 137-141.
- Watson, P.F., 1981. The effects of cold shock on sperm cell membranes. In *The Effects of Low Temperatures*

- on Biological Membrane. Ed Morris GJ and Clarke A. 189– 218.
- Watson, P.F., 1990. Artificial insemination and the preservation of semen. In : Lamming GE (Ed.). *Marshall's Physiology of Reproduction*. Edinburgh : Churchill-Livingstone. v.2: 747-869.
- Westfalewicz, B., Dietrich, M.A., Ciereszko, A., 2015. Impact of cryopreservation on bull semen proteome. *J Anim Sci*. 93 : 5240–5253.
- Westfalewicz, B., Dietrich, M.A., Mostek, A., Partyka, A., Bielas, W., Nizanski, W., Ciereszko, A., 2017. Identification and functional analysis of bull (*Bos taurus*) cauda epididymal fluid proteome. *J Dairy Sci*. 24 30527-30521.
- White, I.G., 1993. Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation : A review. *Reprod Fertil Dev*. 5 : 639-58.
- Wirth, J.J., Rossano, M.G., Daly, D.C., Paneth, N., Puscheck, E., Potter, R., and Diamond, M.P., 2007. Ambient manganese exposure is negatively associated with human sperm motility and concentration. *Epidemiology*. 18: 270-273.
- Woitkewitsch, A.A., 1940. Dependence of seasonal periodicity in gonadal changes on the thyroid gland in *Sturnus vulgaris* L. *Dokl. Acad. Sci. U.S.S.R.* 27 : 741-745.
- Woodman, D.D., Price, C.P., 1972. Estimation of serum total lipids. *Clin Chim Acta*. 38: 39-43.
- Wybenga, D.R., Pileggi, V.J., Dirstine, P.H., Di Giorgio, J., 1970. Direct manual determination of serum total cholesterol with a single stable reagent. *Clin Chem*. 16: 980-984.
- Yamaguchi, S., Miura, C., Kikuchi, K., Celino, F.T., Agusa, T., Tanabe, S., et al., 2009. Zinc is an essential trace element for spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106(26):10859-64.
- Yasuo, S., Nakao, N., Ohkura, S., Iigo, M., Hagiwara, S., Goto, A., Ando, H., Yamamura, T., Watanabe, M., Watanabe, T., Oda, S., Maeda, K., Lincoln, G.A., Okamura, H., Ebihara, S., Yoshimura, T., 2006. Long-day suppressed expression of type 2 deiodinase gene in the mediobasal hypothalamus of the Saanen goat, a short-day breeder: implication for seasonal window of thyroid hormone action on reproductive neuroendocrine axis. *Endocrinology*. 147:432–440.
- Yen, P.M., 2001. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev*. 81 : 1097-1142.
- Yi, Y.J., Im, G.S., Park, C.S., 2002. Lactose-egg yolk diluent supplemented with N-Acetyl-D-glucosamine affect acrosome morphology and motility of frozenthawed boar sperm. *Anim Reprod Sci*. 74 :187-194.
- Yodmingkwan, P., Guntaprom, S., Jaksamrit, J., & Lertchunhakiat, K., 2016. Effects of Extenders on Fresh and Freezing Semen of Boer Goat. *Agric and Agric Sci Procedia*. 11 : 125–130.
- Yuyan, L., Junqing, W., Weijin, Z., and Ersheng, G., 2012. Effects of manganese on routine semen quality parameters: results from a populationbased study in China. *BMC Public Health*. 12: 919.
- Zachut, M., Arieli, A. and Moallem, U., 2011. Incorporation of dietary n-3 fatty acids into ovarian compartments in dairy cows and the effects on hormonal and behavioral patterns around estrus. *Reprod*. 141 (6): 833– 40.
- Zadeh Hashem, E., Haddad, R., Eslami, M., 2017. Evaluation of ram semen enrichment with oleic acid on different spermatozoa parameters during low temperature liquid storage. *Small Rum Res*. 150: 30-39.
- Zamiri, M.J., Khodaei, H.R., 2005. Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams. *Anim Reprod Sci*. 88: 245-255.
- Zamiri, M.J., Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A., 2010. Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. *Small Rum Res*. 94: 132-136.
- Zaniboni, L., Rizzi, R. and Cerolini, S., 2006. Combined effect of DHA and α -tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Therio*. 65 : 1813–27
- Zhao, J., Dong, X., Hu, X., Long, Z., Wang, L., Liu, Q., ... Li, L., 2016. Zinc levels in seminal plasma and their correlation with male infertility: A systematic review and meta-analysis. *Scientif Repo*. 6(1).
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 64 (4): 555- 559.

Webographie :

- 1- <http://www.agriculture.gov.ma/sites/default/files/AgricultureEnChiffre2017VAVF.pdf>
- 2- <http://www.anoc.ma/les-races/races-ovines/boujaad/> le 31/1/2018
- 3- <http://www.anoc.ma/page2.htm> (31/1/2018)
- 4- [https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&ved=2ahUKEwjS_OuJvNzkAhWllhQKHSXrAY8QjRx6BAgBEAQ&url=http%3A%2F%2Fagroeleavage.blogspot.com%2Fp%2Fblogpage_1671.html&psig=AOvVaw3eCi_DCv4XI7GgK4G9tAGB&ust=1568968042907058](https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjS_OuJvNzkAhWllhQKHSXrAY8QjRx6BAgBEAQ&url=http%3A%2F%2Fagroeleavage.blogspot.com%2Fp%2Fblogpage_1671.html&psig=AOvVaw3eCi_DCv4XI7GgK4G9tAGB&ust=1568968042907058).
le 19/9/2019.
- 5- https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&ved=2ahUKEwiAoObPu9zkAhV9AWMBHXz5BpMQjRx6BAgBEAQ&url=http%3A%2F%2Fachninmohamed.e-monsite.com%2Falbum%2Fimages-du-salon-international-agr-meknes-maroc%2Fbrebis-de-race-boujaad.html&psig=AOvVaw3eCi_DCv4XI7GgK4G9tAGB&ust=1568968042907058 le 19/9/2019
- 6- <http://www.agrimaroc.ma/patrimoine-oleicole-kelaa-sraghna/> le 16/2/2019