



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomique  
Département de Biologie

# MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en science biologique  
Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction

## *Thème*

**Etude de l'huile essentielle du (*Romarinus officinalis*) à  
cinq doses différentes sur la structure épидидymaire des  
lapins mâles infantiles de la population blanche**

Présenté par : M<sup>r</sup> BOUDJEMAI Amar

M<sup>r</sup> MOSTEFAI Abdelamine

Soutenu devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> MEDJDOUB-BENSAAD F. « professeur »

Présidente

M<sup>me</sup> LAKABI L. Ep. AHMANACHE « Maître de conférences B »

Promotrice

M<sup>me</sup> MEHALI-OULDRAHI N. « Doctorante »

Co-promotrice

M<sup>lle</sup> GHERMAH D. « Maître assistante B, UMMTO »

Examinatrice

**2019/2020**

## *Remerciements*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et grand respect à Dr. LAKABI L. qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré, nous la remercions pour sa patience et ses encouragements.*

*Toute notre gratitude s'adresse aussi à notre Copromotrice M<sup>lle</sup> MEHALI N. pour son aide et sa contribution à la réussite de ce modeste mémoire.*

*Nous voudrions aussi exprimer nos sincères remerciements à Madame MEDJDOUB F. pour l'intérêt qu'elle porte à ce travail et nous avoir témoigné sa confiance en acceptant de présider la commission d'examen.*

*On exprime nos reconnaissances à Mademoiselle GUERMAH D. qui a bien voulu nous accorder une partie de son temps pour examiner et juger ce travail.*

*En dernier lieu, nous remercions chaleureusement toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

*Ma très chère mère, ma sœur Lynda, mon  
frère Malik qui m'ont beaucoup soutenu  
durant mon cursus.*

*Amine*

## Dédicaces

*Je dédie ce travail à :*

*Ma très chère mère, mon père ; ma sœur  
Nadine ainsi que mes amies qui m'ont soutenu  
durant mon cursus.*

*Amar*

## Liste des figures et des planches

### Introduction.....1

### Chapitre I : Rappel sur l'anatomie et l'histologie de l'appareil reproducteur du lapin mâle

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| 1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle .....     | 3  |
| 1.1. Anatomie du testicule.....                       | 4  |
| 1.1.1. Enveloppes testiculaires.....                  | 4  |
| 1.2. Anatomie de l'épididyme.....                     | 5  |
| 2. Histologie du testicule.....                       | 6  |
| 2.1. Tubes séminifères.....                           | 8  |
| 2.1.1. Cellules de la lignée germinale.....           | 8  |
| 2.1.1.1. Spermatogonies.....                          | 8  |
| 2.1.1.2. Spermatocytes.....                           | 9  |
| 2.1.1.3. Spermatides.....                             | 9  |
| 2.1.1.4. Spermatozoïdes.....                          | 9  |
| 2.2. Tissu interstitiel.....                          | 10 |
| 2.2.1. Cellules de Sertoli.....                       | 10 |
| 2.2.2. Cellules de Leydig.....                        | 11 |
| 2.3. Rete testis.....                                 | 11 |
| 2.4. Canaux efférents.....                            | 12 |
| 2.5. Vascularisation et innervation du testicule..... | 12 |
| 3. Histologie de l'épididyme.....                     | 13 |
| 3.1. Cellules principales.....                        | 14 |
| 3.2. Cellules basales.....                            | 14 |
| 3.3. Cellules claires.....                            | 15 |
| 3.4. Cellules apicales.....                           | 15 |
| 3.5. Cellules en halos.....                           | 15 |
| 3.6. Cellules étroites.....                           | 15 |
| 3.7. Lumière du canal épидидymaire.....               | 16 |

### Chapitre II : Physiologie de la reproduction

|                                                        |    |
|--------------------------------------------------------|----|
| 1. Développement des gonades et la Puberté.....        | 17 |
| 1.1. Différentiation et développement des gonades..... | 17 |
| 1.2. Développement pondérale.....                      | 18 |
| 1.3. Maturation sexuelle.....                          | 18 |
| 1.3.1. Phase infantile.....                            | 18 |
| 1.3.2. Phase pré pubertaire.....                       | 18 |
| 1.3.3. Puberté.....                                    | 18 |
| 1.3.4. Maturité sexuelle.....                          | 19 |
| 2. Fonctions physiologiques du testicule.....          | 19 |
| 2.1. Spermatogénèse.....                               | 19 |
| 2.1.1. Spermatocytogenèse.....                         | 20 |
| 2.1.2. Méiose.....                                     | 20 |

## Sommaire

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.3. Spermiogénèse.....                                           | 20 |
| 2.2. Stéroidogénèse.....                                            | 21 |
| 3. Physiologie et fonction de L'épididyme.....                      | 23 |
| 3.1 Fonction de l'épithélium de l'épididyme.....                    | 23 |
| 3.1.1. Transport des spermatozoïdes.....                            | 23 |
| 3.1.2 Durée du transit.....                                         | 23 |
| 3.1.3 Maturation des spermatozoïde.....                             | 24 |
| 3.1.4 Stockage.....                                                 | 25 |
| 3.2 Autres fonctions de l'épididyme.....                            | 25 |
| 3.2.1 Absorption et réabsorption.....                               | 25 |
| 3.2.2 Métabolisme.....                                              | 25 |
| 3.2.2 Spermiophagie.....                                            | 25 |
| 4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction.....         | 25 |
| 4.1 Régulation hormonale du testicule.....                          | 26 |
| 4.1.1 Régulation hypothalamo-hypophysaire.....                      | 26 |
| 4.1.2 Régulation intragonadique des fonctions testiculaires.....    | 27 |
| 4.2 Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire.....      | 27 |
| 5. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction..... | 28 |
| 5.1 Effet de l'alimentation.....                                    | 29 |
| 5.2 Effet de la durée d'éclairement.....                            | 29 |
| 5.3 Effet de l'hygrométrie.....                                     | 29 |
| 5.3 Effet de l'hygrométrie.....                                     | 29 |
| 5.4 Effet de la température.....                                    | 29 |
| 5.5 Effet des huiles essentielles.....                              | 30 |

## Chapitre III : Matériels et méthodes

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Matériel biologique.....                                      | 31 |
| 1.1. Modèle animal.....                                          | 31 |
| 1.2. Modèle végétale (huiles essentielles).....                  | 32 |
| 1.2.1. Romarin à verbénone ( <i>Romarinus officinalis</i> )..... | 32 |
| 1.3. Autres Matériels.....                                       | 33 |
| 2. Expérimentation.....                                          | 33 |
| 2.1. Protocole expérimentale.....                                | 33 |
| 2.2. Pesée et administration des huiles essentielles.....        | 33 |
| 2.3. Sacrifices et prélèvement.....                              | 34 |
| 3. Etude histologique.....                                       | 35 |
| 3.1. Fixation des échantillons.....                              | 35 |
| 3.2. Déshydratation et éclaircissement.....                      | 36 |
| 3.3.Imprégnation.....                                            | 36 |
| 3.4.Inclusion.....                                               | 37 |
| 3.5. Confection des coupes et collage.....                       | 38 |
| 3.6. Déparaffinage et réhydratation.....                         | 38 |
| 3.7. Coloration topographique et Déshydratation.....             | 39 |
| 3.8. Observation des lames .....                                 | 39 |
| 4. Etudes statistique.....                                       | 40 |

**Chapitre IV : Résultats et Discussion**

|                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. Résultat de l'étude macroscopique.....                   | 41        |
| 1.1. Evolution du poids vif des animaux.....                | 41        |
| 1.2. Poids épидидymaire.....                                | 42        |
| 1.3. Poids relatifs épидидymaire.....                       | 44        |
| 2. Résultats de l'étude microscopique.....                  | 46        |
| 2.1. Epididymes des lapins témoins.....                     | 46        |
| 2.2. Epididymes des lapins traités à différentes doses..... | 47        |
| 3. Discussion des résultats.....                            | 49        |
| <b>Conclusion.....</b>                                      | <b>51</b> |
| <b>Référence bibliographique.....</b>                       | <b>52</b> |

# **Introduction**



### **Introduction :**

Le lapin est l'espèce considérée à la fois comme animal domestique, animal de compagnie et animal modèle de recherche, possédant de nombreuses caractéristiques biologiques ; forte prolificité, rapidité de croissance, court intervalle entre générations et une bonne qualité de viande, ceci lui confère un statut particulier.

Cependant le taux de fertilité des lapins mâles de la population blanche est plus faible en Algérie, et l'amélioration de la fertilité de ces derniers présente un intérêt économique majeur en favorisant un élevage plus rentable.

Le lapin est considéré comme un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de reproductivité permettant ainsi la mise en évidence de certains processus reproducteurs comme les changements morphologique du cycle épithélial séminifère (Ewuola et Equnike, 2010).

La fertilité masculine est marquée par une différenciation gonadique adéquate, une maturité de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire, une différenciation des cellules testiculaires néonatales, une descente des testicules et un début de la puberté couplée avec la prolifération et la maturité des cellules testiculaires (Vigueras-Villasenor et *al.*, 2013).

L'épididyme, long tubule pelotonné reliant le testicule au canal déférent, joue un rôle très important dans la fertilité des mâles. A leur sortie du testicule, les spermatozoïdes sont fonctionnellement immatures et ce n'est qu'au cours de leur transit à travers l'épididyme qu'ils acquièrent progressivement la capacité à se mouvoir et à féconder un ovocyte.

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent agir sur la fonction de reproduction, (tel que l'alimentation, la durée d'éclairement, l'hydrométrie, la température et les huiles essentielles ...), et une meilleure compréhension de l'effet de ses facteurs nous permet de mieux les utiliser à fin d'améliorer et d'optimiser la fertilité de l'animal.

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogènes dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en le perturbant (El Kalamouni, 2010).

Le but de notre travail est de mettre en évidence les effets de l'huiles essentielles ; le Romarin à verbénone sur les structures gonadiques et plus précisément l'épididyme des lapins mâles infantiles, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire et épидидymaire.

De ce fait, notre travail s'organise en quatre chapitres, le premier porte sur des rappels anatomique et histologique ou nous allons définir les différents organes constituant de l'appareil reproducteur du lapin mâle, le second présente la physiologie de la reproduction ou nous allons nous attarder sur le fonctionnement des gonades, au troisième on aborde les matériels et méthodes ou nous allons définir l'huile essentiel et le protocole utiliser , et en fin le dernier chapitre rapporte nos résultats obtenus et l'interprétation de ces résultats, finissant par une conclusion générale.

**Chapitre I :**  
Rappel sur l'anatomie et l'histologie  
de l'appareil reproducteur du lapin  
mâle

L'organisation des appareils reproducteurs est la même chez tous les mammifères et en particulier chez les ovins, caprins, porcins et lapins, avec néanmoins des différences concernant la taille, le poids et la forme des organes.

L'appareil reproducteur mâle est formé d'un ensemble d'organes assurant la production de sperme et son dépôt dans les voies génitales femelles et la sécrétion d'hormones sexuelles.

### 1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

Le terme « appareil génital male » désigne tous les organes et structures qui participent à la formation, la maturation, l'émission sous pression des différents constituants du sperme, et cela comprend ; les testicules, l'épididyme, le canal déférent, les vésicules séminales, les canaux éjaculateurs, la prostate et le pénis (figure1) (Jardin et De Fourmestaux, 1984).

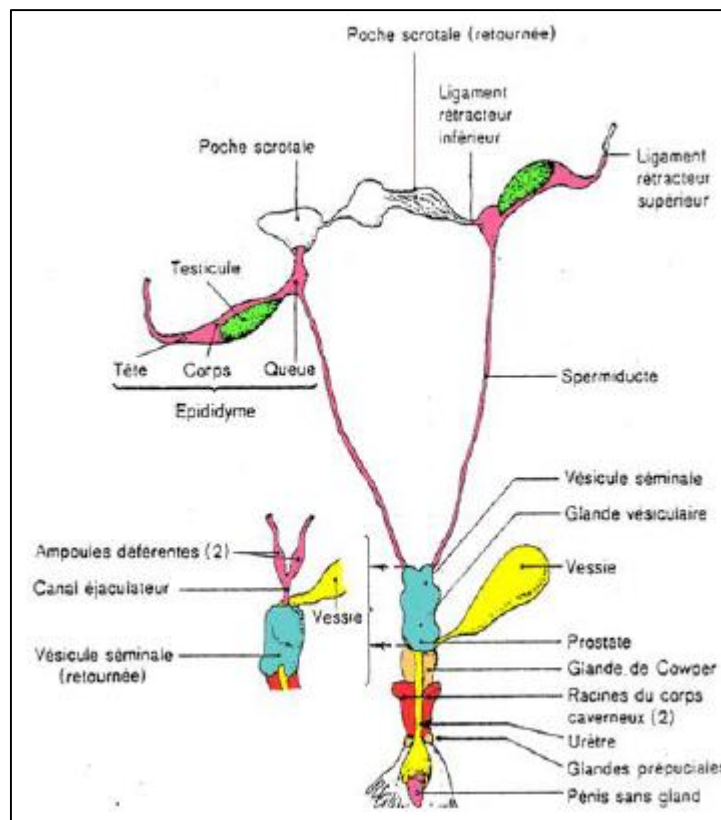


Figure 1 : Appareil reproducteur du lapin mâle, vue dorsale (Lebas, 1996)

### **1.1. Anatomie du testicule**

Le testicule est la glande génitale du mâle, qui est un organe pair, ovoïde aminci aux extrémités, logé dans deux scrota bien distincts, en position périnéale haute.

Les testicules du lapin sont alternativement exorchide lorsqu'ils montent dans la cavité abdominale en raison de l'absence de fermeture du canal inguinal, sous l'effet de la frayeur, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster (Boussit, 1989 ; Barone, 2001).

Le testicule mesure de 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et pèse 1 à 2g chez l'adulte (Barone, 2001).

Il peut être divisé en deux compartiments principaux : le compartiment extratubulaire comprend une partie intravasculaire en communication libre avec la zone interstitielle, où se situent les voies lymphatiques et les cellules de Leydig productrices d'androgènes et le compartiment intratubulaire consiste en une partie basale qui se trouve en communication restreinte avec le milieu interstitiel. Protégé et soutenu par une enveloppe appelée scrotum (Martin et Barry, 2002).

#### **1.1.1. Enveloppes testiculaires**

L'organisation interne du testicule est semblable chez les différents mammifères étudiés. Les testicules sont délimités par une enveloppe dense appelée albuginée.

Les enveloppes du testicule protègent et soutiennent cette glande ainsi que ses premières voies d'excrétion (épididyme et début du conduit déférent) et ses vaisseaux.

On peut distinguer six plans membraneux, dont deux plans superficiels (le scrotum et le dartos), un plan intermédiaire (la tunique celluleuse : fascia spermatique externe) et trois plans profonds (le crémaster, la tunique fibreuse : fascia spermatique interne et la tunique séreuse vaginale).

Le scrotum n'est bien visible que lors des périodes d'activité sexuelle, où il loge les testicules, il est alors double et forme de chaque côté un sac volumineux, très allongé et dirigé caudalement sous le bassin, jusqu'au voisinage du prépuce, dont il reste indépendant. Sa peau très fine est presque glabre (Barone, 2001).

Le dartos est presque absent, mais le muscle crémaster est très développé. C'est un sac musculaire complet, directement continu avec le muscle oblique interne de l'abdomen autour de l'anneau inguinal profond, qui est large, d'un diamètre suffisant pour livrer passage au testicule et à l'épididyme. Il reçoit en outre, quelques faisceaux du muscle transverse. Lors

d'un stress, le muscle crémaster se contracte et entraîne la rétraction du testicule dans la cavité abdominale.

La tunique vaginale est très ample, piriforme, et le canal vaginal est long et vaste. La large communication de celui-ci avec la cavité générale du péritoine impose des précautions particulières pour la castration (figure 2).

