

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 Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du
Diplôme de Master en sciences biologiques.
Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction (BPR)

Thème

**Étude des effets des huiles essentielles *Mentha peperita.*,
Rosmarinus officinalis et *Salvia Officinalis* à deux doses
différentes sur la structure des testicules des lapins mâles
prépubères (3 mois) de la souche synthétique.**

Réalisé par **Melle : AIT BELABBAS Radia**
Melle : AIT BELKACEM Ferroudja

Soutenu devant le jury composé de

Mme MEDJDOUB BENSAAD F.	Professeur	UMMTO	Présidente
Mme LAKABI L.	M.C.B	UMMTO	Promotrice
Mme AMROUN T.	M.C.B	UMMTO	Co-Promotrice
Mme BOUAZIZ H.	M.C.B	UMMTO	Examinatrice

2019-2020



REMERCIEMENTS



*On tient d'abord à remercier Dieu pour la volonté et le courage
Qu'il nous a donné pour mener à terme ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à **Madame LAKABI-AHMANACHE L.** Maître de conférences B 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 vous remercions très sincèrement pour votre patience.*

*Notre grande reconnaissance et la marque de notre profond respect à notre co-promotrice **Madame AMROUN T.T** Maître de Conférences B à l'Université Mouloud Mammeri, qui a bien voulu nous accorder une partie de son temps pour corriger notre travail.*

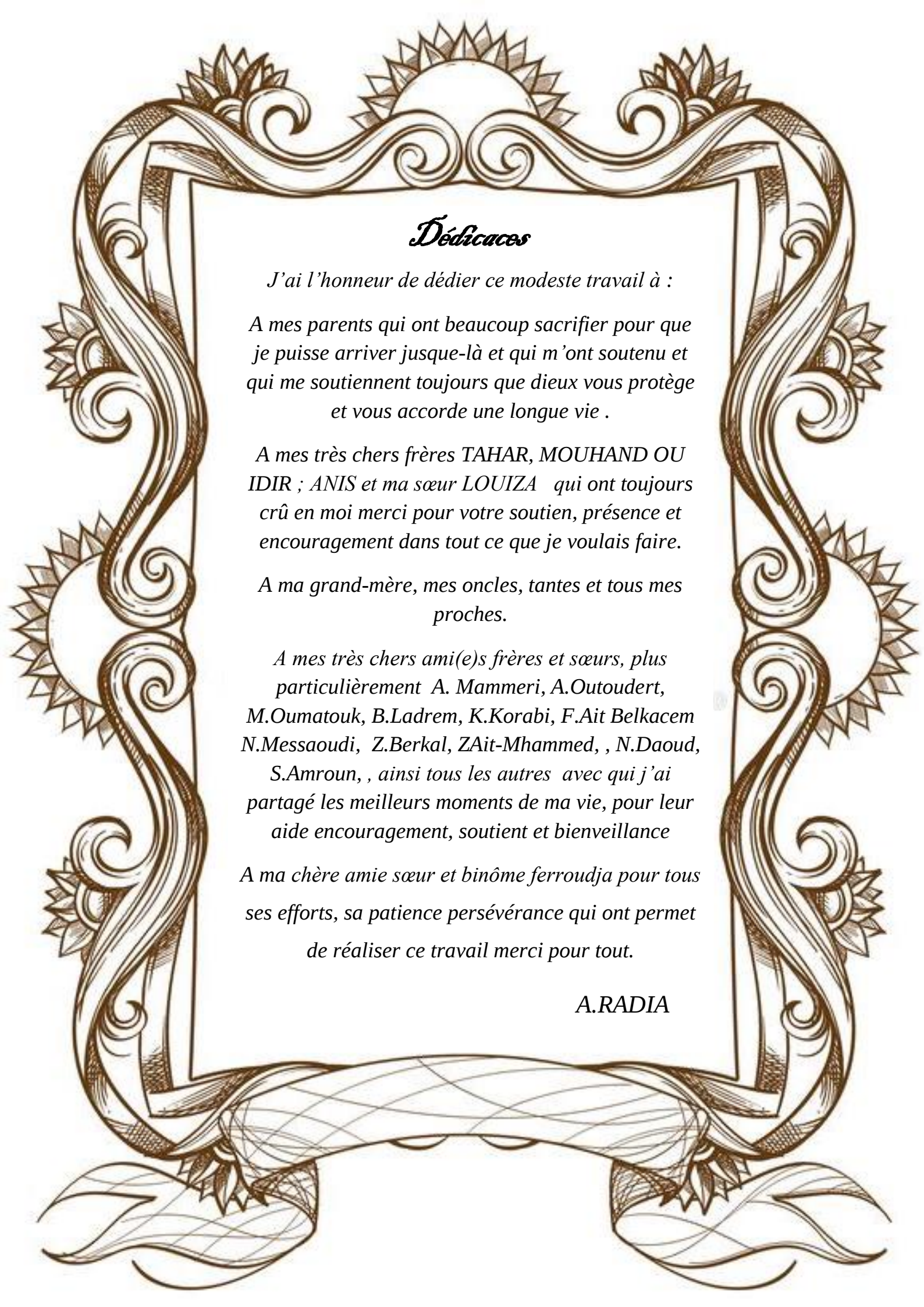
*Nous voudrions aussi exprimer nos sincères remerciements à **Madame MEDJDOUB-BENSAAD F.** Professeur à l'Université Mouloud Mammeri pour l'intérêt qu'elle porte à ce travail et nous avoir témoigné sa confiance en acceptant de présider la commission d'examen.*

On exprime nos reconnaissances à Madame BOUAZIZ H. Maître de Conférences B à l'Université Mouloud Mammeri pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire de Mme MEDJDOUB-BENSAAD ainsi que tous nos enseignants du département des Sciences biologiques, et toute personne ayant contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Un grand merci.





Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à :

*A mes parents qui ont beaucoup sacrifier pour que
je puisse arriver jusque-là et qui m'ont soutenu et
qui me soutiennent toujours que dieux vous protège
et vous accorde une longue vie .*

*A mes très chers frères TAHAR, MOUHAND OU
IDIR ; ANIS et ma sœur LOUIZA qui ont toujours
crû en moi merci pour votre soutien, présence et
encouragement dans tout ce que je voulais faire.*

*A ma grand-mère, mes oncles, tantes et tous mes
proches.*

*A mes très chers ami(e)s frères et sœurs, plus
particulièrement A. Mammeri, A.Outoudert,
M.Oumatouk, B.Ladrem, K.Korabi, F.Ait Belkacem
N.Messaoudi, Z.Berkal, ZAit-Mhammed, , N.Daoud,
S.Amroun, , ainsi tous les autres avec qui j'ai
partagé les meilleurs moments de ma vie, pour leur
aide encouragement, soutient et bienveillance*

*A ma chère amie sœur et binôme ferroudja pour tous
ses efforts, sa patience persévérance qui ont permet
de réaliser ce travail merci pour tout.*

A.RADIA



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mon chère et unique frère AGHILES, que dieu ait son âme.

*A ma très chère mère HENIA
Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles*

*A mon très cher père LARBI
Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection*

*A ma chère petite et unique sœur CELINE
Source de joie et de bonheur. Avec tous mes vœux de bonheur, de santé ,de réussite et de succès , que dieu te protège et te garde.*

*A mon future mari YANIS et sa famille
A tous les membres de ma famille et toutes personnes qui portent le nom AIT BELKACEM*

A tous mes amies, tout particulièrement KAHINA, NOUARA, SAMIRA et RADIA avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail

A tous mes collègues de la même spécialité BPR : la promotion 2019/2020.

*Et enfin à tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer
A vous cher lecteur*

A.FERROUDJA



Abréviations

17 β -HSD : 17 β -Hydrox stéroïde déhydrogénase
3 β -HSD: 3 β - Hydrox stéroïde déhydrogénase
ABP: Androgen Binding Protein
Ad : Spermatogonie à chromatine fine et sombre
ADN : Acide désoxyribonucléique
AMH: Hormone antimüllérienne
Ap: Spermatogonie à chromatine claire
APS : Acide Périodique-Schiff
ATP: Adénosine Triphosphate
ATP: Adénosine Triphosphate
DHT : Dihydrotestostérone
EGF : EpidermalGrowth Factor
ESM : Erreur standard à la moyenne
FGF: Fibroblast growth Factor
FSH: Follicle Stimulating Hormone
GnRH: Gonadoliberine
GPC: Glycéryle Phosphoryl Choline
H⁺: Protons
HAM: Hormone antimüllérienne
HCO₃: bicarbonates
HE: Huile essentielle
IGF-1: Insulin Growth Factor
IGF-1: Insulin growth factor-1
IL 1 : Interleukin 1
INRA : Centre d'activités scientifiques pluridisciplinaires
ITEVL : Institut Technique des Elevages
ITMA: Institut de Technologie Moyen Agricole
LH: Luteinizing Hormone
LHRH: Luteinizing Hormone Releasing Hormone
MIS: Müllerian inhibitory substance
ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail
P34H: Protéine sperm surface protéin
P450scc: Cytochrome P450 Side Chain Cleavage
pH: Potentiel Hydrogène
Sg: Spermatogonie
SGF: Seminiferous Growth Factor
SKEO: Saturejakhuzestanica essential oil
SP I : Spermatocytes de premier ordre
SP II: Spermatocyte de deuxième ordre
SpA : Spermatogonie à chromatin
SpB: Spermatogonie B
StAR: Steroidogenic Acute Regulatory Protein
TNF: Tumor Necrosis Factor

**Liste des figures,
planches et
tableaux**

Figure 1 : Appareil génitale mâle in situ du lapin (Thomas et <i>al.</i> , 2008).....	3
Figure 2: Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins (Jacques et <i>al.</i> , 1997).....	4
Figure 3: Coupe transversale du testicule montrant les enveloppes testiculaires (Perrin, 1992).....	5
Figure 4: Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy, 1991).	6
Figure 5: Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).	8
Figure 6: Coupe longitudinale du testicule (Tortora et <i>al.</i> , 2007).....	12
Figure 7 : Détail d'une portion de tubule séminifère du lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).	13
Figure 8 : Schéma de l'ultra structure de la cellule de Sertoli (Fawcett, 1975).	14
Figure 9: Structure de la cellule de Sertoli et l'organisation des cellules germinales.....	15
Figure 10: Schéma de spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucrier, 2009).	17
Figure 11: Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouad, 2009)	19
Figure 12 : schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épididymaires (Breton et Da Silva, 2012).	21
Figure 13 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).	23
Figure 14: Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours, d'après Prud'hon (1973) (Souche moyenne pesant 4 kg adulte)	24
Figure 15 : Différentes étapes de la vie sexuelle du mâle (Boussit, 1989).....	25
Figure 16 : les différentes étapes de la spermatogénèse Adaptée (d'Allais-Bonnet et Pailhous, 2014)	28
Figure 17 : Cycle spermato-génétique du lapin (Boussit, 1989).	29
Figure 18: Les étapes de la spermiogénèse (Gayard, 2007).....	30
Figure 19 : Régulation de la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig (Clarisse, 2012)	32
Figure 20 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).....	33
Figure 21 : Représentation schématique des trois principales fonctions de l'épithélium épididymaire (kellaci,2017).....	36
Figure 22 : Contrôle endocrinien de la reproduction chez le mâle (Morin-Ganet, 2006)	38
Figure 23: Lapins male appartenant à la souche synthétique	44
Figure 24: Romarin cultivé (Monzie,2008).....	45
Figure 25 : la sauge (<i>Salvia officinalis</i> L.) (Madi,2010)	47
Figure 26: Feuilles et fleurs de la menthe poivrée (Benayard cité in Bouchiha et <i>al.</i> , 2014)	48
Figure 27: Lapins placés en groupe dans des cages spéciales.....	50
Figure 28: Pesé et l'administration des huiles essentielle aux lapins.....	50
Figure 29: Lapin sacrifié et prise du sang après la prise du poids)	51
Figure 30 : A : Photographie d'une dissection d'un lapin mâle ; B : présentation de gonades du lapin lors du sacrifice ; C : détermination du poids du testicule ; D : détermination du volume	52
Figure 31: Piluliers de fixateur contenant les organes.....	53
Figure 32: Série de bain d'alcool éthylique.....	54
Figure 33 : Organe placé dans des moules à paraffine	55
Figure 34 : Microtome et bain marie	55
Figure 35: Les bains de xylène de la circulation.....	56
Figure 36 : Série d'une coloration topographique	57
Figure 37 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par l'huile essentielle Sauge officinale. ..	59
Figure 38: Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone.....	60

Figure 39 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée.	61
Figure 40 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge, Romarin et Menthe poivrée.	62
Figure 41 : Valeurs moyennes du poids des testicules gauche et droit des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge, Romarin et Menthe poivrée.	63
Figure 42: Poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge officinale	64
Figure 43 : Poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone....	65
Figure 44: Poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée.	66
Figure 45 : Poids total des testicules des lapins prépubères traités par les différentes huiles Sauge , Romarin et Menthe poivrée.....	67
Figure 46 : Poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge officinale.....	68
Figure 47 : Poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone .	69
Figure 48 : Poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée.....	69
Figure 49 : Poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par les trois huiles Sauge officinale Romarin à verbénone et Menthe poivrée.	70
Figure 50: Volume totale des testicules des lapins âgés de 3mois traités par la Sauge officinale.	71
Figure 51 : Volume des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone	72
Figure 52 : Volume des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée	73
Figure 53 : Volume des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par les trois huiles Sauge officinale Romarin à verbénone et Menthe poivrée.....	74
Planche 1 : Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule des lapins âgés de 3 mois après coloration de trichrome Masson	76
Planche 2 : Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule des lapins agés de 3 mois après coloration de trichrome de Masson	78
Tableau 1 : Composition de l’huile essentielle Romarin à verbénone (RS Frag,1989)	46
Tableau 2 : Composition de l’huile essentielle de Salvia officinalis (Wolter, 2007).....	47
Tableau 3 : Composition de l’huile essentielle Menthe poivrée (Bouchiha et al., 2014).....	49