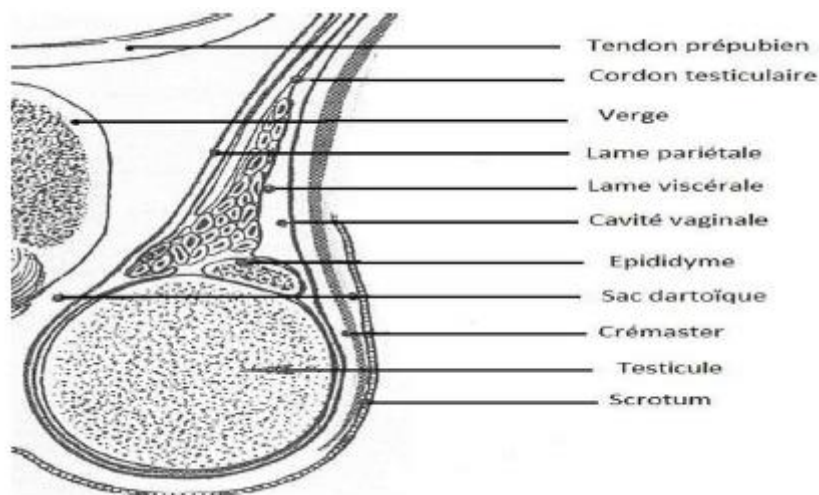


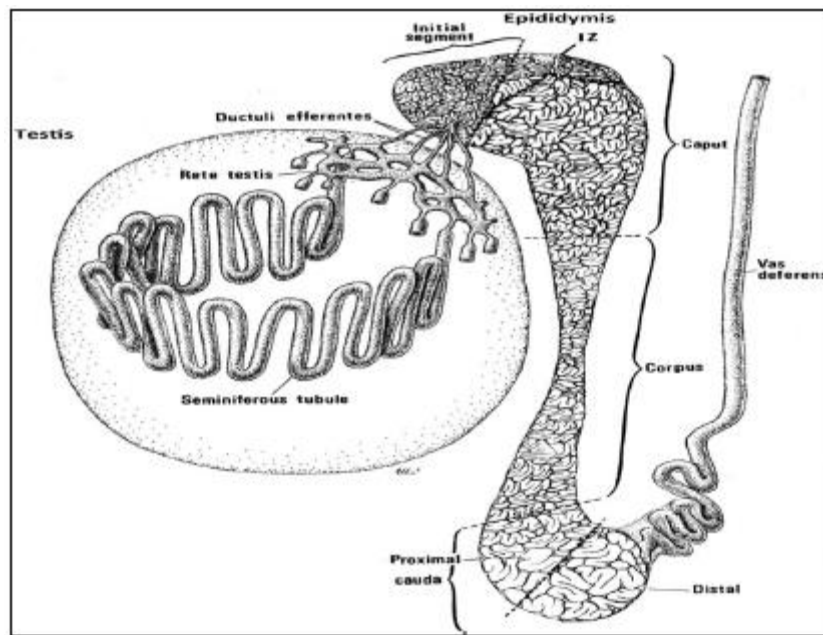
Figure 2 : Représentation schématique des enveloppes testiculaires (Barone, 2001)

## 1.2. Anatomie de l'épididyme

L'épididyme est un tube de longueur variable selon les espèces (5 m chez l'homme, 6mchez le lapin) qui relie les canaux efférents au canal déférent.

Ce tube très contourné qui forme des lobules séparés par des travées conjonctives présente trois grandes parties anatomiques : la tête (partie proximale), le corps (partie médiane) et la queue (partie distale).

Ces parties sont également subdivisées en plusieurs segments chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives (figure 3) (Thibault et Levasseur, 2001).



**Figure 3 : Situation et compartimentation de l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988)**

Autour de ce canal, on note la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses, dont les contractions permettent le transit des spermatozoïdes (Bonnes et *al.*, 2005).

## 2. Histologie du testicule

Selon Dadoune et *al.* (2000), le testicule est enveloppé d'une tunique blanche, épaisse et résistante parcourue par les vaisseaux testiculaires ; l'albuginée qui s'épaissit pour former le médiastin du testicule ou corps d'highmore au niveau du *rete testis*. Des septa fibreux provenant du médiastin du testicule s'étendent à l'intérieur de la masse testiculaire, divisant le tissu en 250 à 300 lobules. Chaque lobule contient d'un à quatre tubes séminifères (Figure 4)(Abraham et Kierszenbaum, 2006).

Le parenchyme testiculaire est constitué de deux parties bien distinctes : les tubes séminifères qui produisent les spermatozoïdes et le tissu inter tubulaire (aussi appelé interstitiel). Ce tissu fortement irrigué et innervé est aussi le lieu de production des stéroïdes sexuels, et en particulier des androgènes testiculaires (testostérone) (Bonnes et *al.*, 2005).

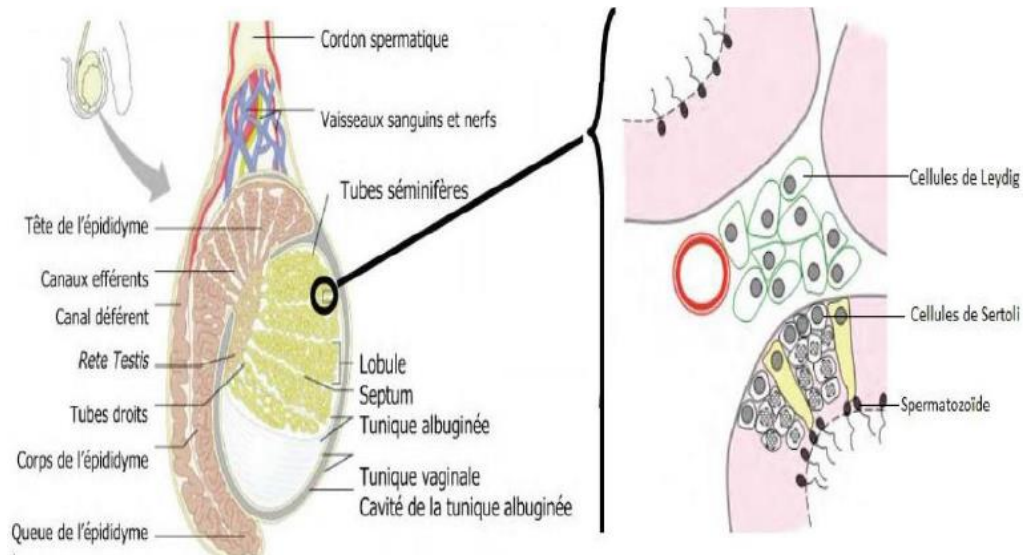


Figure 4 : Organisation interne du testicule (Senger, 2012)

## 2.1 Tubes séminifères

Les tubes séminifères sont très longs et flexueux (30cm à 1m de long pour un diamètre de 300 à 400  $\mu\text{m}$ ). Ils sont constitués essentiellement par les cellules germinales (aux différents stades correspondant à des localisations spécifiques dans l'épithélium séminifère) et des cellules de soutien : les cellules de Sertoli (Albert et *al.*, 2009). Chaque tube séminifère est limité par une paroi propre : la gaine périé tubulaire et renferme l'épithélium séminal constitué par les éléments de la lignée germinale et les cellules de Sertoli (Figure 5) (Dadoune et Siffroi, 2000).



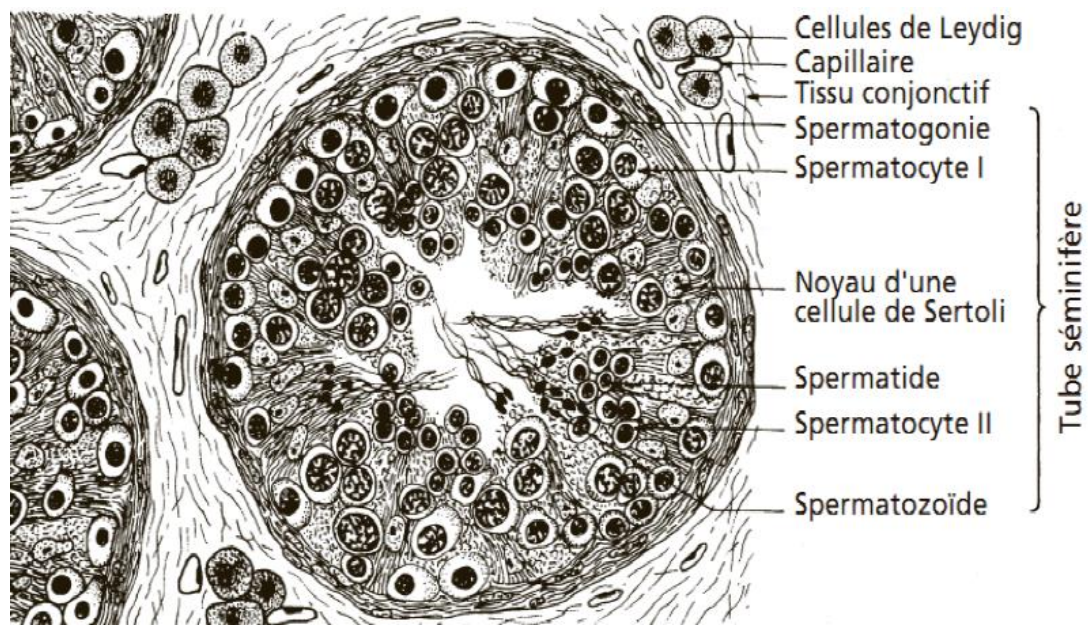


Figure 5 : Organisation des tubes séminifères des mammifères (Le Moigne et Foucier, 2009)

### 2.1.1. Cellules de la lignée germinale

La cellule germinale est une cellule animale de la lignée reproductrice. C'est l'ensemble des éléments qui, à partir de cellules souches ou spermatogonies aboutissent à la formation et la libération des gamètes mâles ou spermatozoïdes dans la lumière des tubules séminifères par une combinaison de division et de différenciation cellulaire (Jégou et *al.*, 2014).

Dadoune et Siffroi (2000), rappellent que les cellules germinales sont disposées en couches superposées qui s'étendent entre la membrane basale et la lumière du tube séminifère. Trois types de cellules germinales sont impliquées dans la spermatogenèse : les spermatogonies, les spermatocytes et les spermatides. A chaque type cellulaire correspond une phase du processus spermatogénétique.

#### 2.1.1.1 Spermatogonies

Les spermatogonies se trouvent en contact direct avec la lame basale, et sont reconnaissable grâce à l'état de condensation de leur chromatine. On y reconnaît deux types de Spermatogonies, les spermatogonies de type A et les spermatogonies de type B.

Les spermatogonies de type A, caractérisées par un noyau condensé se subdivisent en deux sous-types qui se divisent par mitoses : celles qui possèdent un noyau sombre avec des nucléoles périphériques et des vacuoles nucléaires dites spermatogonies Ad (dark) et celles

qui présentent des noyaux pales, des nucléoles centraux et sans vacuoles nucléaires dites Ap (pale).

Les spermatogonies à chromatine fine et sombre Ad (dark), sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense, les spermatogonies à chromatine claire Ap (poussiéreuses ou pâles) sont des cellules de renouvellement dont les cellules filles sont des spermatogonies B à noyau ovalaire clair à chromatine mottée et au nucléole bien visible (Sp B).

#### **2.1.1.2 Spermatocytes**

D'après Marthin et *al* (2001), deux types de spermatocytes sont produits au cours de cette activité spermatique : le spermatocyte de 1<sup>er</sup> ordre et le spermatocyte de 2<sup>ème</sup> ordre.

Le premier type est une cellule déjà engagée dans les premières étapes de la méiose, caractérisée par un cytoplasme abondant et un noyau volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments, facilement reconnaissable.

Le spermatocyte II est le résultat de la première division de la méiose du spermatocyte I, c'est une cellule plus petite qui va rapidement terminer la deuxième division de la méiose pour engendrer des cellules à n chromosomes ; les spermatides.

#### **2.1.1.1.3 Spermatides**

Les spermatides très nombreux et situés en position interne, ce sont des cellules de petite taille de 6 à 7 µm de diamètre, ovoïdes à noyau rond et clair avec un appareil de Golgi juxta nucléaire (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

Ces cellules vont subir une différenciation durant laquelle elles vont devenir plus petites et effilées correspondant aux spermatozoïdes. Ce processus est la spermiogénèse (Ramé et *al.*, 2007).

#### **2.1.1.4 Spermatozoïdes**

Selon Vaissaire (1977), les spermatozoïdes sont des cellules profondément transformées aptes à féconder un ovule maternel d'une même espèce. La structure morphologique du spermatozoïde du lapin est semblable aux autres mammifères, de 55 à 57 µm de diamètre. Il comporte deux parties principales, la tête (formes et dimensions variables) et la queue unies par un col très bref (Figure 6).

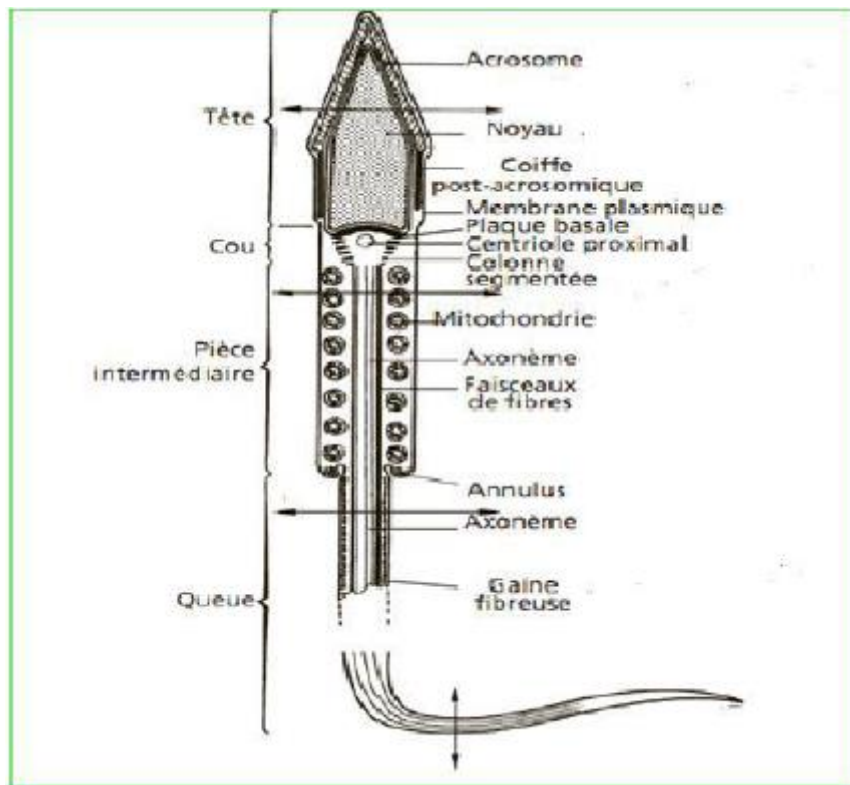


Figure 6 : Spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucier, 2009)

## 2.2 Tissu interstitiel

Dans les espaces inter tubulaires, le tissu interstitiel qui héberge les cellules de Leydig, productrices d'hormones stéroïdiennes, apparaît comme un tissu conjonctif lâche, vascularisé et innervé. L'organisation interstitielle peut être très différente d'une espèce de mammifères à une autre. Néanmoins, quels que soient les mammifères, l'interstitiel contient toujours des vaisseaux lymphatiques plus ou moins développés et des capillaires sanguins propices à la circulation des hormones périphériques et testiculaires, des fibroblastes, des macrophages, des leucocytes, des mastocytes et de nombreux figurés de sang (Jégou et *al.*, 2014).

### 2.2.1 Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli représentent le type cellulaire prédominant de l'épithélium séminifère jusqu'à la puberté. Après la puberté, elles représentent environ 10% des cellules bordant les tubes séminifères.

Les cellules de Sertoli sont des cellules cylindriques s'étendent de la lame basale jusqu'à la lumière du tube séminifère. Elles jouent un rôle de «ponts» entre l'espace inter tubulaire et la lumière de tube séminifère (Figure 7) (Abraham, 2006).

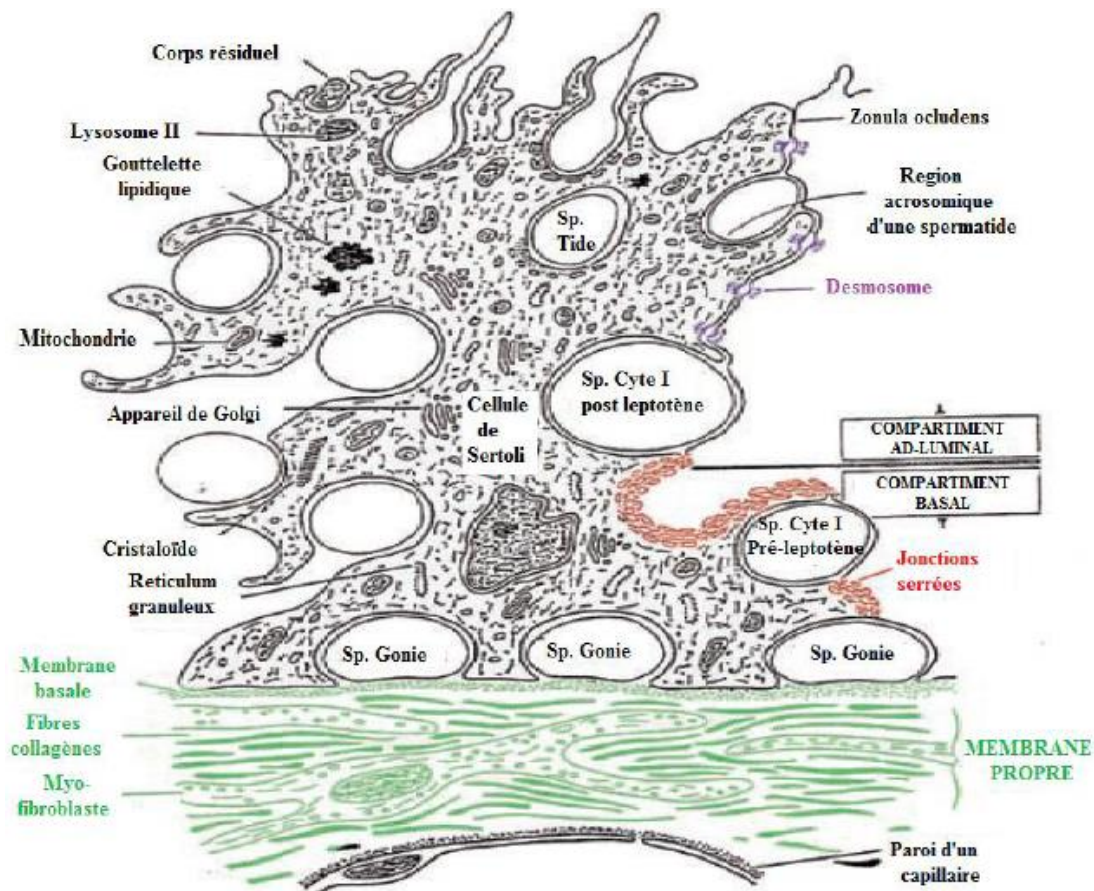


Figure 7 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993)

### 2.2.2 Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig sont des stéroïdogènes qui se différencient dans le deuxième compartiment du testicule : l'espace interstitiel. Ces cellules produisent des androgènes qui sont essentiels pour la masculinisation et l'apparition des caractères sexuels primaires et secondaires (Dizier et Maillard, 2014).