Sommaire

Liste des abréviations
Liste des figures, planche et tableaux

Introduction Général..... 1

Chapitre I: Anatomo-Histologie De L'appareil Reproducteur Mâle

1. Anatomie De L'appareil Reproducteur Mâle Du Lapin.....	3
1.1 Anatomie De La Portion Glandulaire : Testicule.....	4
1.1.1 Enveloppes Testiculaires.....	5
1.1.2 Vascularisation Et Innervation.....	5
1.1.2.1 Artère Testiculaire.....	6
1.1.2.2 Veines Testiculaires.....	6
1.1.2.3 Vaisseaux Lymphatiques.....	7
1.1.2.4 Innervation Du Testicule.....	7
1.2 Anatomie De La Portion Tubulaire.....	7
1.2.1 Epididyme.....	7
1.2.2 Canal Déférent.....	9
1.2.3 Urètre.....	9
1.3 Anatomie De La Portion Copulatrice (Pénis).....	9
1.4 Glandes Annexées.....	9
1.4.1 Vésicule Séminale.....	10
1.4.2 Glande Vésiculaire (Pro Prostata).....	10
1.4.3 Glande Prostatique.....	10
1.4.4 Glandes Para Prostatiques.....	10
1.4.5 Glandes Bulbo-Urétrales Bilobées Ou Glandes De Cowper.....	11
2. Histologie Du Testicule.....	11
2.1. Structure Interne Du Testicule.....	11
2.2. Tubes Séminifères.....	12
2.2.1 Cellule De Sertoli.....	13
2.2.2 Cellules Germinales.....	14
2.2.2.1 Spermatogonies.....	16
2.2.2.2 Spermatocytes.....	16
2.2.2.3 Spermatides.....	17
2.2.2.4 Spermatozoïdes.....	16

2.3. Tissu Interstitiel.....	17
2.3.1. Cellules De Leydig.....	18
3. Histologie De L'épididyme.....	18
3.1. Cellules Principales.....	18
3.2. Cellules Basales.....	19
3.3. Cellules Claires	20
3.4. Cellules En Halo.....	20
3.5. Cellules Apicales.....	20
3.6. Cellules Etroites	21
3.7. Lumière Du Canal Epididymaire	21

Chapitre II: Physiologie De La Reproduction

1. Développement Des Gonades	22
1.1 Développement Pondéral	23
1.2 Maturation Sexuelle	24
1.2.1 Phase Infantile	24
1.2.2 Phase Pré Pubertaire.....	26
1.2.3 Puberté.....	26
1.2.4 Maturité Sexuelle	26
1.3 Développement Comportemental.....	26
2. Fonction Physiologique Du Testicule	27
2.1. Fonction Exocrine Du Testicule : Spermatogénèse	27
2.1.1. Prolifération Mitotique(Spermatocytogenèse)	27
2.1.2. Accroissement Et Division Méiotique	28
2.1.3. Cytodifférenciation (Spermiogénèse)	30
2.2 Fonction Endocrine Du Testicule : Stéroïdogenèse	31
3. Fonctions Physiologique De L'épididyme.....	32
3.1 Mode De Sécrétion De L'épididyme	32
3.1.1 Sécrétion Mérocrine	32
3.1.2 Sécrétion Apocrine.....	33
3.2 Fonctions De L'épithélium Epididymaire.....	33
3.2.1 Maturation Des Spermatozoïdes	33
3.2.2. Acquisition De La Mobilité.....	34
3.2.3. Protection Des Spermatozoïdes.....	34

3.2.4. Stockage Des Spermatozoïdes.....	35
3.2.5 Autre Fonction De L'épididyme	35
3.2.5.1. Absorption Et Réabsorption	35
3.2.5.2. Sécrétion.....	35
3.2.5.3 Métabolisme	36
3.2.5.4 Spermiophagie.....	36
4. Régulation Hormonale De La Fonction De Reproduction.....	37
4.1. Axe Hypothalamo-Hypophysaire.....	37
4.2. Régulations Des Fonctions Testiculaires	37
4.3. Régulation Intra Gonadique	38
4.4 Régulation Des Fonctions Epididymaire.....	39
4.4.1. Androgènes.....	39
4.4.2. Oestrogènes	40
4.4.3. Ocytocine/Mélatonine Et Angiotensine II.....	40
5. Facteurs De Variations De La Fonction De Reproduction Du Lapin	40
5.1. Température	40
5.2. Saison	41
5.3. Eclairement Et Photopériode.....	41
5.4. Humidité (L'hygrométrie).....	41
5.5. Alimentation.....	42
5.6. Age	42
5.7. Huiles Essentielles.....	42

Chapitre III : Matériels Et Méthodes

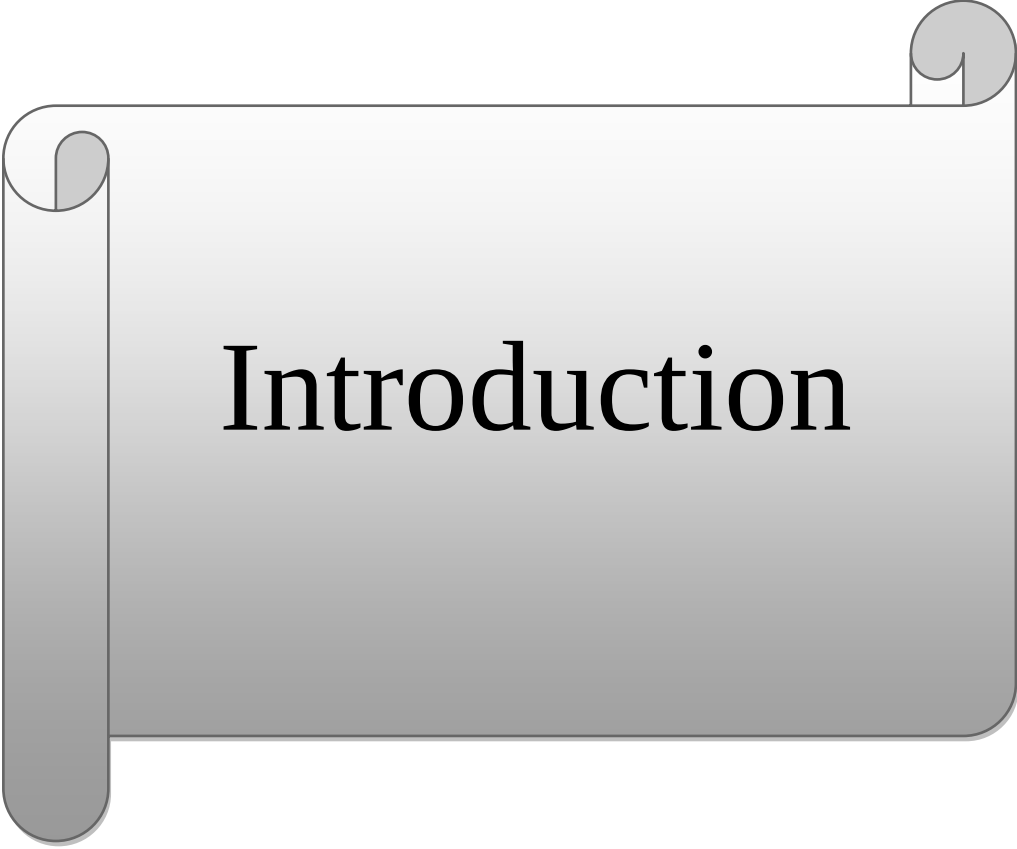
1. Lieu Et Dure D'expérimentation.....	43
2. Matériels Et Méthodes	43
2.1. Modèle Animal.....	45
2.1.1. Condition D'élevage	44
2.2. Huiles Essentielles.....	44
2.2.1. Romarin A Vérénone (<i>Rosemarinus officinalis</i>).....	45
2.2.2. Sauge Officinale (<i>Salvia Officinalis</i>)	46
2.2.3. Menthe Poivrée (<i>Mentha peperita</i>)	47
2.3 Autres Matériels	49
3. Expérimentation	49

4. Protocole Expérimentale	50
4.1 Pesé Et Administration Des Huiles	50
4.2 . Sacrifice Et Prélèvement Des Organe	51
5. Etude Histologique.....	52
5.1.Fixation.....	53
5.2. Déshydratation Et Eclaircissement.....	53
5.3. Imprégnation	54
5.4. Inclusion	54
5.5. Confection Des Coupes Et Collage	55
5.6. Déparaffinage Et Réhydratation.....	56
5.7. Coloration Topographique	56
5.8. Observation Des Lames	57
6. Etude Statistique.....	57

Chapitre IV : Résultats Et Discussion

1.Résultats	59
1.1 Résultat De L'étude Macroscopique	59
1.1.1 Poids Corporel.....	59
1.1.1.1 Poids Corporel Des Animaux Traités Par La Sauge Officinale	59
1.1.1.2. Poids Corporel Des Animaux Traités Par Le Romarin A Verbénone.....	60
1.1.1.3 Poids Corporel Des Animaux Traités Par La Menthe Poivrée	61
1.1.1.4. Poids Corporel Comparaison Entre Les Trois Huiles	62
1.1.2 Poids Testiculaire	63
1.1.2.1 Poids Testiculaire Gauche Et Droit Des Lapins Traités Par Les Trois Huiles.....	63
1.1.3 Poids Testiculaire	64
1.1.3.1. Poids Testiculaire Totale Des Lapins Traités Par La Sauge Officinale	64
1.1.3.2. Poids Testiculaire Totale Des Lapins Traités Par Le Romarin A Verbénone.....	65
1.1.3.3. Poids Testiculaire Totale Des Lapins Traités Par La Menthe Poivrée.....	66
1.1.3.4. Poids Testiculaire Totale Comparaison Entre Les Huiles.....	66
1.1.4 Poids Testiculaire Relatif A 100 G De Poids Corporel.....	67
1.1.4.1 Lapins Traités Par La Sauge Officinale	67
1.1.4.2 Lapins Traités Par Le Romarin A Verbénone	68
1.1.4.3. Lapins Traités Par La Menthe Poivrée	69
1.1.4.4. Poids Relatif Des Lapins Traité Par Les Trois Huiles Essentielles.....	70

1.1.5. Volume Testiculaires.....	70
1.1.5.1 .Volume Testiculaires Des Lapins Traités Par La Sauge Officinale.....	71
1.1.5.2 .Volume Testiculaires Des Lapins Traités Par Le Romarin A Verbénone	71
1.1.5.3 .Volume Testiculaires Des Lapins Traités Par La Menthe Poivrée	72
1.1.5.4. Comparaison Entre Les Huiles.....	73
1.2. Résultat De L'étude Microscopique.....	75
1.2.1. Étude Histologique Des Structures Testiculaires Des Lapins Témoin	75
1.2.2. Étude Histologique Des Structures Testiculaires Des Lapins Traités Par La Sauge	75
1.2.3. Étude Histologique Des Structures Testiculaire Des Lapins Traités Par Le Romarin A77	
1.2.4 Étude Histologique Des Structures Testiculaires Des Lapins Traités Par La Menthe Poivrée.....	77
2. Discussion	79
2.1. Poids Corporel.....	79
2.2. Poids Et Volume Testiculaires Des Lapins	79
2.3 Paramètres Histologiques.....	80
 Conclusion.	 83
Références bibliographiques.	85



Introduction

En Algérie les productions animales sont de plus en plus diversifiées mais leurs performances restent toujours insuffisantes pour combler le déficit en protéines animales, le développement de la cuniculture constitue une alternative intéressante pour diminuer ce déficit. Or, le lapin présente plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa productivité et reproductivité. En effet il est caractérisé par un cycle biologique très court (30 jours de gestation), une prolificité très élevée 40 à 45 lapereaux par lapine et par an (Lebas *et al.*, 1996), une transformation des protéines végétales en protéines animales très importante (20%), une grande production de viande (60 à 65Kg/lapine/an) à tous cela s'ajoute sa valeur nutritionnelle et ces qualités diététiques.

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).

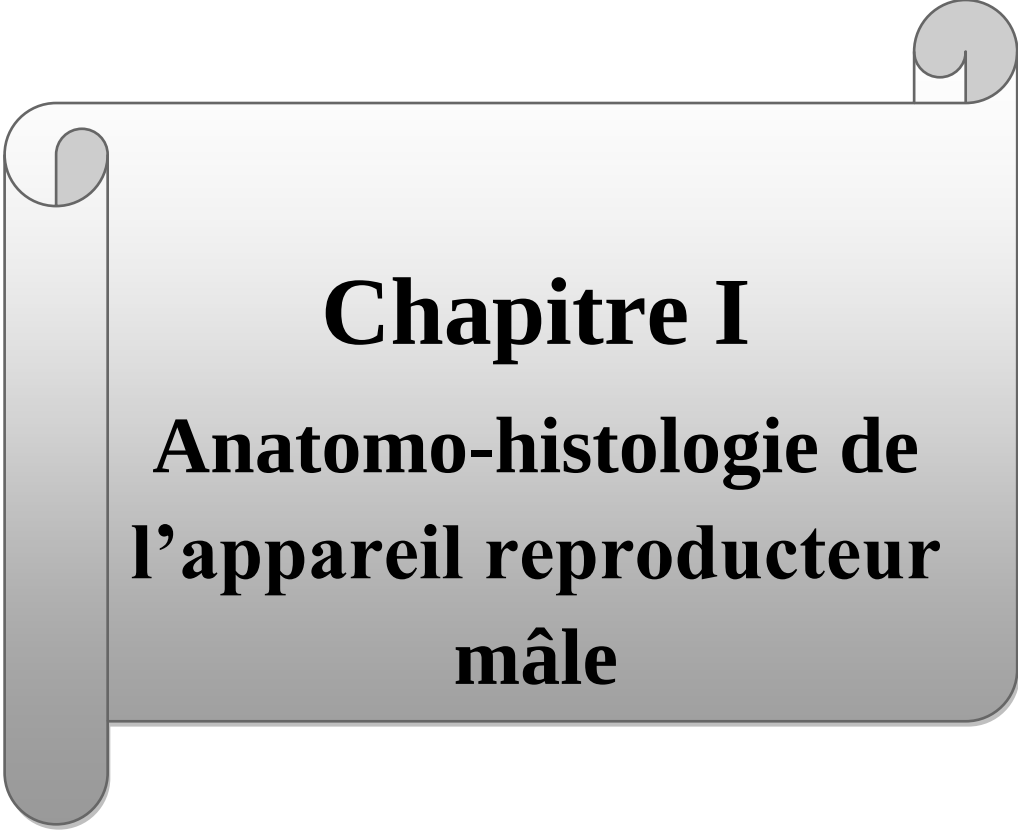
Le testicule est constitué principalement de tubes séminifères où se déroulent la spermatogenèse et de tissu interstitiel riche en cellules de Leydig. Cette dernière synthétise et libère les androgènes, principalement la testostérone, jouant un rôle dans le maintien de la spermatogenèse (Curtis et Amann, 1981 ; Eurell et Frappier, 2006).

Cependant les processus de reproduction chez le lapin peuvent être influencés par plusieurs paramètres tel que l'environnement, les conditions d'élevages, ainsi par plusieurs substances tel que les huiles essentielles. En effet, les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-oestrogène 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).

De ce fait l'objectif de notre travail est de déterminer les effets des huiles essentielles Sauge officinal, Romarinus officinal, menthe poivrée à deux doses différentes (100-200 µl/kg/pc) sur le développement des gonades mâles (testicule) et la fertilité des lapins prépubère (3 mois).

Pour mieux cerner l'objectif dans lequel s'inscrit ce sujet de mémoire, nous avons subdivisé notre travail en quatre chapitres principaux, le premier fait référence à une étude bibliographique sur l'appareil reproducteur mâle du lapin, le deuxième présente la physiologie

de la reproduction , le troisième est consacrée pour l'étude expérimentale au cours de laquelle a été testé certain huiles essentielles afin d'apprécier leur efficacité chez les lapins, le quatrième chapitre présentera les résultats obtenus lors de notre expérimentation et leur discussion, en fin le tout étant clôturé par une conclusion globale ainsi qu'un ensemble de perspectives.

A decorative graphic of a scroll with a light gray gradient and a dark gray border. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the unrolled portion.

Chapitre I

Anatomo-histologie de l'appareil reproducteur mâle

Contrairement aux reptiles et aux oiseaux, les mammifères présentent des organes génitaux externes dotés d'un scrotum (bourse contenant les testicules) et du pénis chez les mâles et d'une vulve chez les femelles. Ce dimorphisme sexuel est utilisé pour une distinction visuelle entre les mâles et les femelles.

L'appareil génital mâle se met en place très tôt durant l'embryogenèse, il tire son origine des structures primitives des tubules et canaux rénaux à l'exception des lobules testiculaires (Barone, 1976). Chez le mâle les gonades comportent les testicules et l'épididyme, les testicules remplissent une double fonction à savoir la gamétogenèse (produisent les gamètes mâles ou spermatozoïdes) et la sécrétion des hormones sexuelles (principale source de testostérone) (Castro *et al.*, 2002). L'épididyme est la voies extra-testiculaire qui reçoit les spermatozoïdes immatures, assure leur maturation et les maintient en survie jusqu'à leur libération dans un éjaculat.

Chez le lapin, le système reproducteur est doté d'une capacité supplémentaire par rapport aux autres mammifères, c'est le pouvoir de rétracter le testicule dans l'abdomen (Sabbagh, 1983).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du lapin

Le terme « appareil génital mâle » désigne tous les organes et structures qui participent à la formation, la maturation et l'émission sous pression des différents constituants du sperme. Il comporte 4 grandes portions la portion glandulaire (les testicules), la portion tubulaire (l'épididyme, canal déférent et l'urètre), la portion copulatrice (pénis) et les glandes annexées (Figure 1) (Barone, 1976).

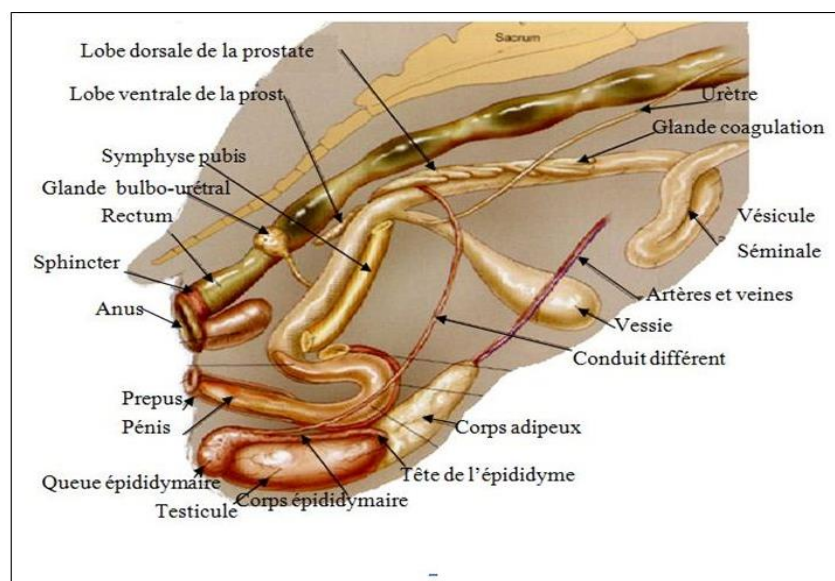


Figure 1 : Appareil génitale mâle in situ du lapin (Thomas *et al.*, 2008)

1.1 Anatomie la portion glandulaire : Testicule

Les testicules se développent dans la paroi dorsale de la cavité péritonéale et restent à l'intérieur jusqu'à l'âge de trois mois chez le lapin, puis migrent vers le canal inguinal pour se loger dans le scrotum. Cette position extra-abdominale conditionne la réussite de la spermatogenèse (Van Praag, 2002).

Les testicules se présentent comme deux glandes ovales et allongées de couleur rosée, logées dans l'enveloppe testiculaire (Barone, 1984). Ils mesurent 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et pèsent 1 à 2g chez le lapin adulte (Barone, 2001). Ils sont entourés par une charpente fibreuse densifiée sous la séreuse en une épaisse albuginée et un tissu propre qui se prolonge par des cloisons internes délimitant des lobules testiculaires (Figure 2).

Selon Barone (1984), les testicules présentent :

- ✓ Deux faces : une face latérale et une face médiale lisses et arrondies.
- ✓ Deux bords : un bord libre, convexe et lisse et un bord épididymaire moins convexe et un peu plus court sur lequel est annexé l'épididyme.
- ✓ Deux extrémités : une extrémité capitée en continuité avec la tête de l'épididyme, une extrémité caudée s'unit à la queue de l'épididyme par le ligament du testicule.

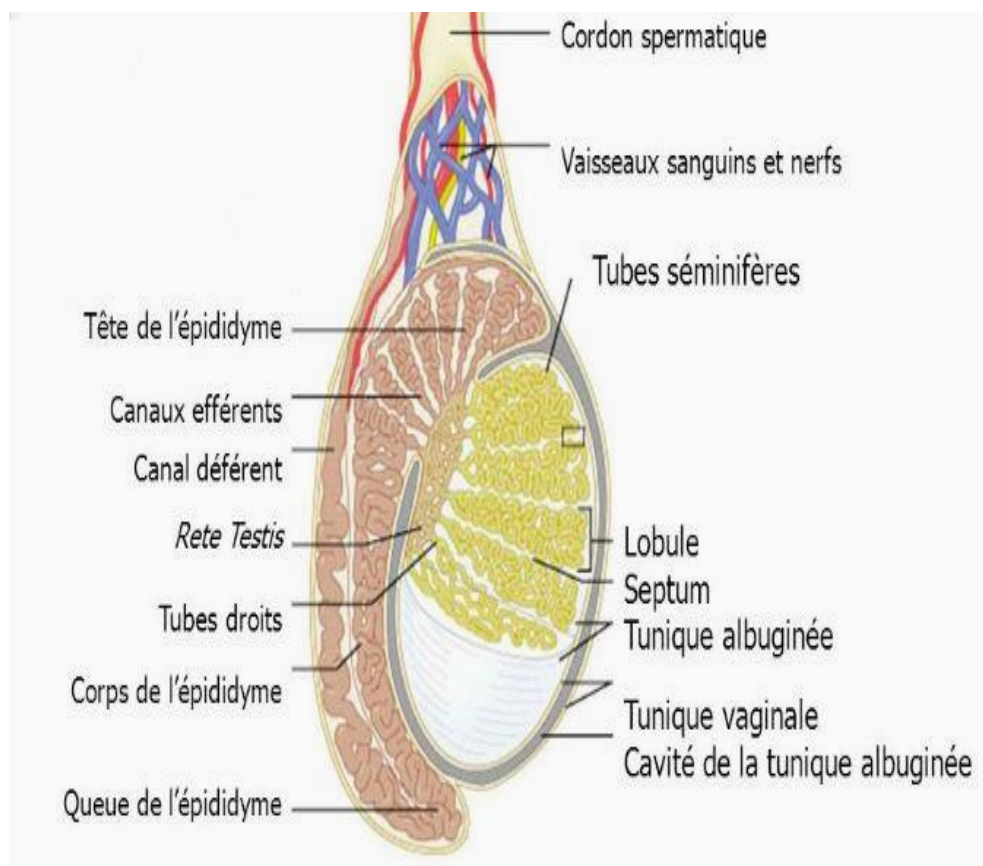


Figure 2: Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins (Jacques et *al.*, 1997).

Les testicules peuvent monter dans la cavité abdominale en raison de l'absence de fermeture du canal inguinale lors de frayeur ou lors de combat avec d'autres mâles. Ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire dénommé le crémaster (Boussit, 1989 ; Barone, 2001).

1.1.1 Enveloppes testiculaires

Les enveloppes testiculaires 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) (Figure3) (Barone, 2001).

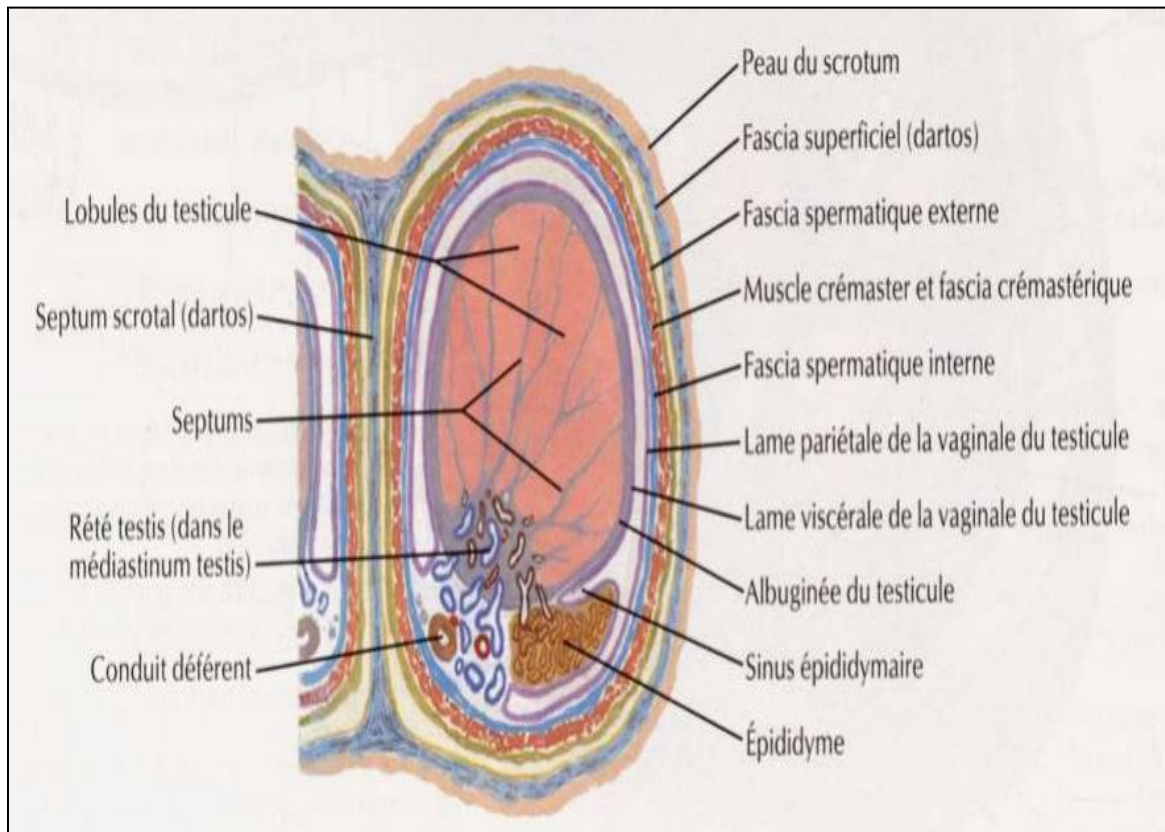


Figure 3: Coupe transversale du testicule montrant les enveloppes testiculaires (Perrin, 1992).

1.1.2 Vascularisation et Innervation

Le système testiculaire est vascularisé et drainé par un complexe d'artères et de veines qui assurent l'approvisionnement sanguin. Il s'agit de l'artère testiculaire, les veines testiculaires et épидидymaires (Figure 4).

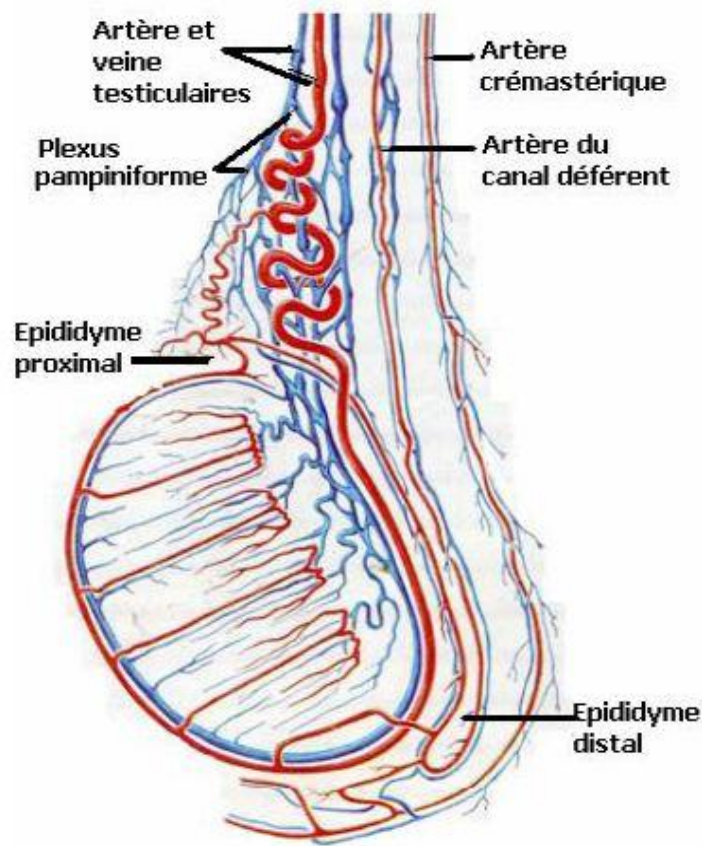


Figure 4: Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy, 1991).

1.1.2.1 Artère testiculaire

L'artère testiculaire issue de l'aorte abdominale, pénètre dans l'organe par son pôle apical, se ramifie dans l'albuginée, le mediastinum testis et les cloisons inter lobulaires assurant ainsi l'irrigation du testicule. À l'entrée du canal inguinal, elle se fléchit en amples boucles tout au long du cordon spermatique, s'entremêlant avec un plexus veineux. Cette disposition est dite cône vasculaire dont la base repose sur le testicule, à la surface testiculaire l'artère spermatique se divise en branches qui pénètrent en profondeur pour former un réseau capillaire très riche (Barone, 1978).

1.1.2.2 Veines testiculaires

Le testicule est drainé par un ensemble de veines situées sous l'albuginée : la veine testiculaire droite rejoint généralement la veine cave inférieure, la veine testiculaire gauche, contrairement à la droite, rejoint la veine rénale gauche. Les veines en provenance de la tête épидидymaire, s'engage ainsi dans le cône vasculaire en se divisant en un réseau complexe :

c'est le plexus panpiforme. Ce réseau enserre étroitement les circonvolutions de l'artère spermatique et est à l'origine du refroidissement du sang arrivant au testicule.