Les cellules de Leydig, représentent le type cellulaire principal du tissu de soutien interstitiel situé entre les tubes séminifères, elles synthétisent et sécrètent les hormones sexuelles mâles et d'autres substances non stéroïdiennes. Elles sont soit isolées, soit regroupées en amas et

sont enveloppées par un riche réseau capillaire sanguin et lymphatique qui entoure les tubes séminifères.

### **2.3 Rete testis**

Le rete testis est un réseau de canaux qui recueillent les produits de l'épithélium séminifère (spermatozoïdes testiculaires, protéines sécrétoires et ions) (Abraham, 2006).

### **2.4 Canaux efférents**

Le rete testis est connecté à la portion céphalique de l'épididyme par 10 à 12 canaux qui traversent l'albuginée, les canaux ou cônes efférents. Chaque canal est enroulé en hélice dont les spires sont de plus en plus larges réalisant l'aspect d'un cône à base épididymaire et à sommet testiculaire (Dadoune, 1990).

### **2.5 Vascularisation et innervation du testicule**

Les testicules sont irrigués par les artères testiculaires qui naissent de l'aorte abdominale et sont drainés par les veines testiculaires qui constituent une ramification du plexus pampiniforme autour de l'artère testiculaire située sous la vaginale du testicule. L'innervation dépend de deux plexus nerveux ; le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus différentiel qui est sympathique (Figure 8) (Jardin et De Fourmestaux, 1984) .



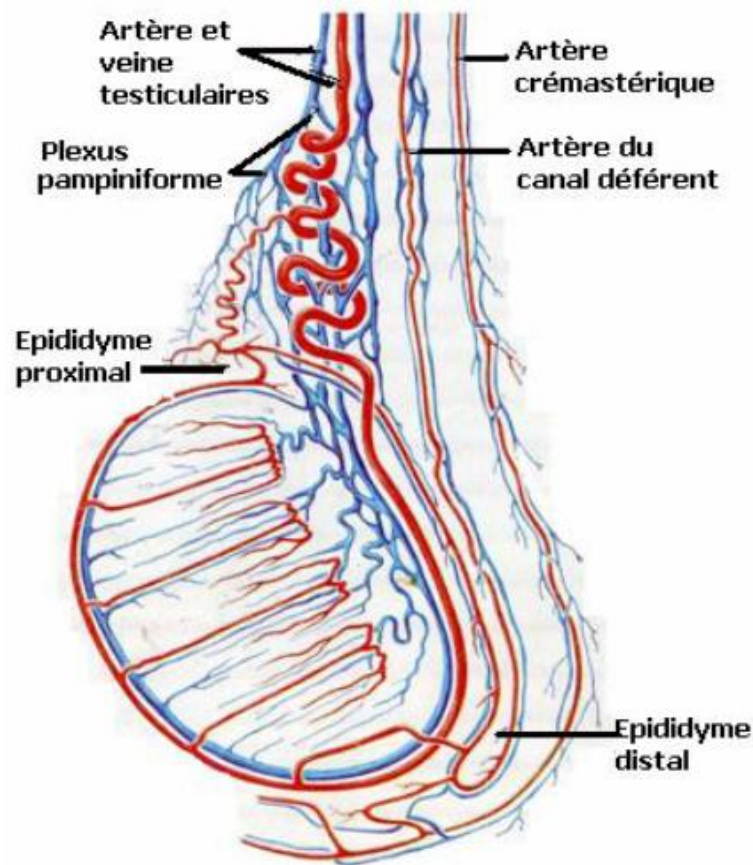


Figure 8 : Vascularisation du testicule (Gouaze et al. 1977)

### 3. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : le premier compartiment est constitué d'un épithélium pseudo-stratifié reposant sur un chorion de tissu conjonctif richement innervé et vascularisé, lui-même entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses ; tandis que le deuxième compartiment est constitué d'une lumière bordée par cet épithélium (Robaire *et al.*, 2006) .

Six types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épидидymaire: les cellules basales, étroites, apicales, claires, en halos et principales (Figure 9), qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Robaire *et al.*, 2006) .

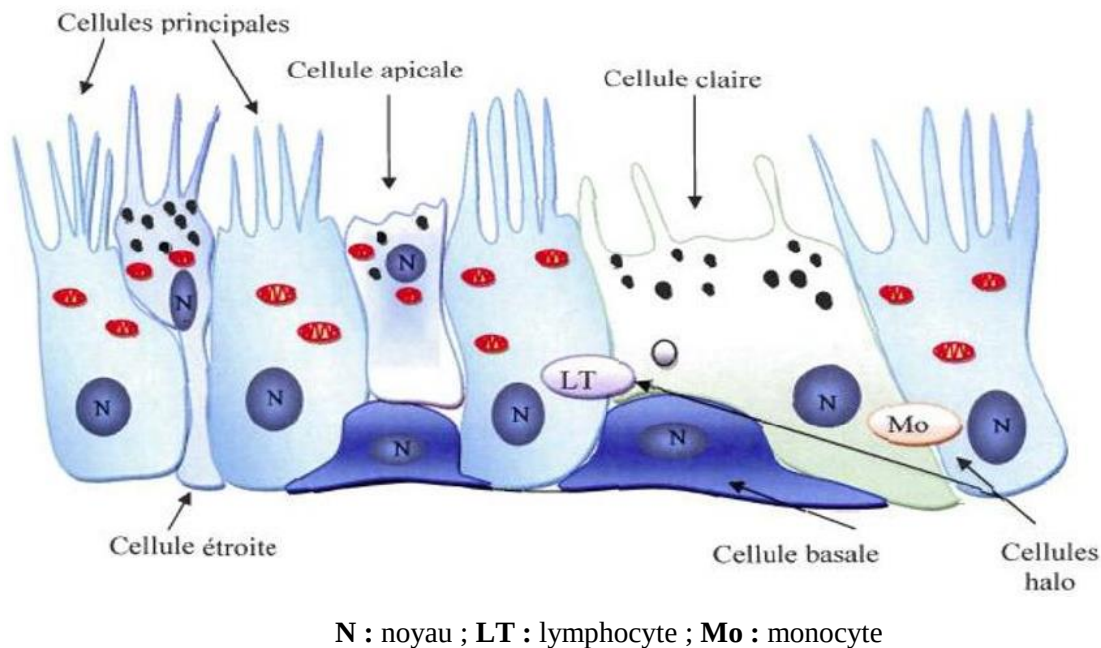


Figure 9 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009)

### 3.1. Cellules principales

Les cellules principales, sont plus nombreuses, constituent 65-80 % de la population de cellules épithéliales épидидymaire totale. Leur hauteur est plus élevée dans la tête que dans la queue de l'épididyme, tout comme la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical (Jones *et al.*, 1979). Ces cellules, reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes, sont très actives dans le transport et la sécrétion des protéines, et la réabsorption du fluide épидидymaire (Robaire et Viger, 1995; Cooper, 1998).

### 3.2. Cellule basales

Les cellules basales sont des petites cellules hémisphériques, situées à la base de l'épithélium, qui peuvent être en contact avec la lumière du tubule épидидymaire par des prolongements cytoplasmiques. Elles sont présentes tout au long de l'épididyme et représentent 10 à 20 % de l'ensemble des cellules épидидymaires selon les segments. Il semblerait que ces cellules participent à la protection contre les radicaux libres (Veri *et al.*, 1993), ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle, la barrière hémato-épидидymaire (Seiler *et al.*, 2000).

### 3.3 Cellule claires

Les cellules claires sont des grandes cellules prismatiques, présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo *et al.*, 1982). Elles sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules claires en région apicale, de lysosomes en région médiane et de nombreuses inclusions lipidiques dans leur région basale (Robaire et Hermo, 1988).

D'après Olson et Hinton (1985), elles joueraient un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire.

### 3.4. Cellules apicales

Les cellules apicales, retrouvées principalement dans le segment 1 de l'épididyme (la partie proximale de la tête) présentent un noyau en position apicale, d'où leur nom, et de microvillosités courtes et peu nombreuses. Il semble qu'elles ne traversent pas toujours l'épithélium, ainsi certaines ne sont pas en contact avec la membrane basale.

Ces cellules ont en revanche, un cytoplasme dense, très riches en mitochondries et en lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions  $H^+$  et la réabsorption des bicarbonates ( $HCO_3^-$ ). Elles seraient ainsi impliquées dans l'endocytose des éléments du fluide épидидymaire et dans l'acidification de ce fluide (Martínez-García *et al.*, 1995).

### 3.5. Cellules en halos

Les cellules en halo, sont rondes et de petites tailles, présentent tout au long de l'épididyme et se situent vers la base de l'épithélium épидидymaire. Elles ont un cytoplasme réduit contenant un nombre variable de granules denses. Il s'agirait de lymphocytes T ou de monocytes (Hermod et Robaire, 2002).

### 3.6. Cellules étroites

Les cellules étroites se retrouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme, pourvus d'un noyau allongé en position apicale. Ces cellules se prolongent entre les cellules principales pour atteindre la région basale de l'épithélium épидидymaire, ce qui leur confère un aspect en calice.

Leur cytoplasme est riche en vacuole, vésicules endocytiques, lysosome et mitochondrie et leur membrane apicale émet des villosités courtes, épaisses et irrégulières (Hermod *et al.*, 2000).



### **3.7 Lumière du canal épидидymaire**

La lumière du conduit épидидymaire est assez régulièrement circulaire sur les coupes histologiques (Barone, 2001). Les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épидидymaire.

Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines

et de macromolécules. En raison d'une forte régionalisation tissulaire et cellulaire des activités de synthèse, de sécrétion et réabsorption des cellules épithéliales, la composition du fluide épидидymaire varie tout le long du canal (Adamali *et al.*, 1999 ; Herno et Robaire, 2002).

Chapitre II :  
Physiologie de la reproduction

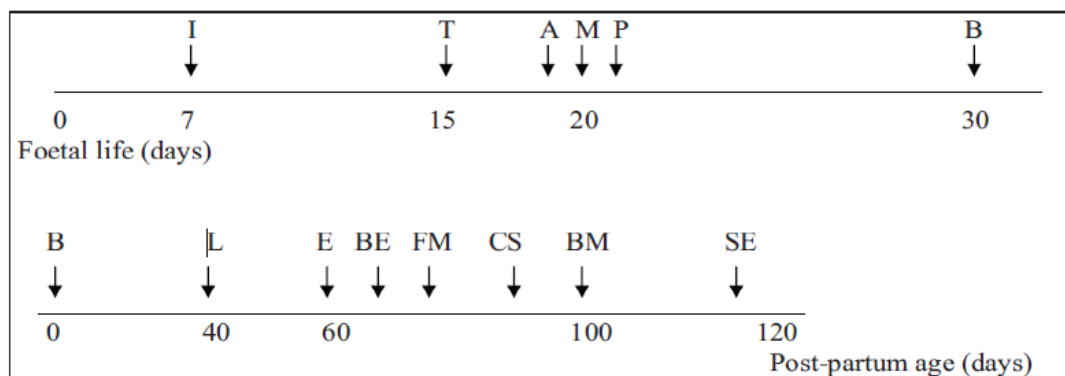
La physiologie de reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères et son activité sexuelle est continue, il produit des spermatozoïdes et il peut s'accoupler tout au long de l'année. Cependant, il faut tenir compte du délai de la spermatogenèse et de l'état général de l'animal pour gérer la reproduction.

## 1. Développement des gonades et la Puberté

### 1.1. Différentiation et développement des gonades

D'après Alvarino (2000), la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale (Figure 10). Cependant la formation de l'albuginée se produit entre les 14<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> jours de gestation, quelques jours plus tard les tubes séminifères apparaissent entourés de cellules germinales, au 19<sup>ème</sup> jour de gestation il y a la production des androgènes.

Les canaux de Müller régressent à partir du 20<sup>ème</sup> jour, et la formation de la prostate commence le 21<sup>ème</sup> jour, au 24<sup>ème</sup> jour le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis. Entre le 21<sup>ème</sup> et 30<sup>ème</sup> jours de gestation, la testostérone est présente au niveau des testicules de fœtus mâle (Skinner, 1967). A la naissance, les testicules se trouvent en position abdominale et la descente de ces derniers dans les sacs scrotaux coïncide avec la puberté (Alvarino, 1993).



I : Implantation; L : Maturation des cellules de Leydig; T : Différenciation des testicules; A : Sécrétion d'androgènes; M : Dégénérescence des canaux de Müller; P : Croissance de la prostate; N : Naissance; S : Apparition du premier spermatozoïde; DS : Début de la spermatogénèse; CS : Premier comportement sexuel; CDS : Développement complet de la spermatogénèse; RS : Premiers rapports sexuels; SE : Apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

Figure 10 : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000)

## 1.2. Développement pondérale

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5 mois ne présente pas de dimorphisme sexuel et le poids des lapins mâles et femelles est identique. D'après Martinet (1973), la croissance testiculaire a une allure sigmoïdale ; d'abord plus lente que celle du corps puis elle subit une accélération vers 45 jours d'âge. Selon Alvarino (2000), la taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de huit mois, et durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement. Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5<sup>ème</sup> semaine d'âge. La spermatogenèse est établie vers l'âge de 70 jours, et au 84<sup>ème</sup> jour tous les tubes séminifères sont actifs.

## 1.3. Maturation sexuelle

La maturation sexuelle chez le lapin s'effectue en 4 phases : phase infantile, phase pré pubertaire, puberté et maturité sexuelle

### 1.3.1. Phase infantile

La phase infantile c'est la période qui s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle se caractérise par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale, et des faibles concentrations plasmatiques de FSH et de testostérone (Boussit, 1989).

### 1.3.2. Phase pré pubertaire

La phase pré pubère débute vers l'âge de 40 jours et marque l'accélération de la croissance testiculaire et de l'élévation des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. La croissance des testicules s'accélère et les cellules de Leydig responsables de la spermatogenèse commencent à fonctionner (Berger et al., 1982 ; Boussit, 1989).

### 1.3.3. Puberté

Il existe des données contradictoires quant à la définition de la puberté chez le lapin. Mann et Parsons (1950), définissent la puberté comme le stade à partir duquel, la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent la sécrétion du fructose et d'acide citrique. Dans ce cas, la puberté serait alors atteinte dès l'âge de 42 jours, bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle (Skinner, 1967).

La puberté serait définie d'après Boussit (1989), par le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes

aptes à féconder un ovule, qui est atteinte vers quatre à cinq mois peu après la descente des testicules dans le scrotum.

#### **1.3.4. Maturité sexuelle**

La maturité sexuelle est définie comme le moment où la production quotidienne de spermatozoïdes n'augmente plus. En effet, les premières manifestations de comportement sexuel apparaissent vers 60-70 jours : le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement.

Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours mais, dans ces premiers éjaculats, la viabilité des spermatozoïdes est faible à nulle. Il faut donc attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements féconds.

De même que chez les autres mammifères, les mécanismes régulant la fonction de la reproduction chez les lapins sont complexes et sous-tendent l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui de système neuroendocrine qui comprend l'axe hypothalamohypophysaires qui est l'interrupteur général du fonctionnement testiculaire (Joly et Theau Clément, 2000).

## **2. Fonctions physiologiques du testicule**

Les testicules sont des organes doués d'une double fonction, la fonction gamétogenèse ou spermatogenèse, assimilable à une véritable fonction exocrine, qui est assurée par les tubes séminifères et la fonction endocrine constitue par la production des hormones stéroïdes qui est assurée par les cellules de Leydig (Dadoune et Demoulin, 2001).

### **2.1. Spermatogénèse**

La spermatogenèse est le processus de production des gamètes mâles matures, à partir des cellules souches au niveau des tubes séminifères du testicule. Chez le lapin, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans les éjaculats à 110 jours d'âge (Amann, 1993 ; Lebas, 2009).

La durée de la spermatogenèse ou temps nécessaire pour une spermatogonie d'évoluer vers le stade final du spermatozoïde est de 38 à 41 jours (Martinet, 1973).

Trois grandes étapes sont nécessaires pour passer d'une spermatogonie à un spermatozoïde : la spermatocytogenèse, la méiose et la spermiogénèse.

### **2.1.1. Spermatocytogenèse**

La spermatocytogenèse est caractérisée par une phase de multiplication (par mitoses) et de différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes primaire, possédant encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristique de l'espèce (lapin : 44 chromosomes) observée vers 60 jours d'âge chez le lapin (Martinet, 1973).

La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001).

### **2.1.2. Méiose**

La méiose est caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires, induisant la production des spermatocytes secondaire ensuite, les deux divisions successives de la méiose produisent les spermatides haploïdes (Amann, 1993).

### **2.1.3. Spermiogénèse**

Les spermatides subissent une série remarquable de modifications qui aboutissent (sans autre division) à la libération des spermatozoïdes mûrs (figure 11) (Barone, 2001).