A l'extrémité du cône vasculaire, la veine testiculaire draine l'ensemble des veines du cordon spermatique (Barone, 1978).

1.1.2.3 Vaisseaux lymphatiques

De nombreuses fentes lymphatiques naissent dans les lobules et sont drainées par les vaisseaux lymphatiques des cloisons d'une part vers le médiastinum testis, d'autre part vers l'albuginée où le réseau devient plus net.

2.1.2.4 Innervation du testicule

L'innervation du testicule Provient du plexus mésentérique caudal. Le scrotum, la tunique vaginale et le crémaster sont innervées indépendamment à partir du plexus lombosacré (Montane et Bordelle, 1978).

Les terminaisons nerveuses adrénergiques innervent les muscles lisses de la gaine péri tubulaire et les vaisseaux dont elles contrôlent la vasomotricité. Le tractus nerveux testiculaire contient des fibres afférentes sensibles, impliquées dans la perception de la douleur suite à des traumatismes testiculaires (Thibault et Levasseur, 2001)

1.2 Anatomie de la portion tubulaire

La portion tubulaires renferme trois principaux constituant qui sont : l'épididyme qui permet le transport et la maturation des spermatozoïdes, canal défèrent qui a pour rôle le drainage des spermatozoïdes et l'urètre.

1.2.1 Epididyme

L'épididyme est l'un des composants majeur du système d'excrétion (Klinfelter, 2002), situé sur la face postérieure du testicule. Il relie les canaux efférents au canal défèrent .C'est un long canal extrêmement replié sur lui-même à l'intérieure d'une tunique conjonctive, sa longueur varie selon les espèces, elle est de 1,5 à 3 m chez le lapin (Figure 5) (Barone, 1978).

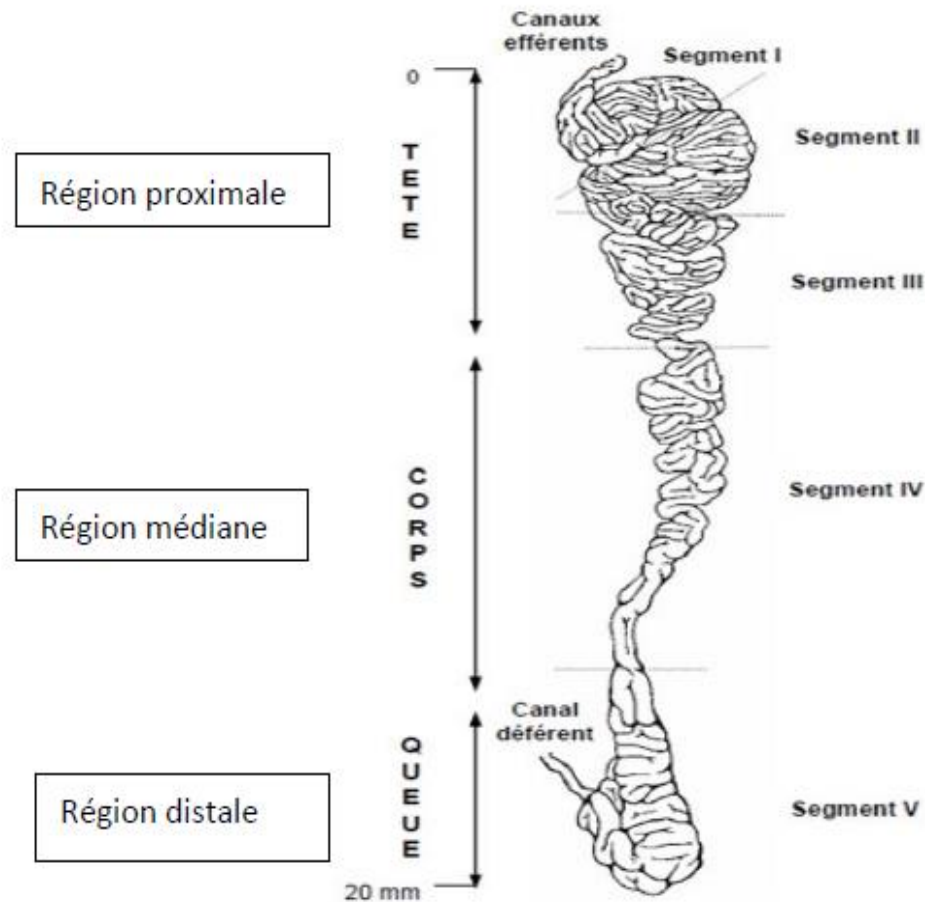


Figure 5: Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).

Selon Barone (1978), ce tube très contourné qui forme des lobules séparés par des travées conjonctives présente trois grandes parties anatomiques : la tête, le corps et la queue :

- Une tête (région proximale) volumineuse, qui coiffe largement le pôle antérieure du testicule.
- Un corps (région médiane) représentant la portion moyenne, accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure ; il est épais chez le lapin ;
- Une queue (région distale), bien détachée qui forme un appendice globuleux et mobile. C'est le lieu de stockage des spermatozoïdes (Boussit, 1989)

En fonction de leurs sécrétions et leurs activités enzymatiques (Hinton et Turner, 1988) ces parties sont également subdivisées en plusieurs segments (cinq segments, I, II, III,

IV-VI) (Abe *et al.*, 1983 ; Abou Haila et Faun Maurel, 1984 ; Johnston *et al.*, 2005), et chaque segment est délimité par des cloisons conjonctives (Thibault et Levasseur, 2001).

1.2.2 Canal déférent

Le canal déférent mesure 12 à 15 cm de longueur chez le lapin (Barone, 2001), relativement épais ; Il fait suite à la queue de l'épididyme, permettant ainsi d'acheminer les spermatozoïdes vers l'urètre. Le conduit déférent, présente une ampoule assez nette, de 2 cm environ qui s'ouvre dans la partie caudale de la vésicule séminale par un orifice assez large et impair porté le *colliculus seminalis*. C'est par l'intermédiaire de ce bref conduit que se fait la communication avec l'urètre (Barone, 1978).

1.2.3 Urètre

L'urètre est un conduit long de 12 à 13 cm, dont 8 à 9 cm seulement pour la partie spongieuse (pénienne) servant à la fois à l'évacuation de l'urine lors de la miction et du sperme lors de l'éjaculation (Nguyen et Ferry, 2007). Il part de la vessie et tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité (Barone, 2001).

1.3 Portion copulatrice (Pénis)

Le lapin est une espèce à pénis rétrofléchi qui est logé dans le prépuce et dirigé vers l'arrière au repos, mais se porte vers l'avant lors de l'érection (Lebas, 2010). C'est un organe court, en forme de tube légèrement en pointe, dépourvu de glande et mesure 3 à 5 cm (Dominique, 1989). Il est composé de racine, corps, et gland (Gallup *et al.*, 2003 ; Gallup, 2004).

Le pénis du lapin est suspendu par un ligament suspenseur : le ligament suspenseur du pénis qui est doublé par une paire de forts muscles subischio-caverneux qui n'existent chez aucune autre espèce domestique (Barone, 1978).

1.4 Glandes annexées

Plusieurs types de glandes sont associés au tractus génital mâle, celle du lapin se distinguent entre autres par leur nombre, leur emplacement, leur taille et leur proportion, comme chez d'autre mammifère (Vasquez et Delsol, 2009). Cet ensemble de glandes se compose d'une vésiculaire séminale, d'une glande bulbo-urétrale et d'un complexe formé par la prostate, la pro -prostate et para- prostate (Holtw et Foote, 1978 ; Vasquez et Del, 2009).

L'ensemble de sécrétion des glandes annexes constitue le liquide spermatique lequel mélangé aux spermatozoïdes, constitue le sperme (Tortora *et al.*, 1995).

1.4.1 Vésicule séminale

La vésicule séminale est un organe paire, allongés et ovoïde, elle a une surface irrégulièrement lobulée et une longueur d'environ 2,5 cm avec un aspect ajouré (Abraham et Kierszenbaum, 2002 ; Welsch, 2002), placée entre le rectum et la vessie (Roger, 2002). Leur extrémité crâniale est libre, tandis que leur extrémité postérieure est étirée et se termine par un canal excréteur. Ce dernier fusionne en partie avec celui du conduit défèrent constituant ainsi le conduit éjaculateur qui débouche dans l'urètre (Barone, 1978).

1.4.2 Glande vésiculaire (pro prostate)

La glande vésiculaire est une glande exocrine de forme ovale, relativement volumineuse, bilobée et sa couleur blanchâtre, située dorsale par rapport à l'urètre (portion antérieure) et la vésicule séminale (Holtz et Foote, 1978). Contribue à 45,6 % du volume de l'éjaculat des lapins (Del Nino Jesus *et al.*, 1997).

1.4.3 Glande prostatique

La glande prostatique est la principale glande accessoire de l'appareil génital mâle constitué de deux lobes : antérieur et postérieur, elle est oblongue et volumineuse, de couleur blanc jaunâtre. Située directement sous la vessie elle entoure la partie supérieure de l'urètre (Lesson et Lesson, 1976 ; Dadoune *et al.*, 2000 et Marieb, 2008).

1.4.4 Glandes para prostatiques

Les glandes para prostatiques sont plus petite, arrondies situées ventralement à la prostate. Elles débouchent dans l'urètre par un nombre variable de petits conduits (Barone, 2001). Tous les lapins mâle ont au moins une paire de glande para prostatique (Holtz et Foote, 1978).

1.4.5 Glandes bulbo-urétrales bilobées ou glandes de Cowper

Ce sont des formations sphériques paires, bilobées, entourées par un corpuscule conjonctif (Roger, 2002), elles sont placées postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elles s'ouvrent par au moins 4 canaux (Sabbagh, 1983). Elles couvrent toute la partie caudale de l'urètre pelvien et leurs extrémités crâiales entrent en contact avec la prostate (Barone, 2001).

2. Histologie du testicule

Le testicule est revêtu par deux tuniques, une tunique superficielle qui est la vaginale dérivant du feuillet péritonéale et l'autre tunique appelée albuginée, blanche, fibreuse, épaisse et résistante parcourue par les vaisseaux situés dans la région postérieure (Muller et Clos, 1997 ; Siffroi, 2001).

L'albuginée s'épaissit au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le *rete testis* qui est ensuite drainé par des canaux efférents en communication avec la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993).

2.1. Structure interne du testicule

Selon Vacheret (1999) et Siffroi (2001), des cloisons conjonctives partent du corps d'Highmore pour constituer des *septa testis* délimitant 200 à 300 lobules intra-testiculaire. Chaque lobule contient 2 à 3 tubes séminifères long débouchant dans le *rete-testis* par de courts segments rectilignes appelé les tubes droits (Figure 6) (Vacheret, 1999).

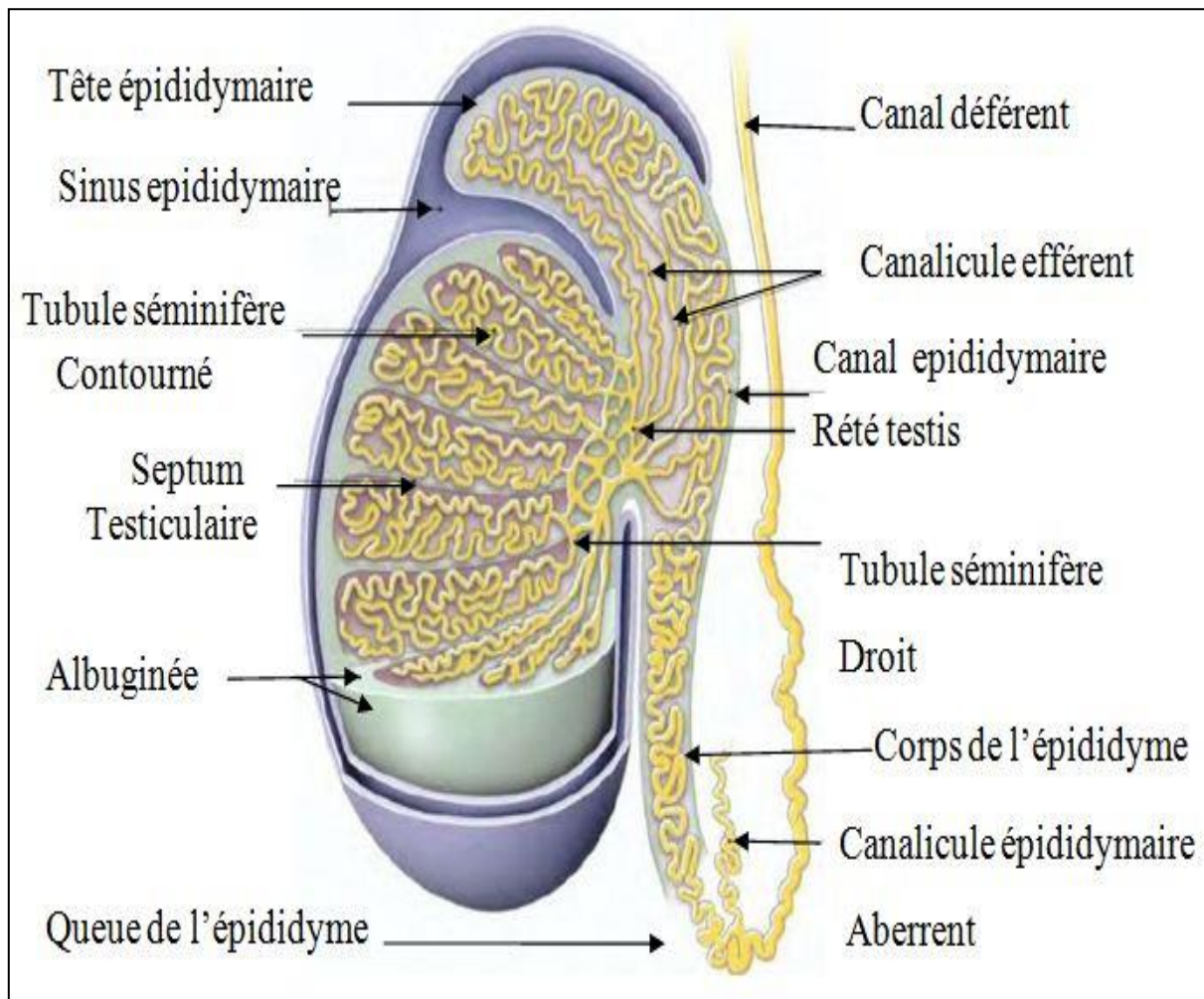


Figure 6: Coupe longitudinale du testicule (Tortora et *al.*, 2007)

2.2. Tubes séminifères

Les tubes séminifères sont l'unité fonctionnelle du testicule, long, flexueux mesurant 30 cm à 1m de longueur pour un diamètre de 300 à 400 μm , peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin (Alvarino, 1993).