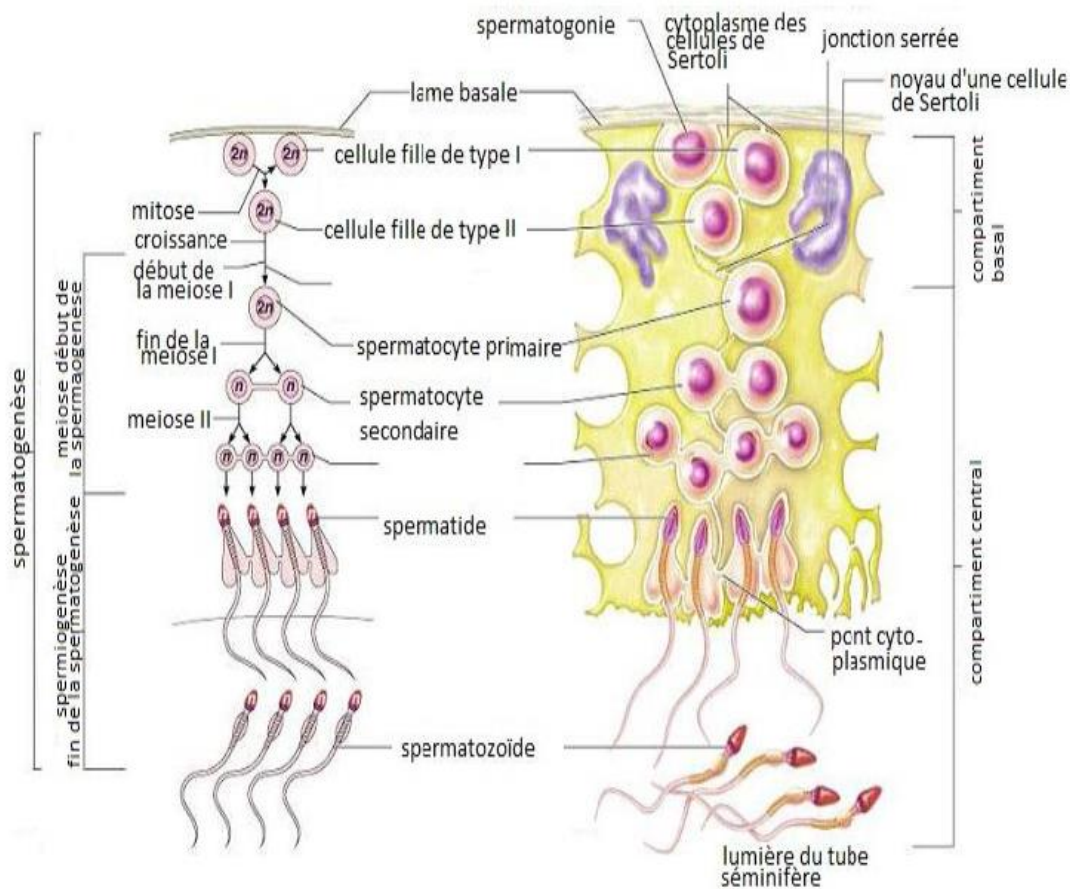


Figure 11 : Différentes étapes de la spermatogenèse (Marieb, 2006).

## 2.2. Stéroïdogénèse

La fonction endocrine du testicule est assurée par des petits amas d'endocrinocytes interstitiel (cellules de Leydig) qui sécrètent les hormones androgènes en particulier la testostérone, nécessaires à la spermatogenèse ainsi qu'au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génital mâle. Cette sécrétion contrôle en outre les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle (figure 12) (Barone, 2001).

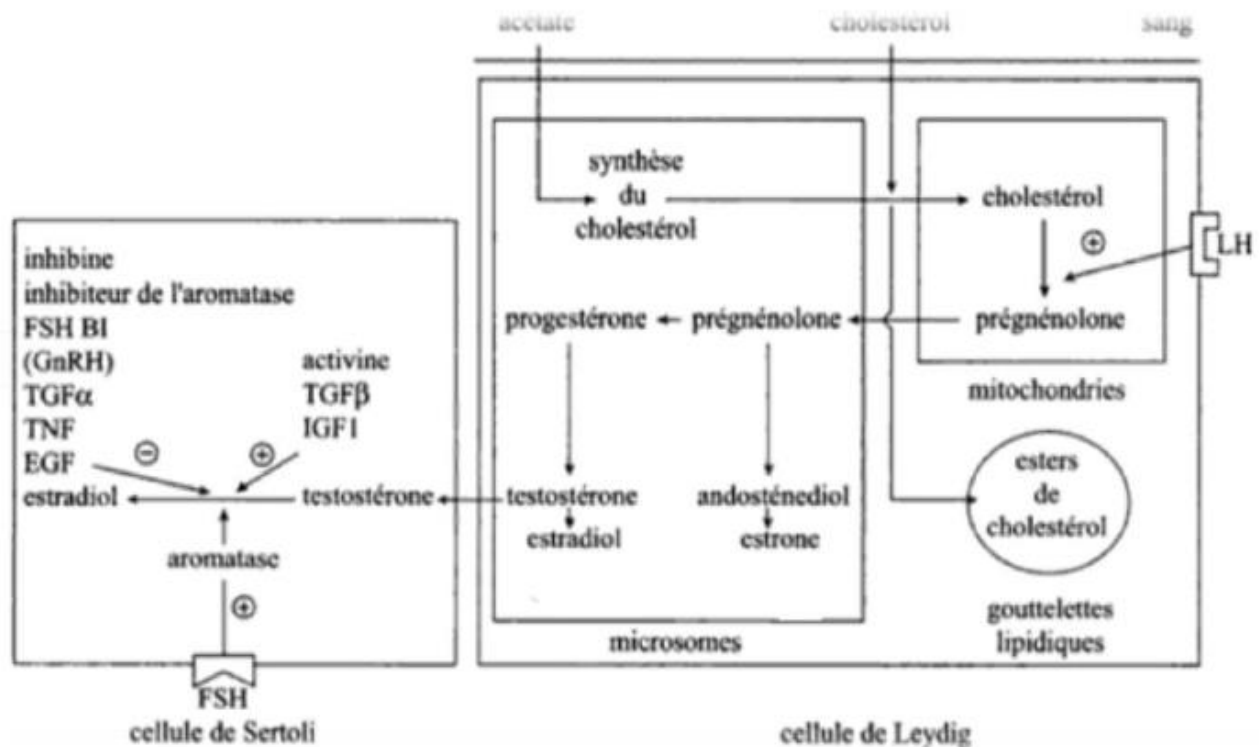


Figure 12 : Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).

En effet, la testostérone agit directement sur la différenciation des canaux de Wolf, le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires, après son métabolisme en dihydrotestostérone par l'enzyme 5- $\alpha$  réductase dans les tissus périphériques (prostate, épидидyme, vésicule séminale).

Par ailleurs la testostérone a une action anabolisante au niveau de tous les tissus, en particulier musculaire et osseux, et intervient dans le dimorphisme sexuel cérébral et la physiologie du comportement sexuel.

En association avec la FSH, la testostérone est essentielle pour l'initiation et le maintien de la spermatogénèse. Elle agit sur les cellules de Sertoli et sur les cellules péri tubulaires, via des récepteurs spécifiques, stimulant indirectement la spermiogénèse par une voie paracrine (Wosnitzer et Paduch, 2013).



### **3. Physiologie et fonction de L'épididyme**

Les modifications biochimiques et physiologiques permettant aux spermatozoïdes d'être aptes à la fécondation, dépendent des sécrétions de l'épithélium et de la composition du fluide épидидymaire, sous contrôle androgénique.

#### **3.1 Fonction de l'épithélium de l'épididyme**

D'après Badran et Hermo (2002), l'épididyme accomplit plusieurs fonctions afin d'assurer la maturation des spermatozoïdes.

##### **3.1.1 Transport des spermatozoïdes**

Les spermatozoïdes progressent de la tête vers la queue de l'épididyme en 12 jours environ, leurs progressions dépendent des 3 facteurs : pression hydrostatique intra luminale, battement des cils présents sur les cellules épithéliales canalaire et contractions péristaltiques du manchon musculaire lisse. La moitié environ des spermatozoïdes atteignent vivement la queue de l'épididyme où les 3/4 sont stockés et préservés par l'environnement humoral (Lansac et Gibod, 1992).

##### **3.1.2 La durée du transit**

La durée du transit dans l'épididyme est variable selon les espèces de 8 à 15 jours avec une durée plus longue dans la région caudale. Chez le lapin, la durée du transit des spermatozoïdes dans l'épididyme est de 10 jours : 3 jours dans la tête, 1 jour dans le corps et 6 jours dans la queue (Figure 13) (Robaire et Hermo, 1988) .

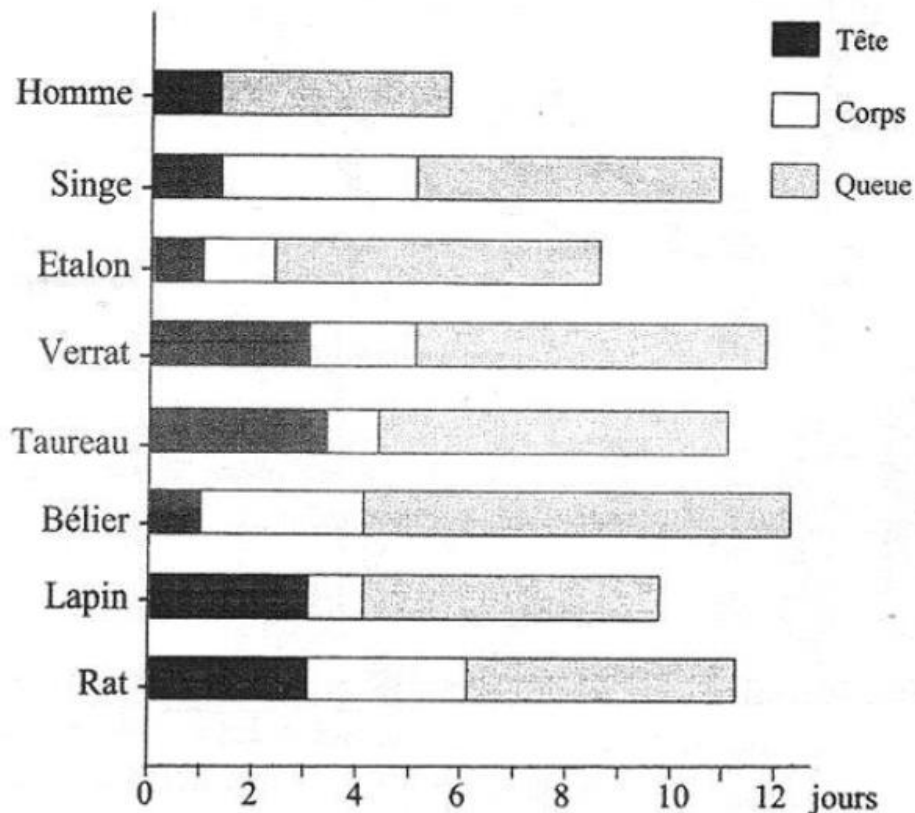


Figure 13 : Durée du transit (en jours) des spermatozoïdes dans la tête (noir), le corps (Clair) et la queue (gris) de l'épididyme chez différentes espèces (Robaire et Hermo, 1988).

### 3.1.3 Maturation des spermatozoïdes

La maturation des spermatozoïdes se caractérise par le développement du pouvoir fécondant androgéno-dépendant, la survenue des modifications morphologiques lors du transit et l'acquisition de la mobilité par augmentation de l'AMP cyclique intracellulaire. Ils sont immobiles et non féconds au niveau de la tête, les spermatozoïdes acquièrent ces propriétés au fur et à mesure de leur transit dans le canal épидидymaire.

L'épithélium épидидymaire modifie la composition du fluide épидидymaire ; 90% du fluide d'origine testiculaire sont réabsorbés dans les canaux efférents et la tête épидидymaire provoquant une augmentation de la concentration des spermatozoïdes et de la carnitine (marqueur de mobilité épидидymaire). L'activité métabolique de l'épидидyme est sous le contrôle des androgènes plasmatiques et des androgènes présents dans le fluide testiculaire (Lansac et Gibod, 1992).

### 3.1.4 Stockage

Les spermatozoïdes matures atteignent la queue de l'épididyme qui servira d'un réservoir durant l'attente de la prochaine éjaculation et baignent dans un liquide qui permet leur conservation à un stade quiescent pour une période pouvant aller de quelques jours à plus d'un mois (Hinton et Palladino, 1995).

## 3.2 Autres fonctions de l'épididyme

### 3.2.1 Absorption et réabsorption

L'épithélium de l'épididyme joue un rôle primordial dans la composition du fluide séminal en absorbant un large volume de liquide et de molécules provenant du testicule et en réabsorbant des ions, des protéines et de l'eau.

La majorité des protéines présentes dans le fluide testiculaire sont réabsorbées par endocytose fluide ou spécifique, ou par transcytose, et sont remplacées par de nouveaux composés sécrétés par les cellules épithéliales (Thibault et Levasseur, 2001), ce qui permet de multiplier la concentration des spermatozoïdes à leurs entrées dans l'épididyme (Hamilton, 1975)

### 3.2.2 Métabolisme

La structure de l'épithélium de l'épididyme possède aussi une activité métabolique, en plus d'assurer le métabolisme intermédiaire du glucose, elle permet le métabolisme et la conjugaison du glutathion, la biosynthèse des prostaglandines et le métabolisme de la vitamine D (Blodorn et *al.*, 1996 ; Leung et *al.*, 1998).

### 3.2.2 Spermiophagie

La majorité des spermatozoïdes sont absorbés, puis détruits par les cellules apicales de l'épididyme et le canal déférent par la spermiophagie, qui est une phagocytose des spermatozoïdes non éjaculés. Tandis qu'une portion des spermatozoïdes est évacuée dans l'urine (Glover, 1974 ; Bedford, 1975)

## 4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

La fonction sexuelle du lapin mâle fait l'objet d'une régulation de type neuroendocrinienne. Les hormones intervenant dans cette régulation ont deux origines : le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules (figure 14) (Bonnes et *al.*, 2005).

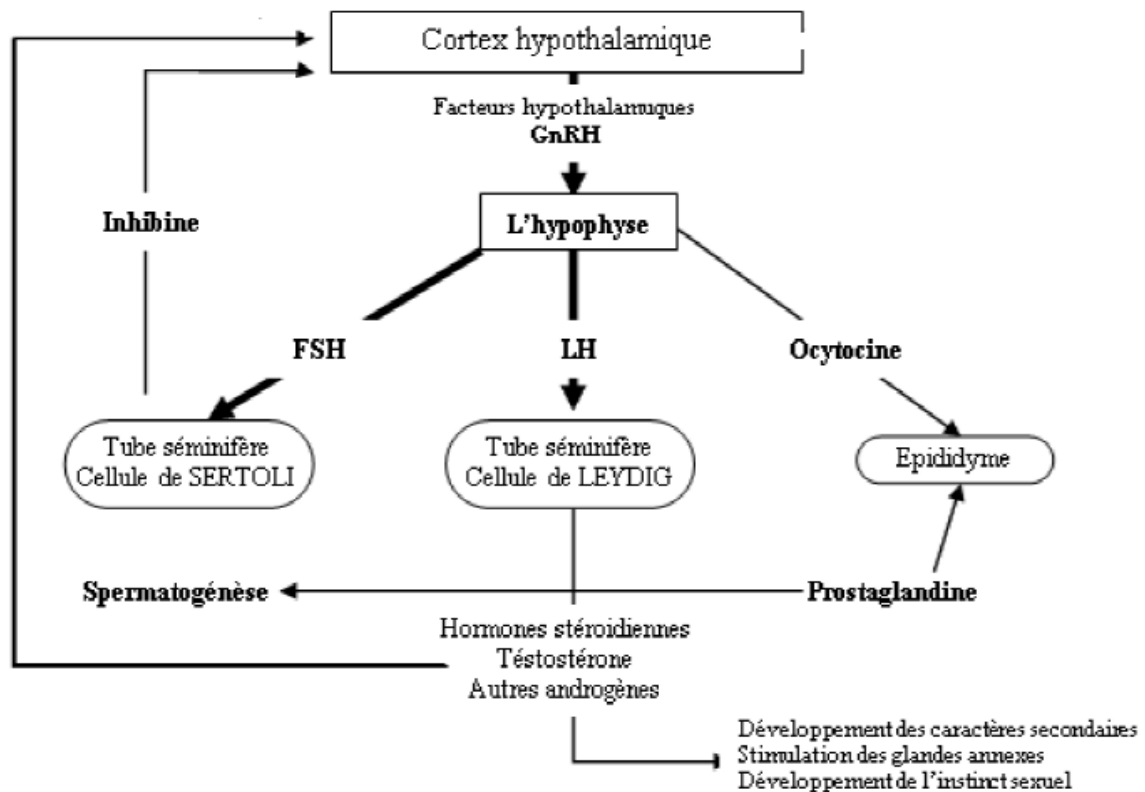


Figure 14 : Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Boussit ,1989).

## 4.1 Régulation hormonale du testicule

### 4.1.1 Régulation hypothalamo-hypophysaire

Le développement et le fonctionnement du testicule sont sous le contrôle d'hormones hypophysaires LH et FSH elles-mêmes contrôlées par une hormone hypothalamique la GnRH, sécrétée de manière pulsatile par les neurones hypothalamiques (Nguyen et Bourouina, 2008) qui stimule la sécrétion hypophysaire, elle-même pulsatile.