Le tube séminifère est limité par une gaine péri-tubulaire mince appelée membrane propre du tube séminifère ou membrane *propria*, elle est formée de lame basale, de fibroblastes et de fibre de collagène (Figure 7).

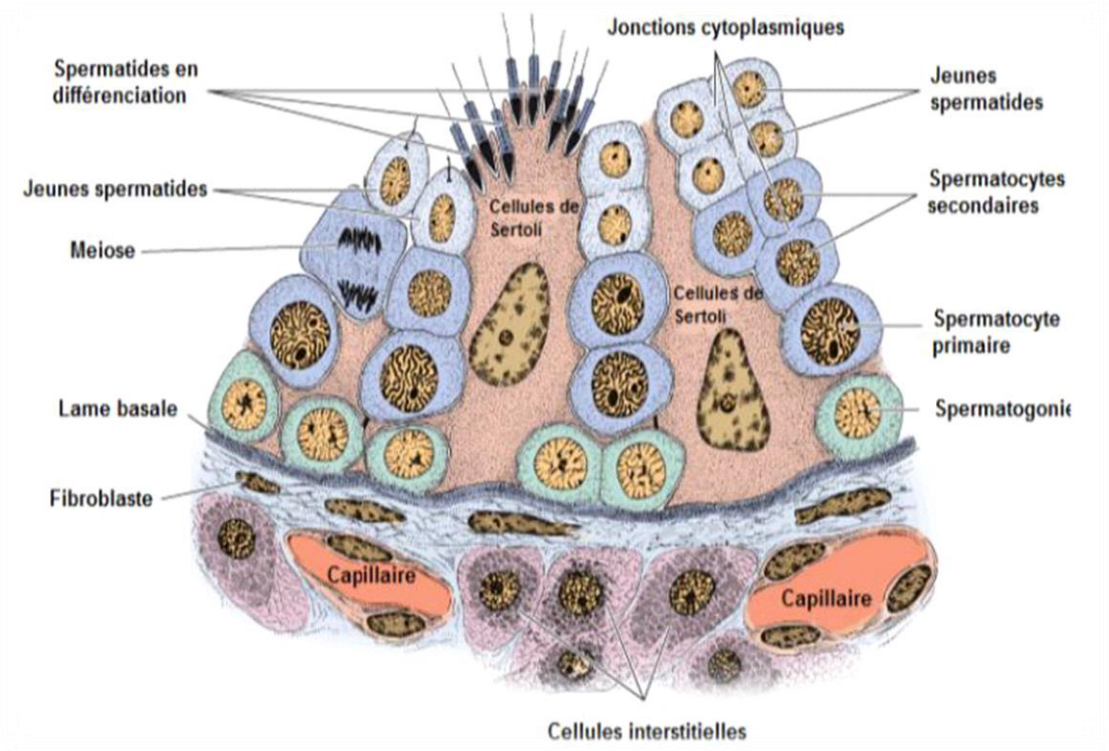


Figure 7 : Détail d'une portion de tubule séminifère du lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).

L'association de cellules germinales à différents stades de développement, et les cellules somatiques avec les cellules de Sertoli forment l'épithélium séminifère (Dadoun et Démolin, 1991 ; Brenan, 2003 ; Jeay-Ward *et al.*, 2003). Cet épithélium repose sur la lame basale du tube séminifère qui est constituée de tissu conjonctif et d'une fine couche des cellules appelée cellules myoïdes péritubulaires (Maekawa *et al.*, 1996) qui sont des cellules contractiles participant à la propulsion et l'évacuation des spermatozoïdes qui ne sont pas mobiles dans le testicule.

2.2.1 Cellule de Sertoli

Les cellules de Sertoli assurent le soutien, la protection et la nutrition des cellules germinales (Wrobell, 1990) qui s'intercale entre les cellules de Sertoli, sont pyramidales et allongées., leur base repose sur la lame basale. Elles possèdent un noyau allongé ou polygonal de 9 à 12µm de longueur (Raymond, 1988; Dadoune et *al*, 1990).

Chaque cellule de Sertoli est connectée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées disposées au pôle basal constituent la composante structurale essentielle de la barrière

hémato-testiculaire et limitent deux compartiments, un compartiment basal et un compartiment central ou adjacent à la lumière (Figure 8).

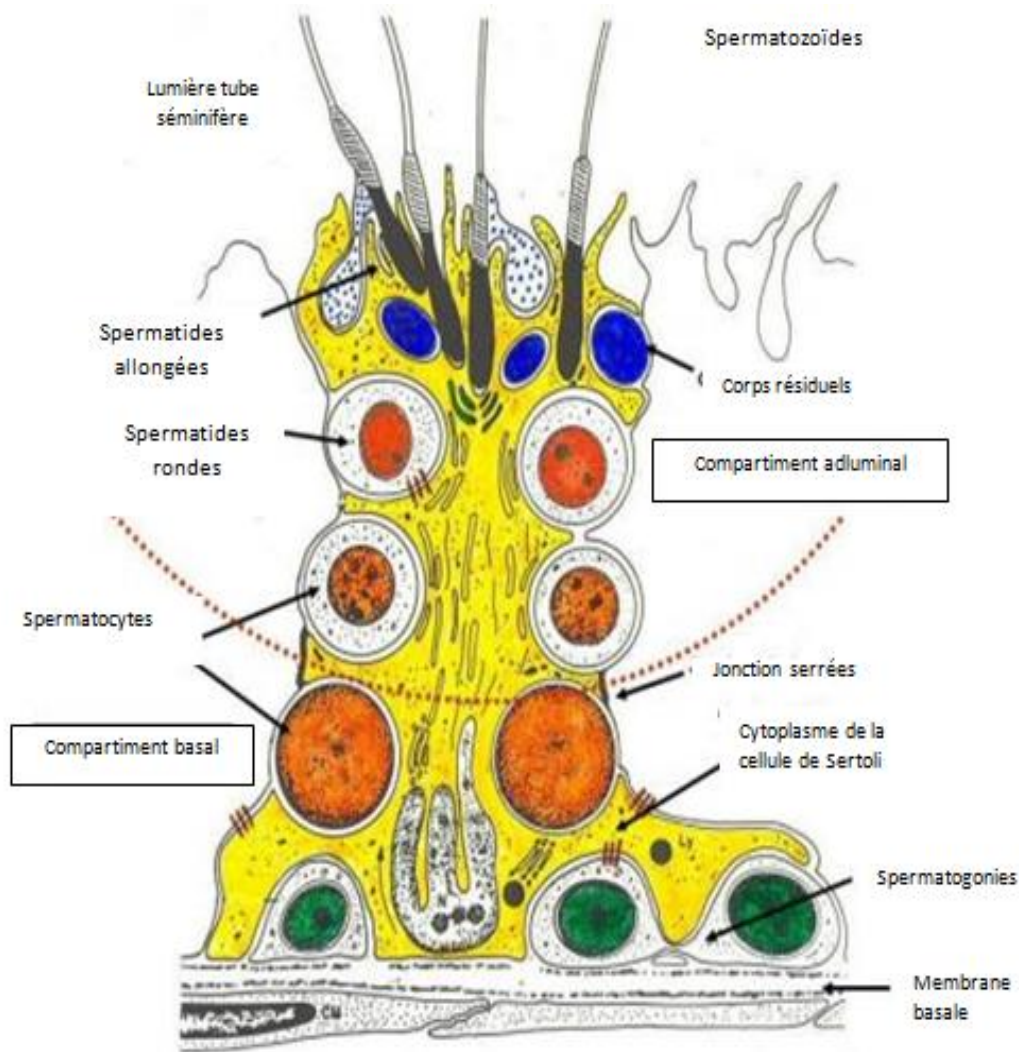


Figure 8 : Schéma de l'ultra structure de la cellule de Sertoli (Fawcett, 1975).

2.2.2 Cellules germinales

Les cellules de la lignée germinale sont à l'origine de la formation des cellules reproductrices ou gamètes appelé spermatozoïdes en passant par différentes étapes de la spermatogenèse. Elles sont disposées en couche superposées qui s'étendent de la membrane basale à la lumière.

En effet tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises superposées au niveau de l'épithélium séminifère, à savoir; les spermatogonies (Sg); les spermatocytes de première ordre (SPI); spermatocyte II (SPII); les spermatides et spermatozoïdes (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.2.2.1 Spermatogonie

Les spermatogonies du lapin, comme celles de tous les mammifères sont petites arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 μm de diamètre, adhérentes à une membrane basale (Figure 9).

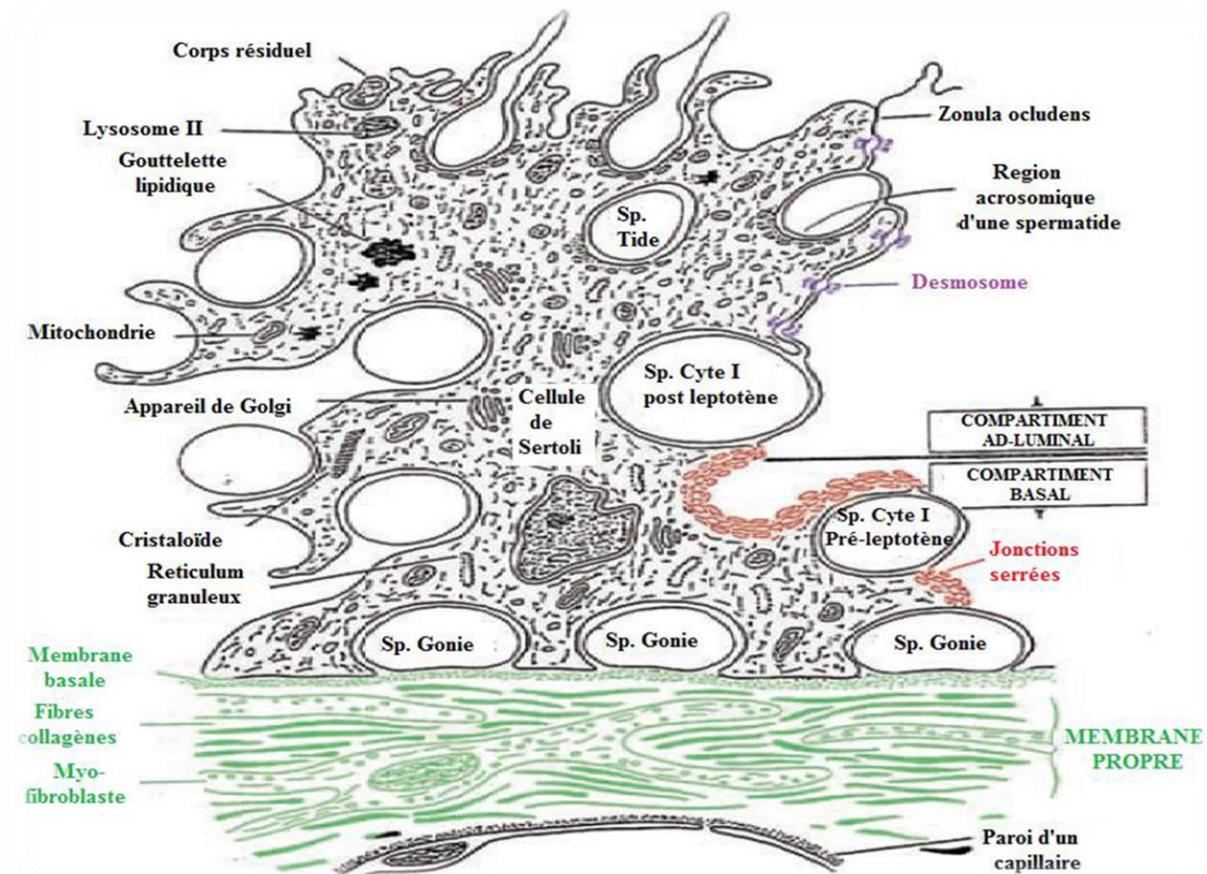


Figure 9: Structure de la cellule de Sertoli et l'organisation des cellules germinales

(Russell et Griswold, 1993).

On distingue deux catégories principales de spermatogonies selon l'aspect de leurs noyaux : les spermatogonies de type A (Sp A) et les spermatogonies de type B (Sp B) (Fawcett et Brgos, 1956).

Les spermatogonies de type A sont caractérisées par un noyau condensé et se subdivisent en deux sous-types par mitoses dont celles qui possèdent un noyau sombre avec des nucléoles périphériques et des vacuoles nucléaires dites spermatogonies Ad (dark) et celles qui présentent des noyaux pâles, des nucléoles centraux et sans vacuoles nucléaires dites spermatogonie Ap (pâle).

Les spermatogonies Ad subissent une division asymétrique, pour donner une cellule Ap et une cellule Ad, assurant ainsi l'auto renouvellement de la population souche du tube séminifère tandis que les spermatogonies Ap se divisent et donne des spermatogonies de type B.

Les spermatogonies de type B ont un noyau à chromatine condensée en périphérie qui subit une division mitotique et donnent des spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.2.2.2 Spermatocytes

Selon Marthin et *al.* (2001), deux types de spermatocytes sont produits au cours de l'activité spermatique qui sont le spermatocyte de 1^{er} ordre et le spermatocyte de 2^{ème} ordre. Les spermatocytes I situés dans le compartiment basal du tube séminifère sont diploïdes, reconnaissables par leur cytoplasme abondant et leur noyau volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments et (Baunne, 2009). Puis les spermatocytes I se transforment par la division méiotique en spermatocyte II haploïde, ce sont des cellules rondes plus petites et d'existence fugace (moins de 24 heures) qui terminent rapidement la deuxième division de la méiose et engendrent des cellules à n chromosomes, les spermatides (Wheater et *al.*, 2001).

2.2.2.3 Spermatides

Les spermatides sont nombreux et localisés à proximité de la lumière des tubes séminifères (Junqueira et Carneiro, 2007), sont des cellules haploïdes de petites tailles, ovoïdes à noyau rond et clair (Dadoue et *al.*, 1990). Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde par processus appelé spermiogénèse (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.2.2.4 Spermatozoïdes

Les spermatozoïdes sont de très petites cellules allongées de 55 à 57 μm de diamètre chez le lapin (Barone, 2001), disposés en bouquet à l'apex des cellules de Sertoli, dotés d'une motilité flagellaire et d'une forme filiforme constitués de trois parties distinctes, la tête, le col et la queue (flagelle) (Figure 10).