La FSH exerce son action au niveau de l'épithélium séminal et au niveau des cellules Sertoli qui sécrètent l'ABP et l'inhibine. Cette dernière exerce un feed-back négatif sur la sécrétion de FSH, en agissant soit sur les neurones hypothalamiques, soit sur les noyaux hypophysaires. Tandis que la LH agit sur les cellules Leydig et stimule la sécrétion de la testostérone qui se lie au niveau du cytoplasme Sertolien à l'ABP dont le complexe ainsi formé stimule le développement de l'épithélium séminal (Vaissaire, 1977).

Selon Nguyen et Bourouina (2008) la testostérone exerce les actions suivantes :

- Sur la spermatogenèse : la testostérone agit localement et directement sur les cellules de Sertoli, facilitant ainsi la spermatogenèse. Un déficit en testostérone conduit à la stérilité.
- Sur le développement de l'ensemble des organes génitaux masculins : testicule, épididyme, canal défèrent, vésicule séminale, prostate.
- Sur les caractères sexuels secondaires.

#### 4.1.2 Régulation intragonadique des fonctions testiculaires

La testostérone sécrétée par les cellules de Leydig agit en synergie avec la FSH pour stimuler les sécrétions sertoliennes (Lejeune *et al.*, 1996). De plus, de nombreuses études suggèrent que le testicule et plus spécifiquement les cellules de Leydig sont la cible des oestrogènes. Il a été montré que le testicule est capable de synthétiser des oestrogènes et que leurs récepteurs (ER) seraient présents dans les cellules de Leydig (Lambard *et al.*, 2005).

Il est supposé que les oestrogènes ont une influence inhibitrice sur la stéroïdogenèse des cellules de Leydig matures, de façon directe en inhibant certaines enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse de la testostérone, ou en limitant le développement et la prolifération des cellules de Leydig.

Cependant, les mécanismes d'action des oestrogènes sont à l'heure actuelle encore mal connus (Abney, 1999) l'inhibine et l'activine semblent être impliquées dans la régulation de la stéroïdogenèse. Des études ont montré que l'inhibine inhibe la production de testostérone par les cellules de Leydig, alors que l'activine active la production de testostérone par les cellules de Leydig *in vitro* (Lin *et al.*, 1989).

La synthèse de testostérone peut également être régulée par de nombreux facteurs locaux comme les cytokines TNF et IL-1, sécrétées par les macrophages, ainsi que par d'autres facteurs de croissance tels que l'EGF, TGF, IGF-1 et le FGF (Payne et O'Shaughnessy, 1996). Ces facteurs régleraient la synthèse de testostérone à différents niveaux en modulant : la disponibilité en cholestérol, l'expression d'enzymes clés de la stéroïdogenèse, l'expression du récepteur à la LH.

#### 4.2 Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire

Selon leur proximité par rapport aux cellules-cibles, on distingue premièrement parmi les principaux acteurs, les facteurs endocrines arrivant par la voie systémique ; puis, les facteurs lumicrines apportés par la lumière du canal épидидymaire et enfin, les facteurs paracrines et/ou

autocrines produits par les cellules avoisinantes, ou les cellules elles-mêmes (Robaire et *al.*, 2003).

Il est clairement bien connu que les oestrogènes interviennent dans l'absorption du fluide luminal, la transition pubertaire (Parlevliet *et al.*, 2006) l'expression des protéines comme la lactoferrine (Yu et Chen, 1993), la cystatine 12 (Li *et al.*, 2005), et probablement celles qui interviennent dans le remodelage membranaire et le stockage des spermatozoïdes, puisque, suite à traitement par les E-antagonistes les spermatozoïdes ne sont pas mobiles chez le singe (Shayu *et al.*, 2005).

Les androgènes sont importants pour plusieurs fonctions de l'épididyme. Ils sont nécessaires pour le maintien de la morphologie des cellules principales et préviennent leur apoptose (Fan et Robaire, 1998), ainsi que l'expression et la sécrétion des protéines, la régulation des protéines qui interviennent dans le remodelage membranaire des spermatozoïdes, la régulation des ions et des protéines qui interviennent dans la motilité des spermatozoïdes, l'expression des protéines intervenant dans le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue et la glycosylation des protéines (Castellon et Huidobro, 1999).

Chez l'homme, les cellules principales expriment l'activine, la follistatine et la sous unité  $\beta$  de l'inhibine. Il semblerait que ces molécules interviennent dans la maturation du sperme et le pouvoir fécondant durant le transit et le stockage des spermatozoïdes (Bahathiq *et al.*, 2005). Bien que les principaux sites de synthèse d'activine et d'inhibine dans le tractus génital mâle soient le testicule et la prostate, leur expression a également été mise en évidence au niveau de l'épididyme (Matzuk *et al.*, 1995).

L'endothéline-1 agirait au niveau épидидymaire selon un mode d'action paracrine pour induire la contraction des cellules musculaires lisses et par conséquent faciliter la progression des spermatozoïdes lors de leur transit épидидymaire. Cette activité contractile, dépendante des oestrogènes serait régulée par l'ocytocine (Filippi *et al.*, 2002).

L'ocytocine intervient dans les fonctions de reproduction mâle, en participant entre autre à la stéroïdogénèse, à la contraction des tubes séminifères et du tubule épидидymaire (Niemi et Kormano, 1965; Suvanto et Kormano, 1970).

## **5. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction**

Les variations environnementales sont un paramètre très important à identifier dans un élevage car les lapins sont des animaux très sensibles à la température, l'humidité, l'alimentation, la saison...

### 5.1 Effet de l'alimentation

La maturité et la précocité sexuelle sont des critères importants pour prévoir la fertilité qui est significativement influencé par le niveau nutritionnel durant la croissance.

L'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la *libido* sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant.

En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculat, de la concentration en spermatozoïdes ainsi qu'un abaissement des performances de reproduction des femelles inséminées, par contre, un excès dans l'alimentation provoque un engraissement important qui est préjudiciable à la reproduction (Lebas *et al.*, 1991).

### 5.2 Effet de la durée d'éclairement

L'éclairage joue un rôle important sur la reproduction des lapins puisque une période d'éclairement de 16 heures par jour permet d'obtenir une bonne activité reproductive des femelles et une production régulière toute l'année. Ceci est dû à une bonne acceptation du mâle et une meilleure fécondité qu'elle que soit la saison (Lebas *et al.*, 1991).

### 5.3 Effet de l'hygrométrie

L'humidité relative qui est le rapport entre le poids réel de vapeur d'eau contenu dans l'air et le poids d'eau maximum qu'il pourrait contenir, est de préférence maintenue entre 55 et 80% (idéalement entre 60-70%). Une humidité excessive augmente la charge microbienne de l'air et provoque ainsi une sensation de froid chez l'animal et plus souvent des maladies respiratoires et digestives.

Une humidité relative trop basse (moins de 50%) est néfaste car elle favorise la formation de poussières qui dessèchent les voies respiratoires. On outre elle se traduit par une réduction des performances de la reproduction (Finzi *et al.*, 2000).

### 5.4 Effet de la température

La spermatogenèse du lapin montre une variation saisonnière liée à la photopériode et à la température externe, l'activité étant maximale au printemps et minimale à l'automne.

Pour des températures comprises entre 13°C et 26°C, peu de variations sont observées sur les caractéristiques de la semence tandis que l'exposition des mâles à des températures élevées (34°C pendant 8 h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogenèse en

augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa *et al.*, 1992). Selon Finzi *et al.* (2000), l'effet de l'hyperthermie est plus rapide sur l'apparition des anomalies que sur la chute de la concentration spermatique. La quantité et la qualité de la semence produite sont extrêmement sensibles à de fortes chaleurs couplées à une forte hygrométrie.

### **5.5 Effet des huiles essentielles**

Certaines huiles essentielles ne sont pas sans danger pendant la grossesse et d'autres peuvent porter atteinte à la fertilité de leur utilisateur. La fonction de reproduction peut être touchée à plusieurs niveaux : Bloquer le fonctionnement sexuel dû à une action hormon-like, perturber le développement du fœtus par les effets tératogènes, plusieurs molécules aromatiques s'apparentent à des analogues de molécules oestrogéniques dont l'action est confirmée en pathologie endocrinne.

Des chercheurs ont mis en évidence la toxicité que peuvent avoir les huiles essentielles chez les lapins et rongeurs de compagnie qui est plus au moins importante selon la plante utilisée pour leur confection (kammerer *et al.*, 2012).



## **Chapitre III**

### Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique (épididyme) et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche.

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet de certains huiles essentielles tels que: le Romarin à verbénone sur la structure des épididymes des lapins mâles à différentes doses, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids gonadiques. De ce fait, ce travail s'articule autour de deux parties ; l'étude de l'effet de l'huile essentielle (Romarin à verbénone) sur la structure gonadique, et effet dose d'autre part.

## 1. Matériel biologique

Le matériel utilisé afin de réaliser cette étude :

Matériel animal : représente des lapins de la population blanche améliorée.

Matériel végétal : représente l'huile essentielle ; Romarin à verbénone, du bassin méditerranéen

### 1.1. Modèle animal

La présente étude est portée sur 34 lapins mâles de la population blanche (améliorée) (Figure 15) âgés de 1 mois, provenant d'un élevage cunicole privé situé dans la région de Djebba, wilaya de Tizi ouzou. C'est une population locale qualifiée de "population blanche" par Zerrouki et *al.* (2007), à cause de la prédominance totale du phénotype blanc néo-zélandais et californien, par rapport aux croisés (noir, gris, fauve et croisé).

Selon Grasse (1949) et Lebas et *al.*, (1984), la position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est :

- Règne : Animal
- Embranchement : Vertébrés
- Classe : mammifères
- Super Ordre : Glires
- Ordre : Lagomorphes
- Famille : Léporides (lièvre et lapin)
- Sous-famille : Leporinae
- Genre : *Oryctolagus*
- Espèce : *Oryctolagus cuniculus*

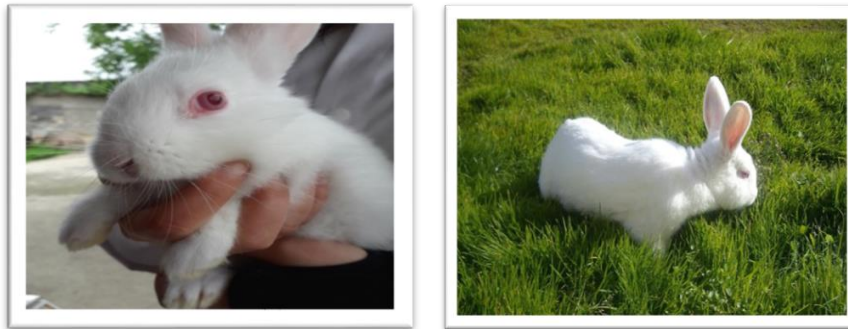


Figure 15: Lapin âgé d'un mois issu d'un élevage cunicole privé de Djebba

## 1.2. Modèle végétale (huiles essentielles)

Selon la pharmacopée européenne (2010), le terme « huile essentielle » est définie comme un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est la plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

### 1.2.1. Romarin à verbénone (*Romarinus officinalis*)

D'après Aubineau et *al.*, (2002), le romarin est une herbe aromatique appartenant à la famille des lamiacées. C'est un sous-arbrisseau originaire du bassin méditerranéen, mesurant 50 cm de hauteur qui apprécie les sols bien drainés et ensoleillés. C'est l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on la trouve dans tous les jardins (Figure 16).



Figure 16: Photographie de l'huile essentielle «Romarin à verbénone».

### 1.3. Autres Matériels

Cette expérimentation à nécessite l'utilisation d'autre matériels tel que, papier filtres, portoirs, micropipettes graduée (10-100 $\mu$ l; 100-1000 $\mu$ l), ciseaux, bavettes, gants, pince, spatule, poire, pissettes, eppendorfs, cassette d'inclusion, cryotubes, moules à paraffine, lames et lamelles, balance a précision, centrifugeuse, l'étuve, microtome, microscope optique,...

## 2. Expérimentation

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet 2019, l'administration de l'huile et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cunicole.

L'étude histologique est effectuée au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

### 2.1. Protocole expérimentale

Des lapins mâles âgés de 1 mois sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole afin d'être traité par le Romarin à verbénone. Ce groupe est constitué de sept lots, les lots sont traité par cinq doses différentes (D1=200  $\mu$ l/kg, D2=300  $\mu$ l/kg, D3=400  $\mu$ l/kg, D4=500  $\mu$ l/kg, D5=700  $\mu$ l/kg). Un lot témoin est constitué par 7 lapins.

Les animaux exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement sont nourris *ad libitum* (à volonté), avec un aliment sec granulés fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail). L'eau est distribuée en accès libre permanent par des pipettes individuelles.

### 2.2. Pesée et administration des huiles essentielles

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administré pour chaque animal et chaque dose. Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin. Cette opération s'est déroulée chaque matin pendant 03 jours. (Figure 17).



Figure 17: Administration des huiles essentielles par voie orale.

### 2.3. Sacrifices et prélèvement

Une semaine après l'administration de l'huiles essentielles ; Romarin a verbénone, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9 h : 00 et 12h : 00 au niveau de l'élevage cunicole et le laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour des dosages hormonaux ultérieurs et conserver à 4°C (Figure 18).

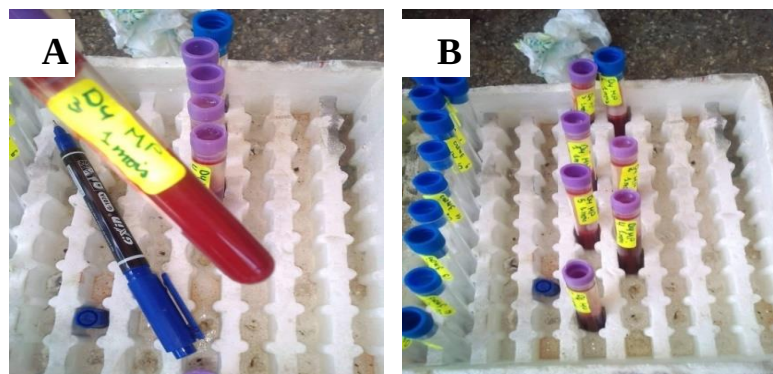


Figure 18: Prise de sang

Les animaux sont disséqués, leurs appareils génitaux (épididymes) sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g. Les épididymes droites sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules et épididymes gauches sont placés dans des eppendorfs et congelés à -20°C, jusqu'à leur utilisation ultérieure (Figure 19).

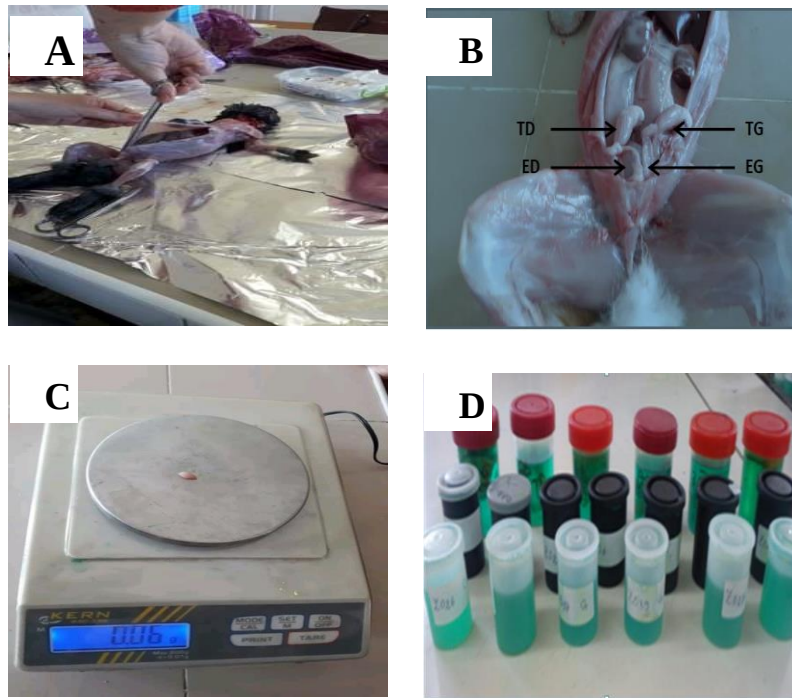


Figure 19: Dissection d'un lapin mâle et traitement de l'appareil génital

**A** : Dissection des animaux ; **B** : Prélèvement de l'appareil génital mâle du lapin (testicule et épидидyme) ; **C** : Détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g ; **D** : Piluliers de fixateur contenant les organes génitaux.

### 3. Etude histologique

L'étude histologique se déroule en une série d'étapes successives obligatoires qui vont aboutir à l'obtention de coupes fines prêtes à recevoir la coloration histologique d'intérêt. Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes : Fixation des échantillons, déshydratation et éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes et collage, déparaffinage et réhydratation, coloration topographique et Déshydratation Observation des lames.

Après l'observation des lames, on passe à la mesure des structures histologiques des épидидymes ; l'épithélium et la lumière épидидymaire.

#### 3.1. Fixation des échantillons

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes ; est une étape indispensable pour préserver la morphologie des cellules et les structures en place lors des manipulations ultérieures. Elle permet notamment de les conserver dans un

état aussi proche que possible de l'état vivant et d'éviter les raccourcissements et les distorsions possibles, mais aussi de protéger les cellules des attaques bactériennes ou encore enzymatiques.