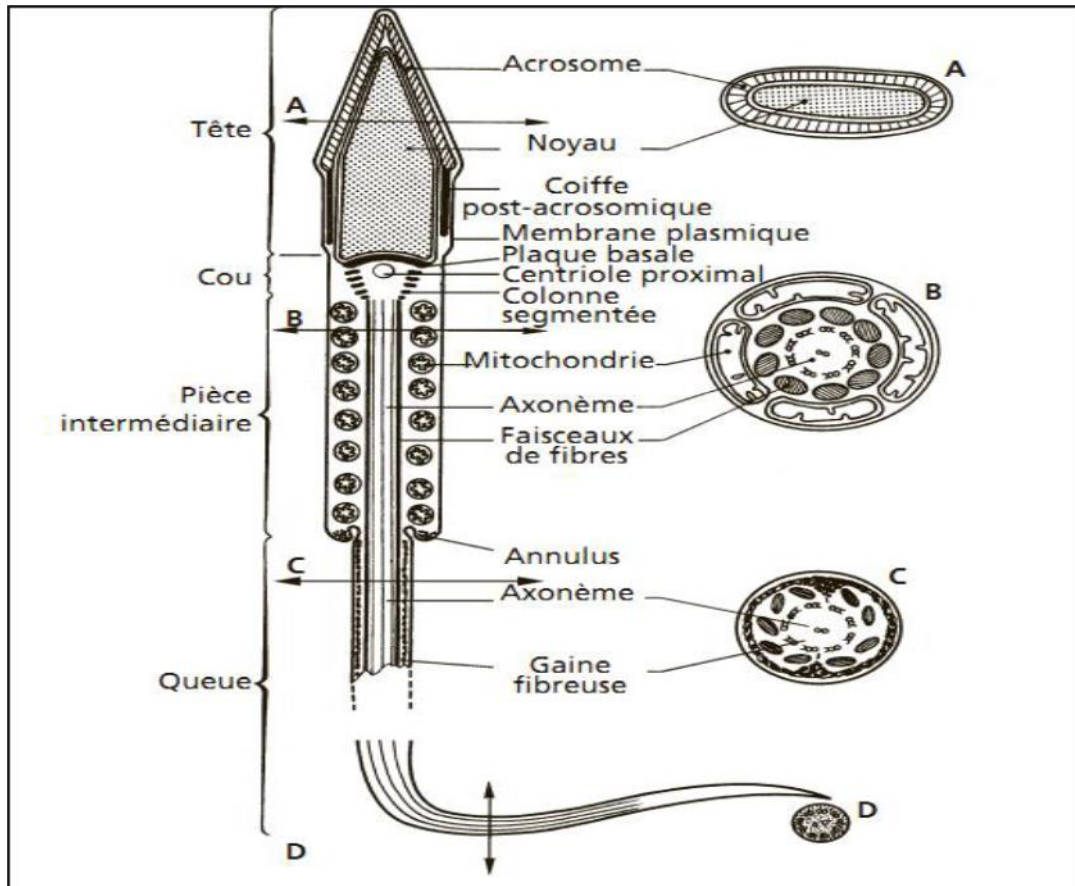


Figure 10: Schéma de spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucrier, 2009).

Chez le lapin la tête du spermatozoïde est piriforme et rétrécie caudalement est ovoïde formée par un noyau coiffée par l'acrosome mesure environ 6,5 μm de longueur sur 4 μm de largeur (Robert et Vincent, 1995).

Le col ou pièce d'union est constitué d'une partie cytoplasmique et d'une pièce intermédiaire. La partie cytoplasmique représente le segment initiale qui unit la tête à la queue, elle est rétrécie et très courte de 2 à 3 μm , et la pièce intermédiaire renferme la majorité des mitochondries de la cellule qui servent à la production d'énergie nécessaire aux mouvements.

Tandis que le flagelle est l'organe moteur responsable au déplacement du spermatozoïde.

2.3. Tissu interstitiel

La fonction endocrine du testicule est assurée par son tissu interstitiel dans lequel se trouve les cellules de l'interstitiel en amas appelé cellules de Leydig, cellules libres

(fibroblastes, macrophages ou encore lymphocytes) (Wobel, 1990), et de vaisseaux sanguins ainsi que des terminaisons nerveuses.

La quantité du tissu interstitiel varie selon l'espèce elle représente environ 10% du tissu testiculaire chez le chien et cobaye et 25% à 50% chez l'homme et 40% chez le verrat (Dadoune et Demaulin, 2001).

2.3.1. Cellules de Leydig

Cellules polyédriques de 15 à 20µm situées dans l'espace entre les tubes séminifères isolées ou groupées en amas autour des capillaires sanguins et lymphatiques elles sont de 15 à 20 µm de diamètre. Ces cellules possèdent un noyau rond, parfois double, dont la chromatine est peu abondante et périphérique, ainsi qu'un nucléole volumineux et un cytoplasme dense et riche en REL qui sécrète des stéroïdes (Dadoune et Demoulin, 2001), l'ensemble de ces cellules forme la glande interstitielle (Abraham et Kierszerbaum, 2006)

Les cellules de Leydig renferment plusieurs types de jonctions sur leur membrane plasmiques qui peuvent être de type GAP, desmosome et plus rarement des jonctions septées (Dadoune et Demoulin, 2001).

3. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend une lumière bordée par un épithélium (Robaire et *al.*, 2006) pseudostratifié reposant sur un chorion de tissu conjonctif richement innervé et vascularisé entouré de 2 à 6 couches de fibre musculaires lisses .

Cet épithélium est constitué de 7 types cellulaires, les cellules principales, basales , en halos étroites, apicales, claires, et principales (Figure 11), qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Robaire et *al.*,2006 ; Cornwall,2009 ; Shum et *al.*,2011).

3.1. Cellules principales

Les cellules principales appelées encore cellules stéréociliées sont les plus nombreuses et constituent 65-80 % de la population de cellules épithéliales épидидymaire totale.

Selon Hermo et Robaire (2002). Ces cellules présentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre de l'épididyme, elles sont reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes (Figure12). En effet, leur hauteur est plus élevée dans la tête que

dans la queue, tout comme la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôles apical (Ramos et Dym, 1977 ; Flickinger et *al.*, 1978 ; Jones et *al.*, 1979).

Les cellules principales appartiennent à la classe de cellule « sécrétrices de constitution » (Moore et Kelly, 1985) et assure plusieurs fonction tels que le transport et la sécrétion de petites molécules organique, la synthèse et sécrétion de protéines, la réabsorption du fluide épидидymite (Robaire et Hermo, 1988 ; Robaire et Viger, 1995 ; Cooper, 1998).

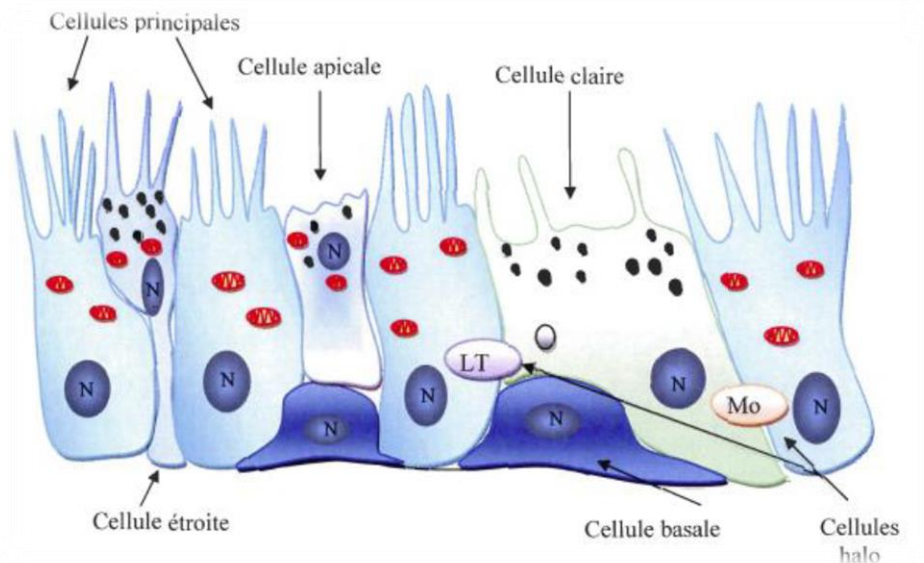


Figure 11: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouad, 2009)

N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte.

3.2. Cellules basales

Les cellules basales représentent 10 à 20 % de l'ensemble des cellules épидидymaires selon les segments, elles sont situées sur la membrane basale de l'épithélium, formant un réseau en dessous des cellules principales et peuvent être en contact avec la lumière du tubule épидидymaire par des prolongements cytoplasmiques. Ces cellules sont petites allongées avec un noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites (Figure 11) (Soranzo et *al.*, 1982).

D'après Veri et *al.*, (1993), Cooper (1998) et Seiler et *al.*, (2000) ces cellules jouent un rôle de protecteur contre les radicaux libres et assurent une protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle « la barrière hémato-épидидymaire » (Seiler et *al.*, 2000).

3.3. Cellules claires

Les cellules claires sont des grandes cellules prismatiques, présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo *et al.*, 1982) jouant un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire (Olson et Hinton, 1985).

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).

Selon Girod et Czyba (1977), deux catégories de ces cellules ont pu être individualisées :

- ✚ Des cellules claires chargées de phospholipides : elle représente 20% des cellules de l'épithélium épидидymaire, dans la région de la tête de l'épididyme
- ✚ Des cellules claires dépourvues d'enclaves lipidiques abondantes dans la queue de l'épididyme et correspondant à des cellules mucigènes.

3.4. Cellules en halo

Les cellules en halo situées à la base de l'épithélium épидидymaire sont rondes, de petites tailles avec un cytoplasme réduit contenant un nombre variable de granules denses et présentent tout au long de l'épididyme.

Elles sont identifiées comme étant des lymphocytes intra-épithéliales ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natalet elles contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Hoffer *et al.*, 1973 ; Hermo et Robaire, 2002).

3.5. Cellules apicales

Les cellules apicales retrouvées principalement dans le premier segment de l'épididyme (la partie proximale de la tête) présentent un noyau en position apicale et des microvillosités courtes et peu nombreuses.

Il semble qu'elles ne traversent pas toujours l'épithélium et certaines d'entre elles ne sont pas en contact avec la membrane basale. En revanche ces cellules ont un cytoplasme dense, très riches en mitochondries, et en lysosomes et en anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H^+ et la réabsorption des bicarbonates (HCO_3^-). Elles sont impliquées dans l'endocytose des substances contenues dans la lumière (Adamali *et al.*, 1999) et dans l'acidification du fluide épидидymaire (Martínez-García *et al.*, 1995)

3.6. Cellules étroites

Les cellules étroites se retrouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme, elles sont pourvues d'un noyau allongé en position apicale et se prolongent entre les cellules principales pour atteindre la région basale de l'épithélium épididymaire, ce qu'ils leur confèrent un aspect en calice. Leur cytoplasme est riche en vacuole, vésicules endocytique, lysosome et mitochondrie et leur membrane apicale émet des villosité courte, épaisse et irrégulière (Figure12) (Hermo et *al.*, 2000).

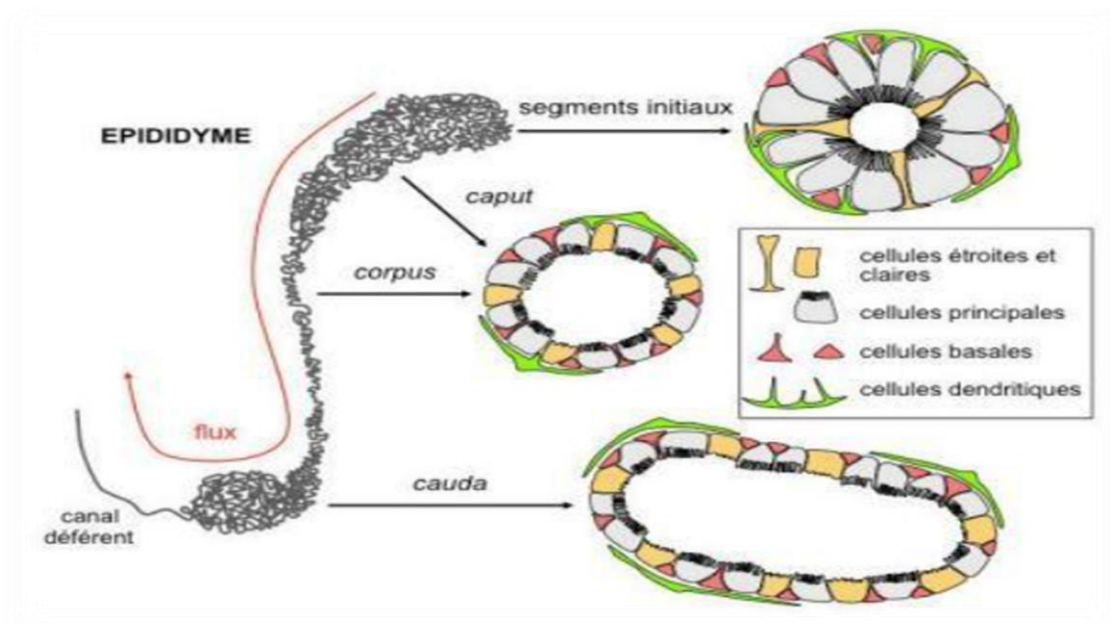
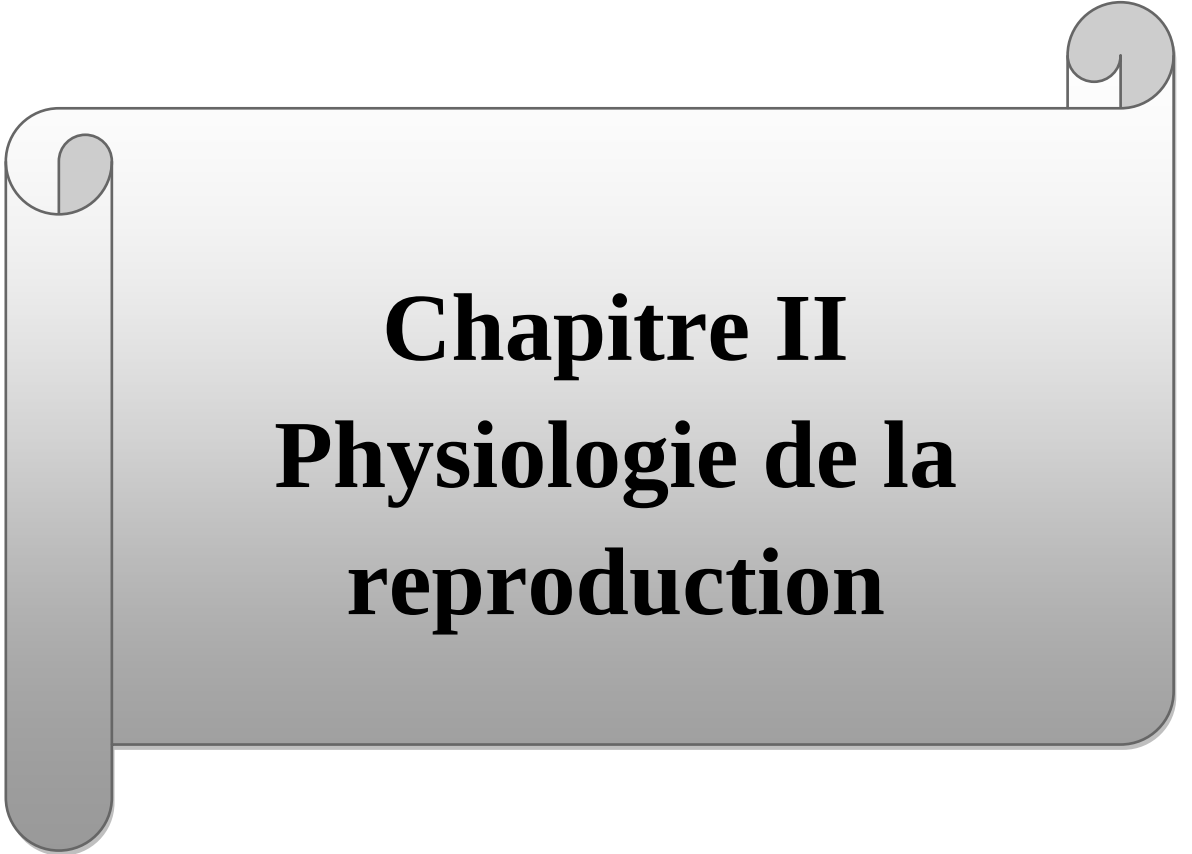


Figure 12 : schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épididymaires (Breton et Da Silva, 2012).

3.7. Lumière du canal épididymaire

Les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière circulaire où ils baignent dans un milieu de nature très complexe appelé le fluide épididymaire, 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 épididymaire varie tout le long du canal (Adamali et *al.*, 1999 ; Hermo et Robaire, 2002 ; Barone, 2001).



Chapitre II

Physiologie de la reproduction

Les mécanismes régulant la fonction de la reproduction chez les lapins sont complexes et constitue l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui de système neuroendocrinien qui comprend l'axe hypothalamo-hypophysaires et gonadique (Joly et Theau-Clément, 2000).

La physiologie de la reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères. Au niveau testiculaire s'effectue le processus physiologique de la production de gamètes appelé la spermatogenèse, tandis que la maturation des spermatozoïdes et leur transit extra-testiculaire, s'accomplira au niveau de l'épididyme (Alvariño, 2000).

1. Développement des gonades

La différenciation des organes sexuels mâle se déroule pendant la vie fœtale (Alvariño, 2000) qui dépend de l'activité endocrinienne du testicule sécrétant activement deux hormones essentielles, les androgènes et l'hormone antimüllérienne (HAM ou MIS : Müllerian inhibitory substance), dont l'absence induira à une différenciation sexuelle féminine (Mitchell et Sharma, 2005).

En effet l'albuginée se forme aux alentours du 14^{ème} et 15^{ème} jour de gestation, quelques jours plus tard se forme les tubes séminifères entourés de cellules germinales qui se multiplient entre le 10^{ème} et le 26^{ème} jour de gestation, tandis que la production d'androgènes se fait au 19^{ème} jour de gestation.

A partir du 20^{ème} jour de gestation la prostate commence à se développer, les canaux de Müller régressent et les canaux de Wolff se stabilisent sous l'effet de la testostérone. Au 24^{ème} jour de gestation le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis (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 (Alvariño, 1993).

Les hormones, testostérone, FSH, LH sont secrètes avant la naissance puis la concentration de la testostérone et FSH reste constante au 40^{ème} jour tandis que la concentration de LH commence à diminuer à partir de 20^{ème} jour. Suite à une augmentation significative du taux de testostérone et de FSH et une petite augmentation de LH et les cellules de Leydig apparaissent.

La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jour avec apparition du premier spermatozoïde dans l'épididyme au 130^{ème} jour ce qui correspond à la fin de la différenciation de l'épididyme distale (Figure 13) (Berger *et al.*, 1982).

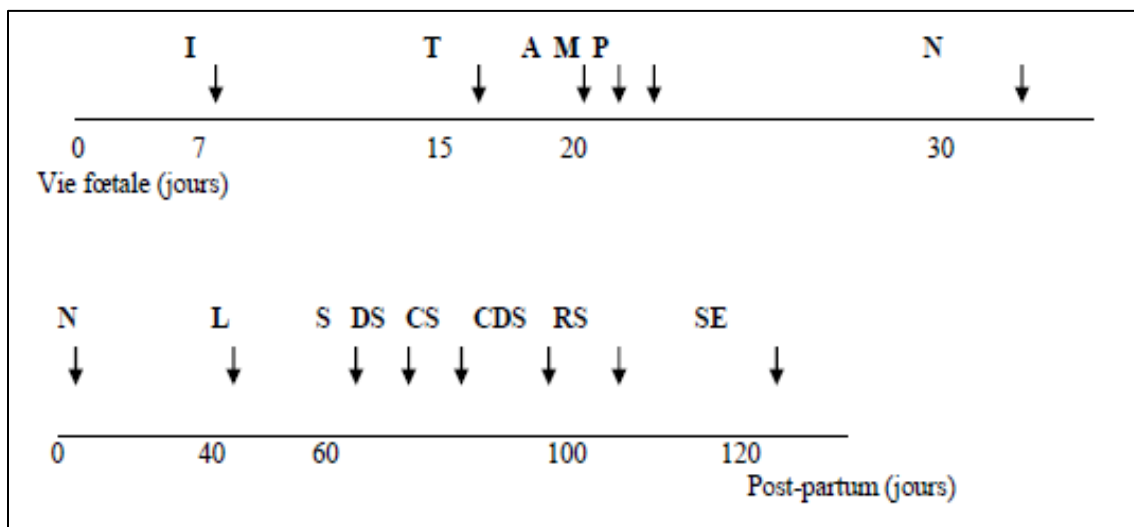


Figure 13 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvariño, 2000).

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

1.1 Développement pondéral

Les lapins sont connus par leur capacité à se reproduire rapidement, les races les plus petites entrant en puberté plus tôt que les races les plus grandes, le poids a donc une grande importance (Suckow *et al.*, 2012).

Après la naissance les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de 5 semaines (70 et 110 jours environ) en fonction de l'âge, dont leur taille augmente jusqu'à l'âge de 8 mois (Figure 14) (Alvarino, 2000 ; Lebas, 2009). Les glandes annexes ont une croissance similaire mais légèrement décalée dans le temps et plus tardive (Lebas *et al.*, 1996).

Le taux de croissance des organes de la reproduction augmente à la 10^{ème} semaine et le dimorphisme sexuel dans la composition corporelle n'apparaît pas avant la 15^{ème} semaine d'âge et son expression est faible (Ouhayoun, 1984).

La formation du scrotum débute vers le 2^{ème} mois d'âge, et à 3 mois les testicules descendent dans le scrotum. Le pénis se développe et acquiert la taille et la forme caractéristiques de l'adulte à la fin du 3^{ème} mois d'âge (Berger et *al.*, 1982).

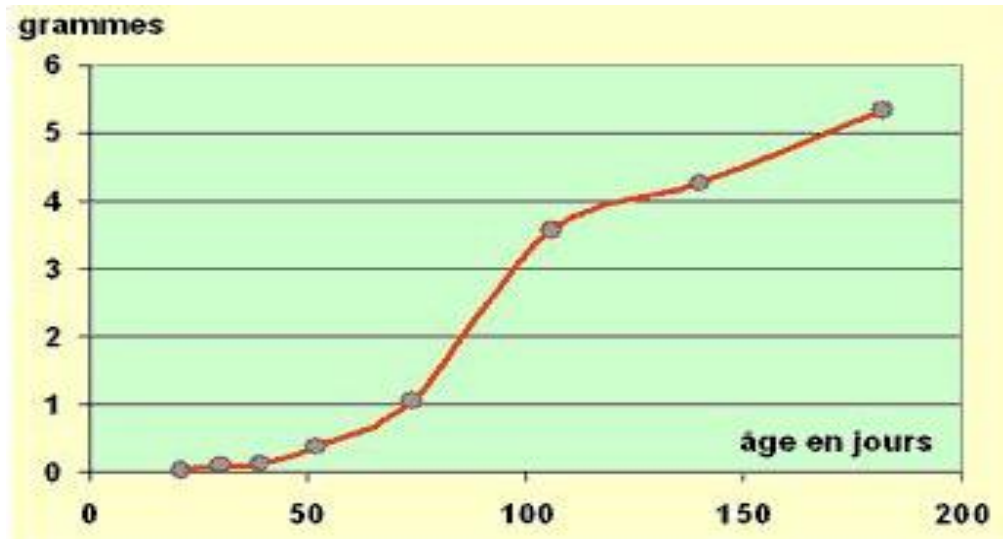


Figure 14: Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours, d'après Prud'hon (1973) (Souche moyenne pesant 4 kg adulte) (Prud'hon, 1973 cité par Lebas, 2009)

1.2 Maturation sexuelle

Chez le lapin la maturité sexuelle est atteinte dès 4 à 5 mois, mais la production du sperme n'est maximale que vers 5-7 mois (Boussarie, 2003 ; Richzrdson, 2000 ; Solau-Poissoner, 2004).

Cette dernière s'effectue en 4 phases, phase infantile, phase pré pubertaire, puberté, maturité sexuelle (Figure 15).

1.2.1 Phase infantile

La phase allant de la naissance à l'âge de 40 jours est caractérisée par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale, ainsi que de faibles concentrations plasmatiques de FSH et de testostérone : c'est la phase infantile (Boussit, 1989). Pendant ce stade, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermato-génétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger et *al.*, 1982).

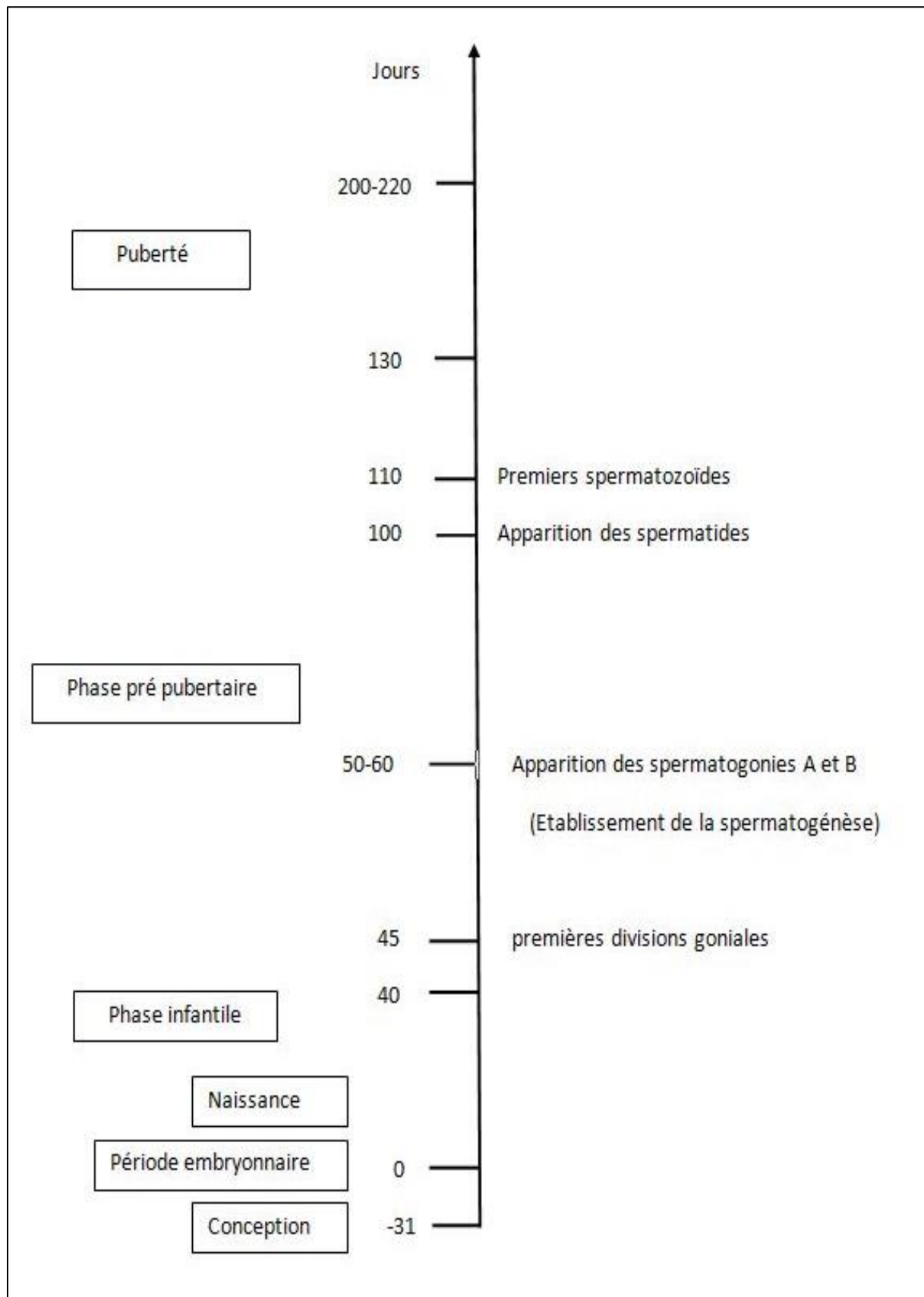


Figure 15 : Différentes étapes de la vie sexuelle du mâle (Boussit, 1989).

1.2.2 Phase pré pubertaire

La phase pré pubertaire commence vers l'âge de 40 jours, se caractérise par l'accélération de la croissance testiculaire entre 40 et 60 jours et une augmentation importante de concentration de la testostérone (+921%) et de FSH (+384%) .

Durant cette phase, les cellules de Leydig commencent à fonctionner en sécrétant de la testostérone (Boussit, 1989) qui entraîne les premières divisions goniales vers 45 jours (Figure 15). Les premières différenciations des spermatogonies s'accroissent vers 70 jours, quand les niveaux d'androgène circulants sont les plus élevés et les premiers spermatozoïdes apparaissent vers l'âge de 110 jours (Skinner, 1967).

1.2.3 Puberté

La puberté est 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 (vers 4 à 5 mois d'âge).

Alors que Sabbagh (1983), rapporte que la puberté chez le lapin est le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte.

Cependant, Macari et Machado (1978 in Lebas, 2009) signalent que la puberté est atteinte uniquement lorsque le lapin devient capable de se reproduire par l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat (de 110 jours).

1.2.4 Maturité sexuelle

Chez le lapin, la maturité sexuelle varie avec l'âge (125-150jours), la race, la lignée , les condition d'élevage , notamment la nourriture et les facteurs environnementaux tels que la photopériode, la température et la saisonnalité (Lebas et *al.*,1994).