Nous avons utilisé le fixateur Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) qui appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Les organes placés dans des cassettes d'inclusion puis déposés dans des piluliers contenant un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement, Les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante (Figure 20).

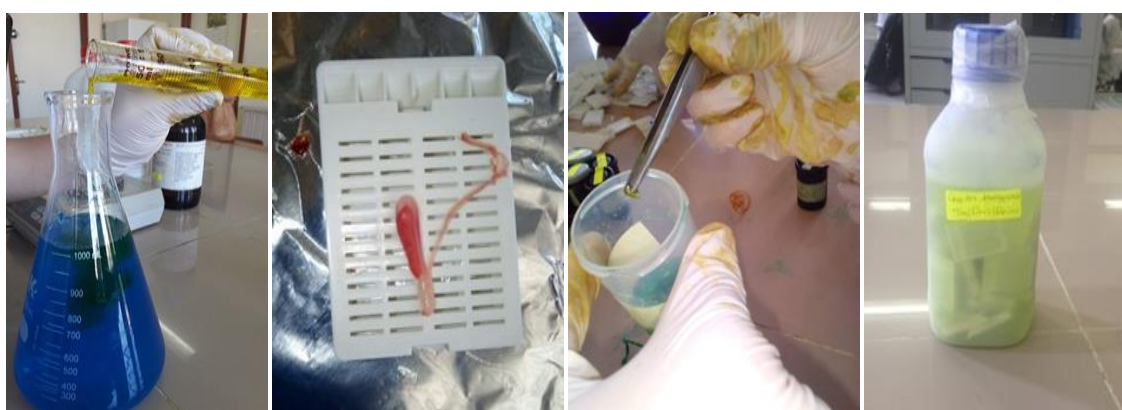


Figure 20 : Différentes étapes de fixation des échantillons.

### 3.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation est la suppression de toute l'eau contenue dans l'organe, permettant l'inclusion de l'échantillon dans la paraffine. Celle-ci est caractérisée par sa plasticité et sa température de fusion qui peut aller de 56° à 60°C.

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, nous avons utilisé une série de bains d'alcool éthylique de degrés croissant (50°, 70°, 80°, 90°, 100°), pendant 2 heures pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures. Le dernier bain est un bain de xylène pour compléter la déshydratation et préparer l'imprégnation de l'organe à la paraffine, car l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine.

### 3.3. Imprégnation

Immédiatement après les bains de toluène, les organes sont plongés dans 3 bains successifs de paraffine, de 2 heures chacun à 60°C ; c'est l'imprégnation. Le deuxième et le troisième bain renferment de la paraffine pure, tandis que le premier est constitué d'une moitié de paraffine et moitié toluène. Les deux opérations, déshydratation et imprégnation



sont réalisées au laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou, grâce à un automate de circulation de type Leica (Figure 21).



Figure 21: Appareil de circulation du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

### 3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette opération consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C dans un appareil d'enrobage de type Leica (Figure 22). Les organes sont placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes respectives, identifiant chaque échantillon, sont placées à la surface des moules. De la paraffine est coulée dans les moules jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante de l'appareil (-10 à -15°C) jusqu'à solidification du bloc.

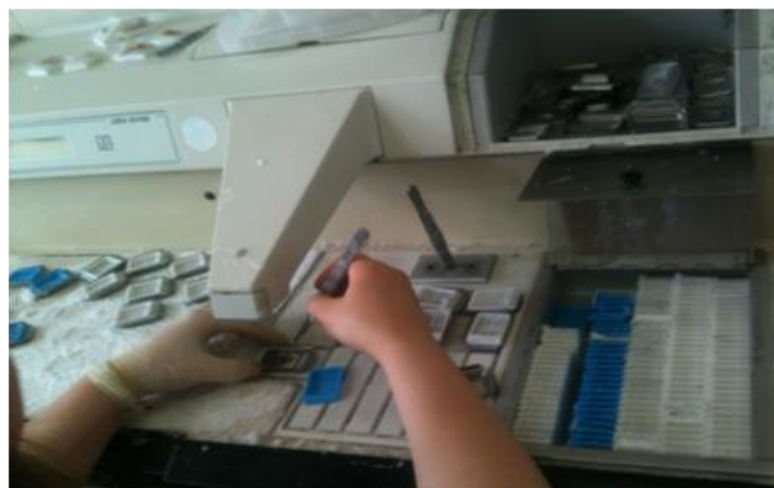


Figure 22: Machine à enrobage du laboratoire d'Anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.



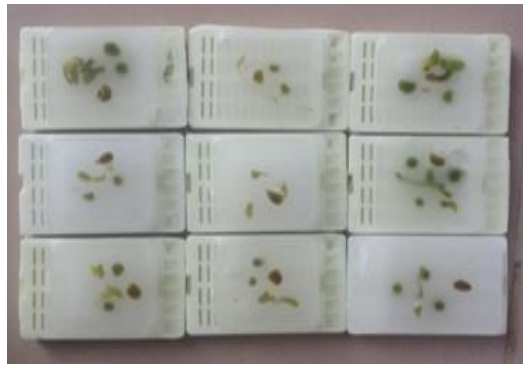


Figure 23: Blocs de paraffine obtenue après l'inclusion.

### 3.5. Confection des coupes et collage

Des coupes fines ont été réalisées de 2 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur sur les blocs d'organes, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica au niveau de laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront incubées toute une nuit à 38°C dans une étuve (Figure 24)



Figure 24: Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite.

### 3.6. Déparaffinage et réhydratation

Avant de procéder à la coloration des lames nous devons les déparaffiner et les placer dans un milieu aqueux, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux. Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe afin de permettre la fixation des colorants sur les coupes, suivi d'une réhydratation, qui est une séquence inverse de celle de la déshydratation ; consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à de degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°).

### 3.7. Coloration topographique et Déshydratation

La coloration utilisée est la coloration topographique de Trichrome de Masson (figure 25). Cette coloration permet de mettre en évidence (grâce aux colorants utilisés) le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes. Cette coloration est suivie d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 90°, 100°). Cette étape permet la conservation des échantillons.



Figure 25: Batterie de coloration du Trichrome de Masson.

### 3.8. Observation des lames

L'observation de lame se fait à l'aide d'un microscope photonique de type OPTICA qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des gonades et épидидymes (figure 26). Des photographies sont prises avec à un appareil photo numérique, d'où le grossissement de l'observation change et est calculé de la manière suivante :

$$G = V_{obj} \times V_z \times \text{Agrandissement de l'appareil}$$

**G** : Grossissement ; **Vobj** : Grossissement de l'objectif ; **Vz** : Facteur de zoom d'optovar = 2.5

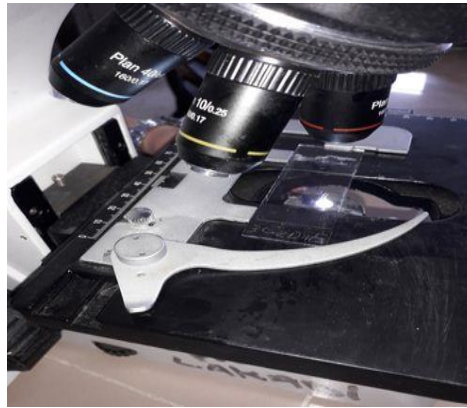


Figure26 : Photographie de l'observation des lames.

#### 4. Etudes statistique

Les variables (poids vifs, poids des épидидymes) obtenus durant cette étude ont été soumis à une analyse de variance « ANOVA ». Le traitement statistique des données et les présentations graphiques des résultats ont été réalisés sous Microsoft Office Excel 2007.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre, poids des épидидymes (droit et gauche), poids épидидymaire total, et le poids épидидymaire relatif,), suivie par la valeur de l'erreur standard liée à la moyenne «ESM ».

La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logicielle informatique « Origin Lab » 2007 et la valeur des probabilités « p »:

- ✓ Si  $P < 0.001$  : La différence est hautement significative=\*\*\*\*
- ✓ Si  $P < 0.01$  : La différence est très significative=\*\*\*
- ✓ Si  $P < 0.02$  : La différence est significative=\*\*
- ✓ Si  $P < 0.05$  : La différence est peu significative=\*
- ✓ Si  $P > 0.05$  : La différence est non significative

*Chapitre IV*  
*Résultats et Discussion*

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'effet de huile essentiel Romarin à Verbénone sur les paramètre macroscopique à savoir le poids corporel et épидидymaire des lapins infantiles âgés en moyenne d'1 mois, ainsi que sur les structure histologique de l'épididyme (paramètre microscopique).

## 1. Résultat de l'étude macroscopique

L'étude macroscopique porte sur les paramètre (poids corporel , Poids épидидymaire total et poids épидидymaire relatif) des lapin de la population blanche âgés d' 1 mois traité par les dose 200µl/kg, 300 µl/kg, 400 µl/kg, 500 µl/kg, 700 µl/kg de romarin à Verbénone.

### 1.1 Evolution du poids vif des animaux

Le poids vif des lapin âgée d'1 mois de population blanche est mesuré en kg , la figure 27 représente l'évolution des valeurs moyennes du poids corporel des lapins mâles infantiles traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone à Cinq doses différentes.

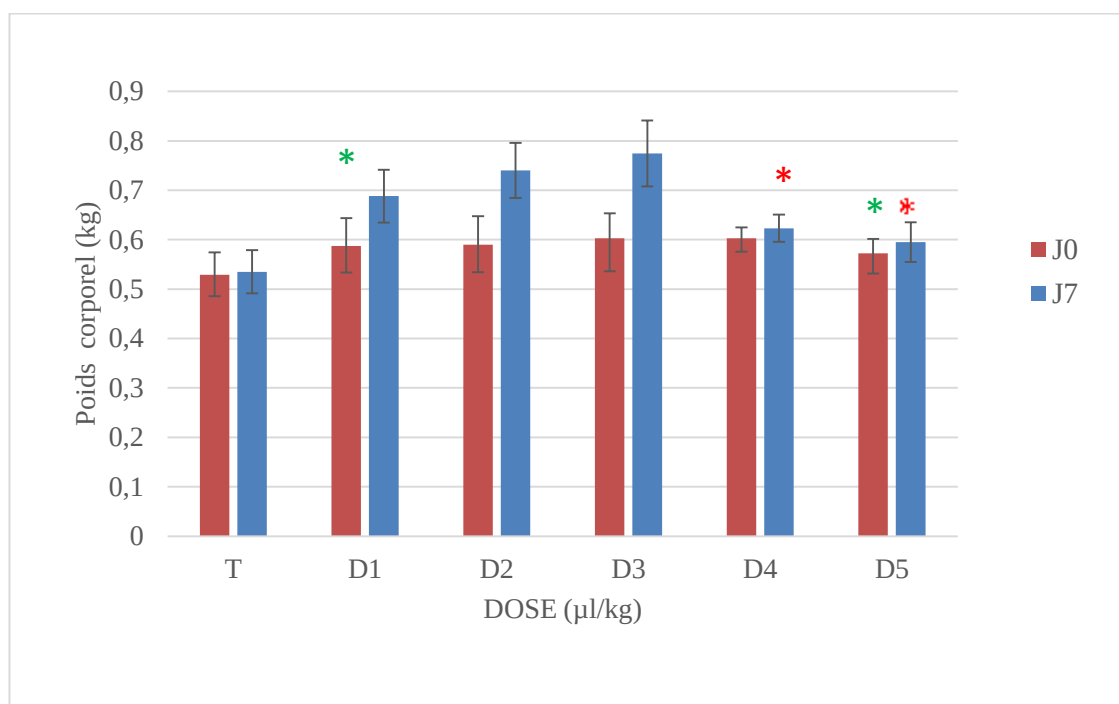


Figure 27: L'évolution du poids corporel des lapins âgés d'1 mois de population blanche traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : (200µl/kg) ; D2 : (300µl/kg) ; D3 : (400 µl/kg) ; D4 : (500 µl/kg) ; D5 : (700 µl/kg); **Jour 0** : avant traitement ; **Jours 7** : après traitement.

\*: comparaison entre les valeurs moyennes du poids corporel entre J0 et J7

\*: comparaison entre les valeurs moyennes du poids corporel entre les témoins et les traités

La valeur moyenne du poids vif des lapins traité par l'huile essentielle Romarin à verbénone est plus élevée chez les lapins traités par la dose 1, 2 et 3, contrairement aux lapins traités par les doses 4 et 5 on constate une diminution des valeurs moyennes du poids vif.

La comparaison des poids corporels entre J0 et J7 a montré une différence peu significative ( $P < 0,05$ ) à la dose 1 de 200  $\mu\text{l/kg}$  et la dose 5 de 700  $\mu\text{l/kg}$ .

Le poids corporel moyen des témoins à J7 est de 0,535 kg, alors que celui des traités à la dose 1 de 200  $\mu\text{l/kg}$  est de 0,688 kg et augmente jusqu'à 0,774 kg à la dose 3 de 400  $\mu\text{l/kg}$  pour ensuite diminuer à la dose 5 de 700  $\mu\text{l/kg}$  avec un poids vif moyen de 0,595 kg.

La comparaison des poids corporels entre le témoin et les traités a montré une différence peu significative ( $P < 0,05$ ) à la dose 4 de 500  $\mu\text{l/kg}$  et la dose 5 de 700  $\mu\text{l/kg}$ .

L'effet dose sur le poids vif a révélé une corrélation positive des poids corporels à partir de la dose 1 de 200  $\mu\text{l/kg}$  jusqu'à la dose 3 de 400  $\mu\text{l/kg}$  puis une corrélation négative est observée la dose 4 et 5.

### **1.2. Poids épидидymaire**

Le poids de l'épididyme est mesuré en gramme. Le graphe (Figure 28) présente la variation des poids des épидидymes gauches et droits des lapins âgés en moyenne de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée « Romarin à Verbénone ».

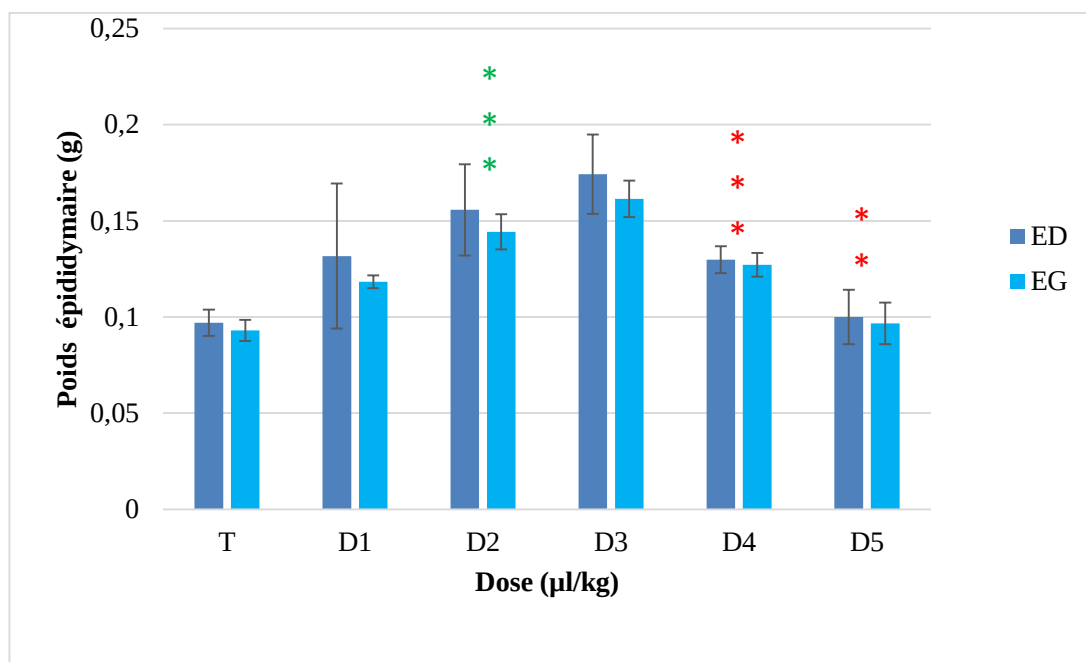


Figure 28: variation des poids des épидидymes gauches et droits des lapins traitée au Romarin à Verbénone

**T** : Témoin ; **D1** : (200µl/kg) ; **D2** : (300µl/kg) ; **D3** : (400 µl/kg) ; **D4** : (500 µl/kg) ; **D5** : (700 µl/kg);  
**ED** : épидидyme droit ; **EG** : épидидyme gauche

\*: comparaison entre les valeurs moyennes du poids épидидymaire entre les témoins et les traités

\*: comparaison entre les valeurs moyennes du poids épидидymaire entre les traités à D3 et autre dose

La valeur moyenne du poids de l'épididyme droit des lapins traité par l'huile essentielle Romarin à verbénone est plus élevée que le poids moyen des épидидymes gauches.

Le poids de l'épididyme droit moyen des témoins est de 0,097g, alors que celui des traités à la dose 1 de 200µl /kg est de 0,131 g et augmente jusqu'à 0,174g à la dose 3 de 400µl /kg pour ensuite diminuer jusqu'à la dose 5 de 700 µl/kg avec un poids de l'épididyme droit d'une valeur moyen de 0,1g.

La comparaison des poids de l'épididyme droit entre les lapins traité à la dose 3 de 400µl/kg a montré une différence très significative ( $P < 0,01$ ) à la dose 4 de 500 µl/kg et peu significative ( $P < 0,05$ ) au témoin.

Le poids de l'épididyme gauche moyen des témoins est de 0,093g, alors que celui des traités à la dose 1 de 200µl /kg est de 0,118 g et augmente jusqu'à 0,161g à la dose 3 de 400µl /kg pour ensuite diminuer jusqu'à la dose 5 de 700 µl/kg avec une valeur moyen du poids épидидymaire gauche de 0,096g.

La comparaison des poids de l'épididyme gauche entre les témoins et les traités a révélé une différence très significative ( $P < 0,01$ ) à la dose 2 de 300 µl/kg et la dose 3 de 400 µl/kg, et une différence peu significative ( $P < 0,05$ ) à la dose 4 de 500 µl/kg. Quand à la comparaison des poids de l'épididyme gauche entre les traités a révélé une différence peu significative ( $P < 0,05$ ) à la dose 1 de 200 µl/kg et la dose 2 de 300 µl/kg, tandis que la différence à dose 4 de 500 µl/kg est significative ( $P < 0,02$ ) à la dose par rapport à la dose 5 de 700 µl/kg et très significative ( $P < 0,01$ ) à la dose 3 de 400 µl/kg.

L'effet dose sur le poids épидидymaire a révélé une corrélation positive des poids épидидymaire à partir de la dose 1 de 200 µl/kg jusqu'à la dose 3 de 400 µl/kg puis une corrélation négative est observé la dose 4 de 500 µl/kg et 5 de 700 µl/kg.

### **1.3. Poids relatifs épидидymaire**

Le résultat de la division de 100g de poids épидидymaire par 1 Kg de Poids de corps des lapins âgés d'1 mois de population blanche nous donne la valeur du poids relatif épидидymaire, la variation de cette dernière en fonction de la dose administrée est représentée sur un graphe (Figure 29).



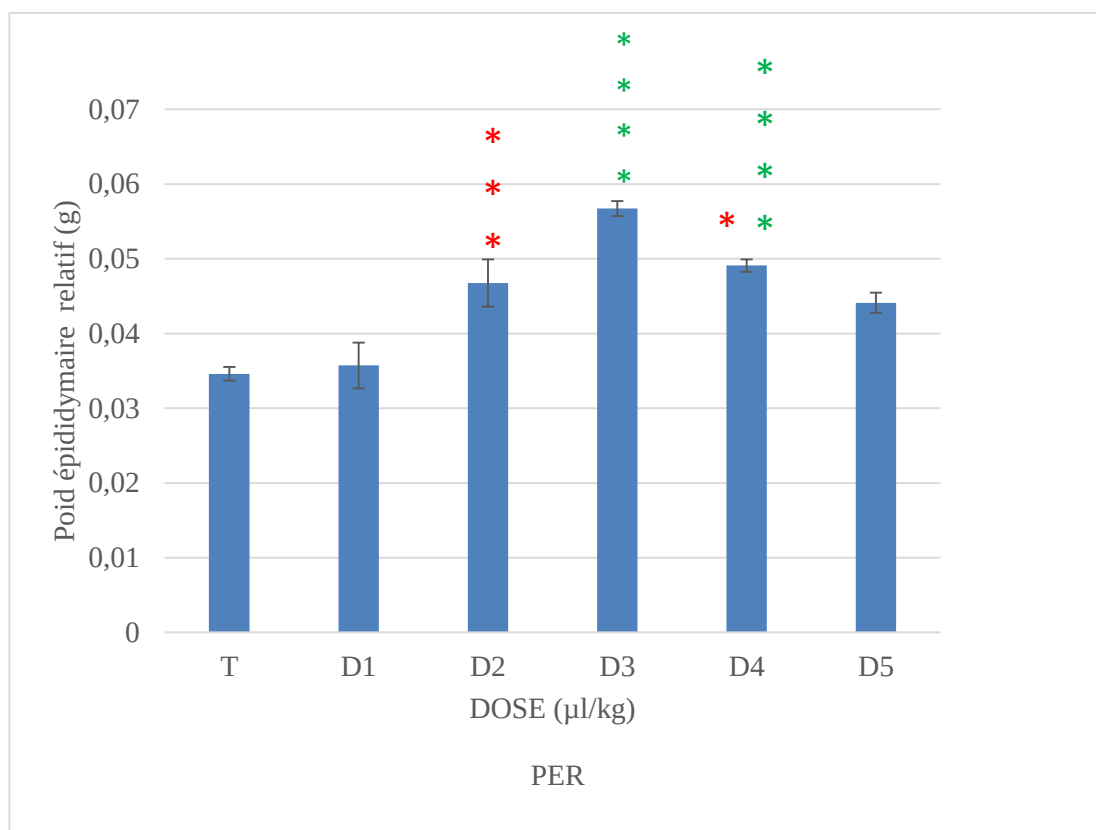


Figure 29 :L'évolution du poids relatif des épидидymes des lapins âgés en moyenne 1 mois traités par Romarin à Verbénone.

**T** : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2 ; **D3** :Dose 3 ; **D4** :Dose 4 ; **D5** :Dose 5 **PER** : Poids épидидymaire relative

\*: comparaison entre les valeurs moyennes du poids épидидymaire relatif entre les témoins et les traités

\*: comparaison entre les valeurs moyennes du poids épидидymaire relatif entre les traités à D3 et autre dose

La valeur moyenne des poids relatifs épидидymaire des témoins est de 0.034, on observe une élévation en fonction de la dose administrée de l'huile essentielle « Menthe Poivrée », qui augmenté de la dose 1 de 200µl/kg avec une valeur de 0,035 jusqu'à de 0.056 chez les lapins traités à dose 3 de 400µl/kg, puis inversement la valeur moyenne du poids relatif épидидymaire diminue pour atteindre une valeur de 0,044 à la dose 5 de 700µl/kg.

La comparaison des poids relative entre les témoins et les traités a révélé une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) à la dose 3 de 400µl/kg et la dose 4 de 500µl/kg, tandis que la comparaison des poids relatif épидидymaire entre les traités avec la dose 3 de 400µl/kg a révélé une différence très significative ( $P < 0,01$ ) à la dose 2 de 300µl/kg et une différence significative ( $P < 0,02$ ) à la dose 4 de 700µl/kg.

## 2. Résultats de l'étude microscopique

L'épididyme du lapin infantile est un canal fortement pelotonné. Anatomiquement, il est subdivisé en trois grandes parties : une tête qui coiffe le testicule et constitue l'épididyme proximal, un corps effilé et une queue épaisse qui représente l'épididyme distal.

L'observation au microscope photonique a permis de distinguer des différences de l'organisation de la structure histologique des épididymes.

### 2.1. Epididymes des lapins témoins

L'épididyme proximal et distal des lapins infantiles de population blanche témoins, apparaît au faible grossissement formé d'un ensemble de tubes coupés transversalement, longitudinalement et tangentielllement. Ces tubes baignent dans un tissu conjonctif intertubulaire dense et riche en fibre de collagène. Au fort grossissement, ces sections sont maintenues entre elles par du tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives éparpillées et dans lequel sont dispersés des fibroblastes et des cellules musculaires lisses, ainsi que des vaisseaux sanguins.

Au niveau de l'épithélium de l'épididyme, dans la plus part des tubes observés l'épithélium est cubique simple constitué exclusivement de cellules principales dépourvus de stéréociles au niveau de leurs pôles apicales qui entoure la lumière des tubes qui apparaît vide et dépourvue de spermatozoïdes. Chaque section épididymaire apparaît entourée par une ou deux couches de cellules musculaires lisses très aplaties formant une ceinture au tour du tube épididymaire. (Figure 30)

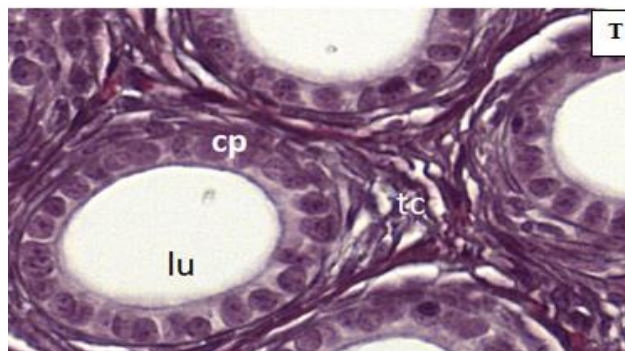


Figure 30 : Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins témoins âgés de 1 mois de la population blanche

**Lu:** Lumière, **cp** : Cellule principale

## 2.2. Epididymes des lapins traités à différentes doses

L'observation histologique des épидидymes des lapins âgés de un mois traités par l'huile essentiel romarin a verbénome a différentes doses (200µl/kg , 300µl/kg, 400µl/kg, 500µl/kg et 700µl/kg ) montre un tissu conjonctif intertubulaire qui contient des fibres conjonctives mieux organisés, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

L'observation microscopique réalisée sur les épидидymes des lapins d'un mois traités par l'huile essentielle romarin à verbénome montre des variations structurales selon les doses administrées (planche 1).

L'épithélium chez les lapins traités pas les dose 1 de 200µl/kg et dose 2 de 300µl/kg (planche 1) est de forme prismatique avec une hauteur plus importante chez les lapins traités par la dose 2 alors qu'il était cubique chez le lapin témoin.

Les cellules principales sont très nombreuses chez les lapins traités par la dose 1 de 200µl/kg et dose 2 de 300µl/kg occupant presque tout l'épithélium, les stéréocils sont présent et nombreux chez les lapins traités par les doses 1 et 2.

Les cellules basales peut nombreuses chez le lapin traité par la dose 1 repartie d'une manière discontinue tout au long de la lame basale contrairement aux lapins traités par la dose 2 ou elles sont nombreuse et continue ainsi que l'apparition des cellules étroites chez le lot traités par la dose 2.

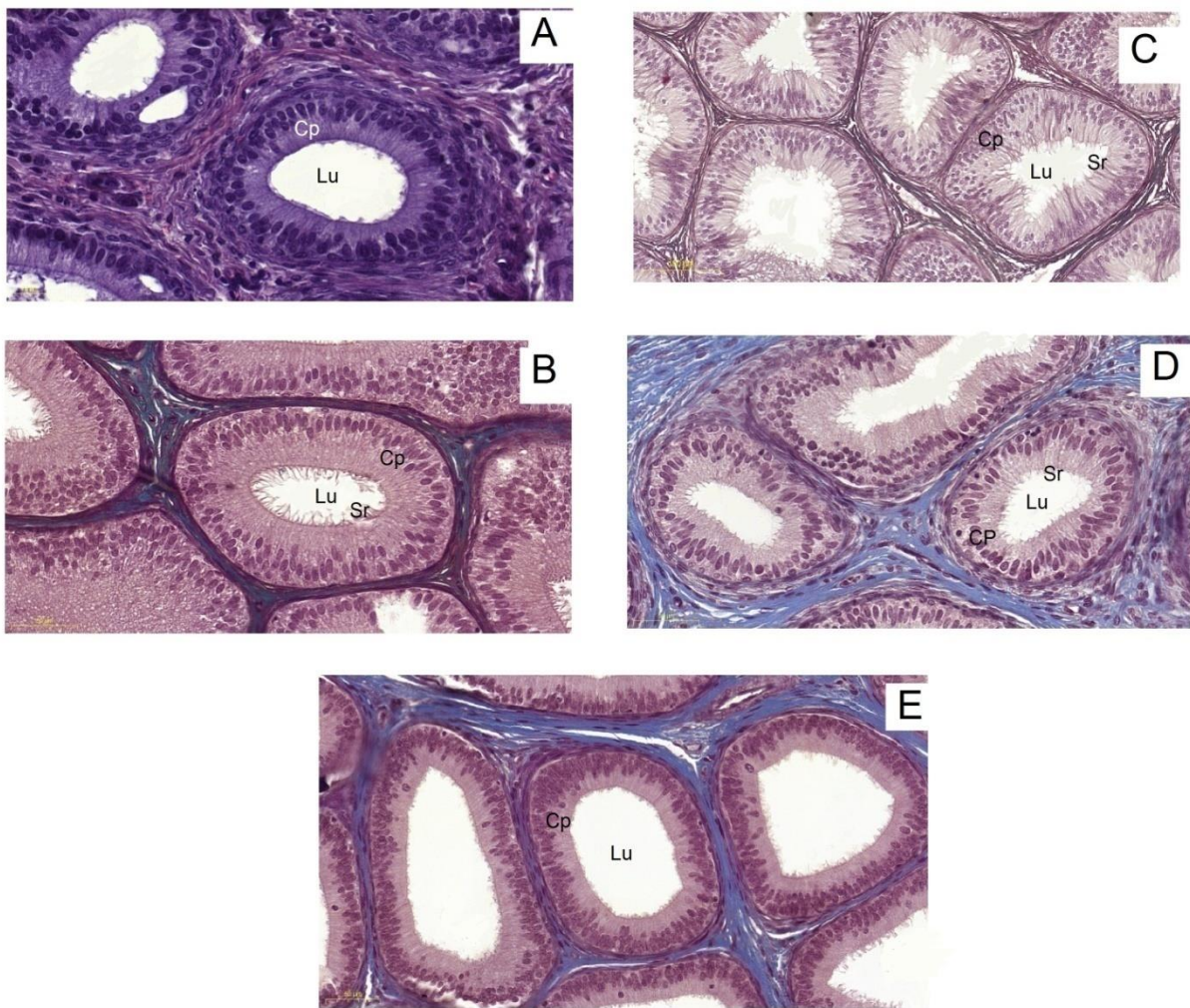
Les épидидymes des lapins traités par la dose 3 présentent un épithélium de forme prismatique stratifié avec des cellules très hautes (planche 1) et des stéréocils très nombreux et très développés en comparaison aux animaux traités par les doses précédentes, il y'a aussi présence des cellules étroites.

L'épithélium des épидидymes des lapins traités par la dose 4 est pseudo-stratifié (planche 1), les cellules principales sont moins hautes que chez les épидидymes des lapins traités par la dose 3 avec des stéréocils peu développés et les cellules basales et étroites sont moins nombreuses.

L'épithélium des épидидymes des lapins traités par la dose 5 est prismatiques et ressemble a celui du lot d'animaux traités par la dose 1 et 2 (planche 1) , les cellules principales sont hautes comparé aux lot (dose 3 et 4) avec des stéréocils très court et moins nombreux , avec la présence de quelques cellules basales.

La lumière des tubes épидидymaire traités par les différentes doses et dépourvus de spermatozoïdes.

Le diamètre des tubes varie entre une dose et une autre , en augmentant la dose entre dose 1 ,2 et 3 le diamètre de la lumière réduit ; il y'a aussi l'apparition des sécrétions à partir de la dose 2 (planche 1) .Le diamètre de la lumière augmente et les sécrétion diminue pour les lot traités par les doses 4 et 5 ou elle est presque absente .



**Lu:** Lumière, **Sr** : Stéréociles, **Cp** : Cellule principale.

**A** : épидидyme traité par la dose 1 de 200 $\mu$ l/kg **B** : épидидyme traité par la dose 2 de 300 $\mu$ l/kg

**C** : épидидyme traité par la dose 3 de 400 $\mu$ l/kg **D** : épидидyme traité par la dose 4 de 500 $\mu$ l/kg

**E** : épидидyme traité par la dose 5 de 700 $\mu$ l/kg

Planche 1 : Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins âgés de 1 mois traités par différentes doses de Romarin à verbénone après coloration de trichrome de Masson.

### 3. Discussion des résultats

Les résultats de cette étude montrent des changements structuraux de l'épididyme, parallèlement à des modifications des valeurs du poids épididymaire et corporels des lapins infantiles, après l'administration de l'huile essentielle Romarin à verbénone.

En effet, nous avons constaté que sur les 5 dose de l'huile essentielle Romarin à verbénone administré présente des valeur plus élevés que le témoin , les valeur augmentent de la dose 1 (200 µl/kg) jusqu'à la dose 3 (400µl/kg) et diminue à partir de la dose 4 (500 µl/kg).

Sur le plan histologique, chez les lapins infantiles traités par l'huiles essentielle Romarin à verbénone un changement des structures histologiques a été observé, l'épithélium du canal épididymaire devient prismatique avec des microvillosités sur le pôle apical de ces cellules, alors que l'épithélium du canal épididymaire des lapins témoin est cubique.

Nous avons constaté que l'huile essentielle Romarin à verbénone à la dose 3 (400µl/kg) est la meilleure dose où l'huile donne ses effets optimaux.

Selon les résultats obtenus par Saidj et Tamani (2019), sur l'effet de deux huiles essentielles Menthe poivrée et Romarin à verbénone à deux doses différentes sur les structures gonadiques chez les lapins infantiles mâles, ont montrés que les deux huiles essentielles ont une efficacité sur le développement du poids corporel, le poids testiculaire et le poids épididymaire qui sont plus élevés respectivement chez les lapins par rapport aux témoins.

Les résultats obtenus sur l'effet de l'huile essentielle Romarin à verbénone corroborent avec ceux obtenus par Haeri et al. (2006) sur l'effet de différentes huiles essentielles sur la fertilité des rats mâles comme l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*), administrée par voie orale à des doses de 75, 150 et 225 mg / kg / jour pendant 45 jours. En effet Haeri et al. (2006) constate une amélioration considérable de tous les paramètres évalués tels que la puissance, la fécondité, l'indice de fertilité et la taille de la litière lors d'un traitement par l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*), chez le rat.

De même selon Prinsetal. (1991) et Kamtchouing et al. (2002) l'augmentation du poids absolue du testicule et épididyme pourrait être due à une biosynthèse accrue des androgènes comme en témoigne une augmentation accrue des taux sérique de testostérone chez des rats expérimentaux traités par du Zingiber.



Selon Nassem *et al.* (1998), des extraits de graines de *Momordica charantia* testés chez des rats pendant 35 jours ont montré une augmentation du poids épидидymaire, ce qui montre sa propriété androgénique.

Toute fois un traitement par l'extrait de la menthe verte *Mentha spicata*, a provoqué une diminution significative du poids des testicules, épидидymes, vésicule séminale, de la prostate, de la LH sérique, FSH, la testostérone et la concentration des spermatozoïdes au niveaux de l'épididyme qui sont dose dépendante (Kumar *et al.*, 2008).

L'administration de l'extrait de fleurs de benzène d'*Hibiscus rosa sinensis* à des rats albinos mâles, à la dose de 200 mg/kg de poids corporel, a induit une diminution du poids corporel et des organes reproducteurs tels que les testicules et les épидидymes avec une réduction significative de la numération des spermatozoïdes et de motilité du sperme. L'étude a révélé que l'extrait de fleurs de benzène « d'*Hibiscus rosa sinensis* » a une activité antifertilité (Kumar *et al.*, 2014).

Selon l'étude de Mukhallad *et al.* (2009), l'extrait aqueux de la nigelle (administré par voie orale à 300 mg/kg pendant 60 jours), engendre une augmentation significative du poids des organes reproducteurs par rapport aux témoins, ainsi qu'une stimulation des paramètres de reproduction tels que la motilité et le nombre de spermatozoïdes dans les canaux testiculaires et épидидymères. Une augmentation significative de l'activité de la spermatogenèse a été observée dans les tubules séminifères des rats traités et la présentent dans lumière est différenciée d'un grand nombre de spermatozoïdes.

Al-Saaidi *et al.* (2009) observent lors de leurs études sur l'effet des extraits alcoolique de « *Nigella sativa* » sur la fertilité du rat une augmentation significative du poids du testicule, du diamètre et de l'épaisseur des tubes séminifères contenant des spermatogonies et spermatocytes, ainsi qu'une augmentation de la hauteur des cellules épithéliales entourant l'épididyme.

Selon Sathiyraj *et al.* (2011), l'extrait aqueux de feuilles « *Andrographis paniculata* » est un puissant agent spermicide et anti-fécondité, une réduction dose-dépendante est observée pour le nombre de spermatozoïdes testiculaires, du nombre de spermatozoïdes épидидymaires la motilité et la numération anormale des spermatozoïdes chez les rats traités avec l'extrait aqueux.

## **CONCLUSION**

### **Conclusion :**

Au terme de notre étude sur les effets de l'huiles essentielles romarin à verbénone à cinq doses différentes (200 µl/kg , 300 µl/kg, 400 µl/kg , 500µl/kg et 700 µl/kg), il en ressort que le poids corporel, le poids et le volume de l'épididyme chez les lapins infantiles de population blanche, sont plus élevés chez les lapins traités comparer au témoin, avec la dose 3 (400 µl/kg) qui présente la valeur la plus élevé, les valeur augmentent de la dose 1 (200 µl/kg) jusqu'à la dose 3 (400µl/kg) et diminue à partir de la dose 4 (500 µl/kg).

Histologiquement, les structure épидидymaire des traités sont plus développés que ceux des témoins, l'épithélium épидидymaire de la dose 3 (400µl/kg) est la plus développé que celui des autres doses, il devient prismatique constitué de cellules principales présentant des stériocils au niveau de leur pôle apical, des cellules basales qui apparaissent en abondance par rapport aux autres doses. Contrairement aux épithéliums épидидymaires des lapins traités par les dose 1 (200 µl/kg) et dose 5 (700 µl/kg) qui sont les moins développés comparé aux lapins traité avec les autres doses.

De ce fait, il, semblerait que l'huile essentielle Romarin à Verbénone a un effet positif meilleur sur le développement de l'épididyme, favorisant ainsi la fertilité des lapins infantiles, avec un effet optimal à la dose 3 (400µl/kg).

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt d'analyser la semence pour identifier les caractéristiques de la fertilité des lapins traités avec l'huiles essentielles Romarin à verbénone, étudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus, de réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand et d'effectuer les mêmes expériences sur la lapine.

D'autres études précliniques et des essais cliniques chez l'homme sont nécessaires pour trouver une place possible dans les thérapies des troubles de la fertilité.



# Référence Bibliographique

- **Abney, T.O. (1999)** «The potential roles of estrogens in regulating Leyding celldevelopment and function: a review.»Steroids 64(9): 610-7.
- **Abraham L., Kierszenbaum., 2006**, Histologie et biologie cellulaire : uneintroduction à l'anatomie pathologique. Boeck université rue du Minimes p.529.
- **Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Gravel R.A., Trasler J.M. ET Hermo L. (1999)**. II. Characterization and development of the regional-and cellular-specific abnormalities in the epididymis of mice with beta-hexosaminidase a deficiency. J. Androl. 20: 803-824.
- **AL-Saaiddi JA., AL-KhuzaiALD.et AL-ZobaydiNFH.,2009**. Effect of alcoholic extract of Nigella Sativaon fertility in male rats. Supplement II: 123-128.
- **Alvarino M.R., (1993)**. Control de la reproduccion en el conejo. 1er éd., Iryda, mundi-prensa, 137p.
- **Amann R.P. (1993)**. Physiology andEndocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL (eds), Equine Reproduction, 1ed.Lea et Febiger eds, Philadelphia, pp. 1137-1154 5.
- **Aubineau M., Bermond A., Bongler J., Roger J-Estardj. ; 2002**.Larousse agricole,Larousse VUEF. Canada ,379p
- **Bahathiq A.O., Stewart R.L., Baxter L., Wells M., Moore H.D. et Ledger W.L. (2005)**. Tissue immunoexpression and messenger ribonucleic acid localization of inhibin/activin subunit in human epididymis.Fertil. Steril. 83: 78-85.
- **Bardran. H. H. et Hermo L. (2002)**. Expresion and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the
- **Barone R. (2001)**. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241 -516.
- **Bedford JM. (1979)**. Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. In:fawcett dw,Bedford JM(éd). The spermatozoa. Baltimore: Urban ET schwarzenberg, pp: 7-21.
- **Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckhein M., Veyssiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. (1982)**. Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. Acta Endocrinol. 99: 459-465
- **Bonnes G., Desclaude J., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Le Loc'h A., Montémas L. et Robin G. (2005)**.Reproduction des animux d'élevage. 2éme Ed. Educagri: 407p.

- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion Lavoisier TEC et DOC : 240p.
- **Cooper T.G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. Journal Reproduction and Fertility Suppl, vol 53, p. 119-136.
- **Dadoue J.P. et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Edition INRA, Paris : 256-289.
- **Dadoue J.P., Hadjisky P., Siffroi J.P., Vendrely G. (2000)** in: Histologie: de la biologie à la clinique; 2ème Ed. chapitre 14 Appareil urinaire, Paris médecine-sciences, Flammarion, p. 217-28.
- **Fan X. et Robaire B. (1998).** Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. Endocrinol. 139: 2128-2136.
- **Filippi, S., Luconi, M., Granchi, S., Vignozzi, L., Bettuzzi, S., Tozzi, P., Ledda, F., Forti, G., et Maggi, M. (2002a).** Estrogens, but not androgens, regulate expression and functional activity of oxytocin receptor in rabbit epididymis. Endocrinology 143, 4271-4280.
- **Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000).** Influence of chronic high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. 7th world Rabbit congress.
- **Grasse P. P., 1949.** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.-Paris : Ed. Masson et Cie: 979 p.
- **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A., et Adbollahi M. (2006).** Effect of Satureja khuzestanica essential oil on male rat fertility. Elsevier, Fitoterapia, 77, 495-499.
- **Hermo L. et Robaire B. (2002).** Epididymal cell types and their functions. In: Robaire B., Hinton B.T. The epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York: 81-102.
- **Hermo L., Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Mahuran D., Gravel R.A., et Trasler J.M. 2000.** i. abnormalities in cells of the testis, efferent ducts, and epididymis in juvenile and adult mice with beta-hexosaminidase A and B deficiency. J androl 20, 779-802.

- **Jardin A. et De Fourmestraux N. (1984).** In Mauvais-Jarvis P. médecine de la reproduction masculine. Ed. Flammarion Med. Sci. : 15-23.
- **Jégou B., Rolland A., et Albert O., 2014.** Le testicule. In : SAINT-DIZIER M et CHASTANTMAILLARDS. Editions quae. P752.
- **Joly T. et Theau-clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction. 7ème Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. 5 Décembre 2000 -Valencia "Ombres et Lumières" pp: 19-24.
- **Kammerer M., Leclerc S., Poncet A. (2012).** 100 Intoxications chez les animaux de compagnie. Edition Maloine. Paris. p 185-186.
- **Kamtchouing P, Fandio GYM, Dimo T, Jatsa HB. (2002).** Evaluation of androgenic activity of Zingiber officinale and pentadiplandra brazzeana in male rats. Asian J Androl. 4 :299-301.
- **Kasa I.W. et Thwaites C.J. (1992).** Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8h on either 1 or 5 days. J. App. Rabbit Res. 15:500-568.
- **Kumar. D., Agrawal. CP, Mishra. DD et Singh. V., (2014).** Effet anti-fertilité de l'extrait de benzène de fleurs d'Hibiscus rosa sinensis L. sur le système reproducteur chez des rats mâles albinos. Indian Journal Applied & Pure Biology., 29 (2): 215-217.
- **Lambard S., D. Silandre, C Delalande, L . Denis-Galeraud, S. Bourguiba et S. Carreau (2005).** "Aromatase in testis: expression and role in male reproduction." J Steroid Biochem Mol 95 (1-5): 63-9.
- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (accès 06/2020).
- **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et De Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie. F.A.O. éd. Rome: 298 p
- **Lebas F., Marionnet D. et Hennaf P. (1991).** La production du lapin, Technologie et documentation, LAVOISIER (3èmes édition) : 260p.
- **Lejeune H., Jegou B., Carreau S. et Saez J.M. (1996).** Régulation paracrine et autocrine des fonctions testiculaires in Drosowsky M.A., Belaisch J., Vermeulen A. (1996). Endocrinologie masculine. Edition Doin, Paris : 75-101.

- **Li Y., Putnam-Lawson C.A., Knapp-Hoch H., Friel P.J., Mitchell D., Hively R. et Griswold M.D. (2005).** Immunolocalization and regulation of Cystatin 12 in mouse testis and epididymis. *Biol. Reprod.* 73: 872-880.
- **Lin T., J.K. Calkins, P.L. Morris, W. Vale et C.W. Bardin (1989).** "Regulation of Leydig cell function in primary culture by inhibin and activin". *Endocrinology* 125(4): 2134-40.
- **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 8 (1), pp. 1 -29.
- **Mann T. et Parsons U. (1950).** Studies on the metabolism of semen. 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and seminal fructose. *Biochem. J.* 46:440.
- **Marie saint-dizier, sylvie, chasant-maillard; 2014.** la reproduction animale et humaine 2.1.1 p.185.
- **Marieb N.E. (2006).** Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd. renouveau pédagogique : 1096.
- **Martin H, Johnson et Barry J, Everitt, 2002.** Reproduction .De Boeck Université s.a.Paris.p298.
- **Martine Albert; 2009.** Histologie embryologie, biologie la reproduction cytogénétique et génétique médicale/DHI de poissy 10.
- **Martinez-Garcia F., Regadera J. Cobo P. Palacios J. Paniagua R, et Nistal M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia.* 27:195-206.
- **Matzuk M. M., Kumar, T. R., et Bradley, A. (1995).** Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor type II. *Nature* 374, 356-360.
- **Mukhallad, A., Mohamad, A., et Hatham, D. (2009).** Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med Sci* , 4 (2), 386-390.
- **Nassem MZ., Patil SR. et Patil SB., 1998.** Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albino rats. *Journal of ethnopharmacology.* Vol 61: 9-16.
- **Nguyen S Y., Bourouina. (2008).** Manuel d'anatomie et de physiologie (paris) :410-458.

- **Niemi M., et Kormano M. (1965).** Contractility of the Seminiferous Tubule of the Postnatal Rat Testis and Its Response to Oxytocin. *Ann Med Exp Biol Fenn* 43, 40-42.
- **Parlevliet J.M., Pearl C.A., Hess M.F., Famula T.R. et Roser J.F. (2006).** Immunolocalization of estrogen and androgen receptors and steroid concentrations in the stallion epididymis. *Theriogenol.* 66:755-765.
- **Payne A.H et O'shaughnessy P. J(1996).** Structure and regulation of steroidogenic enzymes in the leydig cells.
- **Prins SG., Birch L. et Greene GL. (1991).** Androgen receptor localization in different cell types of the adult rat prostate. *Endocrinology.* 129 : 3187-99.
- **Ramé. Alain, Sylvie Thérond; 2007.** Anatomie et physiologie. paris: Elsevier Masson SAS, [XIV-318] p.
- **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure functions, and their regulation. In: Knobil E., Neill J. (éd.). *The physiology of reproduction.* New York: Raven press, pp: 999-1080.
- **Robaire B. et Viger RS. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol. Reprod.* 52: 226-236.
- **Robaire B., Hinton B.T. et Orgebin-Crist M.C. (2006).** The epididymis. In: Neill J.D. (ed.) *Physiol. of Reprod.* Third. Edition. New York: Elsevier: 1071-1148.
- **Robaire B., Jervis K.M. et Ezer N. (2003).** Cell Dynamics and Cell Death in the Epididymal Epithelium. In: *Third International Conference on the Epididymis:* 35-49, Hinton B.T. et Turner T.T. eds. 2003, The Van Doren Company, Charlottesville, Virginia, USA.
- **Sathiyaraj, K., Sivaraj, A., Thirumalai, T., Baskaran, N., Vinothrasu, K., Inbasekar, P. et Senthil Kumar, B. (2011).** Activité anti-fécondante de l'extrait aqueux de feuilles d'*Andrographis paniculata* chez des rats mâles albinos. *Journal international of Pharmaceutical & Biological Archives.*, 2 (4): 1179-1182.
- **Shayu D., Kesava C.C., Soundarajan R. et Rao A.J. (2005).** Effects of ICI 182780 on estrogen receptor expression, fluid absorption and sperm motility in the epididymis of the bonnet monkey. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3: 10.
- **Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.* 14: 151-154.
- **Soranzo L., Dadoune J.P. et Fain-Maurel M.A. (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod. Nutr. Dev.* 22: 999-1012.

- **Suvanto O. et Kormano M. (1970).** The relation between in vitro contractions of the rat seminiferous tubules and the cyclic stage of the seminiferous epithelium. *J ReprodFertil*: 21, 227-232.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edition, éd. Ellipses (Paris) p: 928.
- **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard -Lyon 1 France: 1-4.
- **Vaissaire J.P. (1977).** Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Edition Maloine S.A:101-200.
- **Wosnitzer M.S. et Paduch D.A. (2013).** Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 163. (1) pp:16-26.
- **Yu L.C., Echen Y.H. (1993).** The developmental profile of lactoferrin in mouse epididymis. *J. Biochem*. 296: 107-11.
- **Zerrouki N. (2007).** Characterisation of a kabyle population of rabbits in Algeria: birth to weaning growth performance. *World Rabbit Sci*. 2007.15: 111 –114.

## Résumé

En Algérie, Les huiles essentielles sont utilisées pour divers intérêts : cosmétiques, pharmaceutiques , thérapeutiques et même biologiques mais n'ont pas été utilisées comme des produits stimulants pour la reproduction .Pour cela notre objectif est d'étudier l'influence de l'huile essentielle « Romarin à Vérébène » à cinq doses (200µl/kg, 300µl/kg, 400µl/kg 500µl/kg et 700µl/kg) sur le poids corporel et poids de l'épididyme du lapin mâle infantile de la population blanche, ainsi que sur leurs structures épидидymaires. Les résultats de notre étude ont montré que tous les lapins traités présentent des valeurs plus élevées que le témoin, les valeurs augmentent de la dose 1 (200 µl/kg) jusqu'à la dose 3 (400µl/kg) et diminuent à partir de la dose 4 (500 µl/kg). Une augmentation importante du poids corporel, poids épидидymaire chez les lapins traités par la dose 3 (400µl/kg), ainsi que des structures épидидymaires plus développées et donc c'est à cette dose que le Romarin à Vérébène a un effet optimal en stimulant la fonction reproductrice masculine (développement de épидидymes).

**Mots clés :** lapins mâles ; épидидyme ; reproduction.

## Abstract

In Algeria, essential oils are used for various interests: cosmetic, pharmaceutical, therapeutic and even biological but have not been used as stimulating products for reproduction. For this our objective was to study the essential oils "Rosemary to Verbenone" at five doses (200µl / kg, 300µl / kg, 400µl / kg 500µl / kg and 700µl / kg) on the body weight and epididymis weight of the male infant rabbit of the white population, as well as on their structures epididymal. The results of our study have shown that all the treated rabbits have higher control values, the values increase from dose 1 (200 µl / kg) up to dose 3 (400 µl / kg) and decrease from dose 4 (500 µl / kg). A significant increase in body weight, epididymal weight in rabbits treated with dose 3 (400µl / kg), as well as more developed epididymal structure and therefore it is at this dose that Rosemary Verbenone has an optimal effect by stimulating the male reproductive function (development of epididymis).

**Key words:** male rabbits; epididymis; reproduction.