Toute fois un jeune mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaine mais la reproduction du sperme n'est maximale que vers 5-7 mois (Boussarie, 2003 ; Richardson, 2000 ; Solau-Poissonet, 2004).

1.3 Développement comportemental

Chez toutes les espèces, comme pour le mâle et la femelle il existe des actes associés de manière caractéristique à l'accouplement sexuel qui est exprimé soit toute l'année comme chez le lapin soit seulement durant une période appelé la saison sexuel comme chez le caprin.

Chez le lapin, les premières manifestations du comportement sexuel apparaissent brusquement dès l'âge de 60 à 70 jours et les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours (Macedo et Miguel, 1986 cités par Alvarino, 2000 ; Quiles et Hevia, 2000) avec un éjaculat contenant des spermatozoïdes peu viables (Alvarino, 2000), il faut donc attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements féconds (Rouvier, 1980).

2. Fonction physiologique du testicule

Le testicule est une glande amphicrine dotée d'une double fonction, une fonction exocrine qui permet la production de gamètes mâles par le processus de spermatogénèse et une fonction endocrine par la production des hormones stéroïdes masculines (androgènes, essentiellement la testostérone) (Chocu, 2014 ; Dadoune et Démoulin, 2001)

2.1. Fonction exocrine du testicule : Spermatogénèse

La spermatogénèse mise en place à la puberté, c'est le processus de différenciations cellulaires qui permet la production des gamètes mâles matures haploïdes (n): les spermatozoïdes, à partir de cellules souches diploïdes ($2n$) : la spermatogonie. Elle a lieu au niveau du testicule le long des tubes séminifères et se déroule de façon régulière et cyclique avec mise en place des différents stades de la spermatogénèse (spermatogonies, spermatocytes, spermatides et spermatozoïdes) (Figure 16) (Tortora et Derrickson, 2007).

La spermatogénèse se déroule en deux phases, une phase d'élaboration ou cycle spermato-génétique qui a lieu dans le testicule et une phase de maturation au niveau de l'épididyme. Le cycle spermato-génétique comporte trois grandes étapes, prolifération mitotique, division méiotique et la cytodifférenciation (spermiogénèse) (Boussit, 1989).

2.1.1. Prolifération mitotique (Spermatocytogénèse)

À la naissance les testicules contiennent deux types de spermatogonie, A et B, durant la phase de multiplication les cellules germinales souches ou spermatogonies de type A se divisent par mitose pendant toute la vie sexuelle, ce qui permet non seulement de conserver le capital de spermatogonies souches (Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001), mais aussi de donner naissance à des spermatogonies de types B, lesquelles vont conduire par divisions mitotiques à la formation des spermatocytes I diploïdes (spermatocytes du premier ordre) (Van Nguyen et Ferry, 2007)

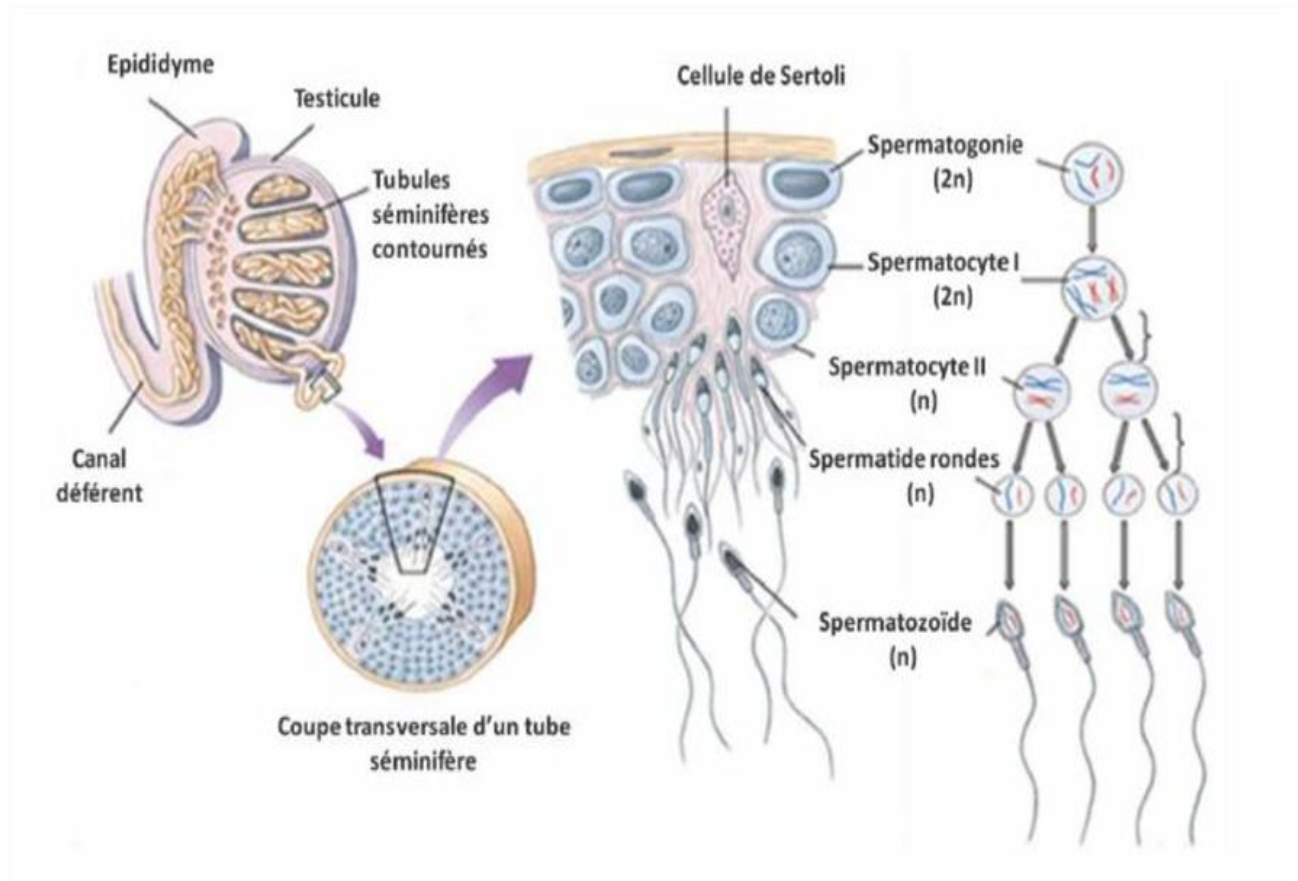


Figure 16 : les différentes étapes de la spermatogénèse Adaptée (d'Allais-Bonnet et Pailhoux, 2014) .

2.1.2. Accroissement et division méiotique

Chaque spermatocyte I subit un accroissement de taille et double sa quantité d'ADN puis entre en première division de méiose, ou division réductionnelle, pour former deux spermatocytes II haploïdes (spermatocytes de deuxième ordre), contenant chacun 23 chromosomes formés de deux chromatides. Ces derniers vont subir à leur tour la méiose II (division équationnelle) et donner quatre spermatides contenant 23 chromosomes constitués d'une seule chromatide (Figure 17) (Tortora et Derrickson, 2009).

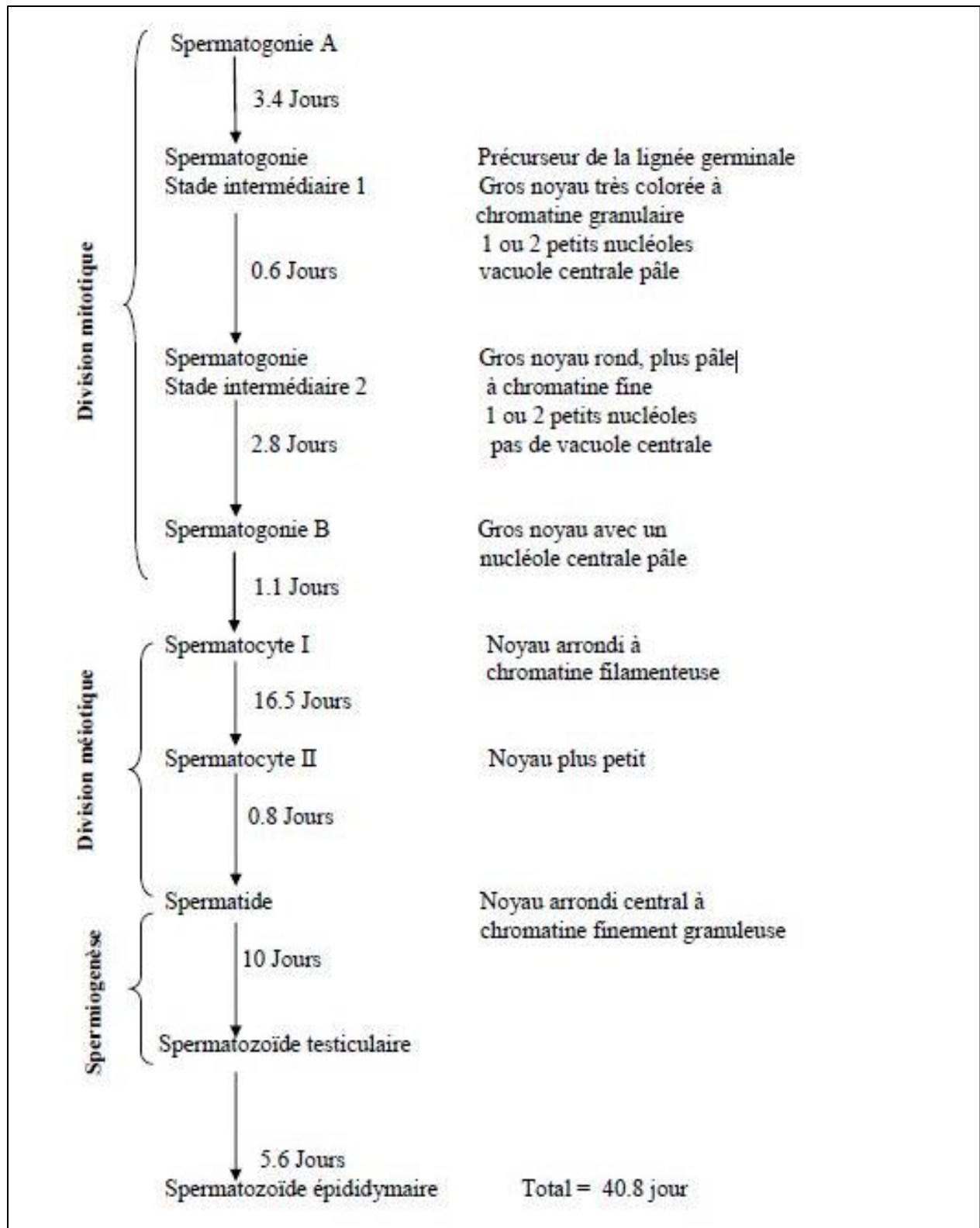


Figure 17 : Cycle spermatogénétique du lapin (Boussit, 1989).

2.1.3. Cytodifférenciation (spermiogénèse)

La spermiogénèse est la dernière phase conduisant à la formation des spermatozoïdes, durant laquelle les spermatides se transforment en spermatozoïdes. A partir de ce stade il n'y a plus de divisions cellulaires mais on observe surtout des métamorphoses extrêmement complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire des spermatides, pour aboutir à la formation des spermatozoïdes (Figure 18) (Schulz et *al.*, 2005).

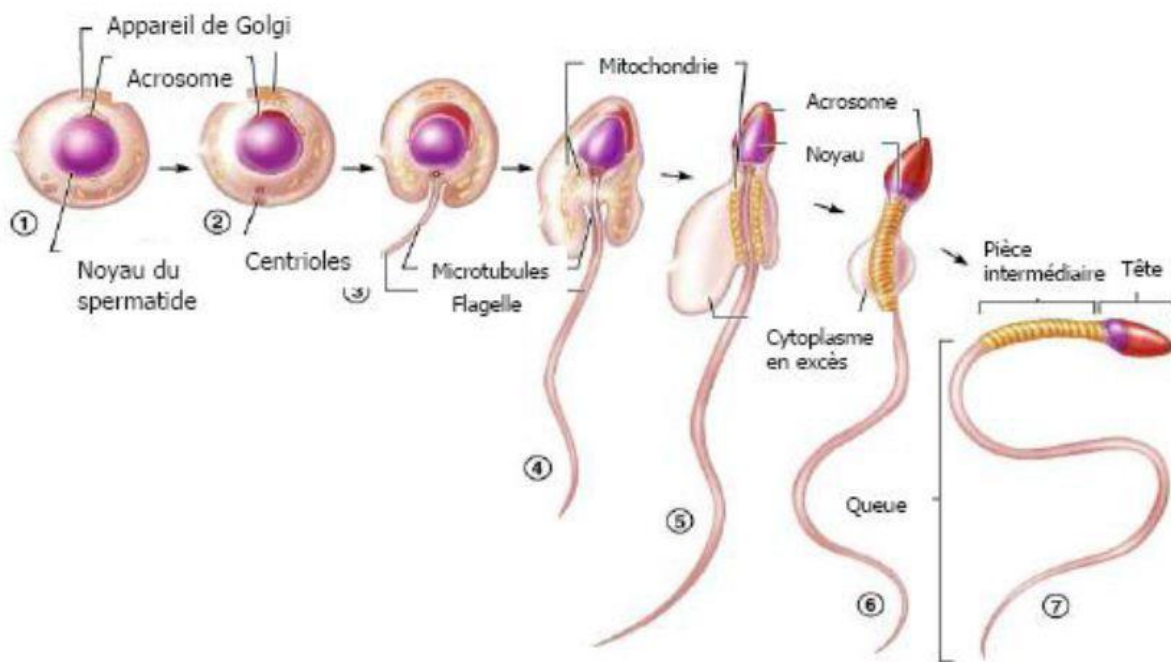


Figure 18: Les étapes de la spermiogénèse (Gayrard, 2007).

Cette phase est caractérisée par :

- ✚ Réorganisation du noyau qui s'aplatit latéralement et se dirige vers le pôle acrosomique avec condensation de la chromatine
- ✚ Formation du système acrosomique dans la pôle antérieur du noyau par les vésicules golgiennes .
- ✚ Développement de l'appareil flagellaire à partir du centriole distal (Dadoune, 1998 ; Albert et Jean, 2001).
- ✚ Glissement du cytoplasme le long de l'axe flagellaire et la différenciation de diverses structures fibreuses qui se condensent autour de celui-ci.

- ✚ Repositionnement des mitochondries en une rangé hélicoïdale autour de la partie initiale du flagelle (part intermédia) et élimination de la plus grande partie du cytoplasme (corps résiduel) (Gayrard ,2007).

A leur sortie du testicule, les spermatozoïdes ne sont pas féconds ; ils le deviennent après leur passage dans l'épididyme (Gayrard, 2007).

2.2 Fonction endocrine du testicule : 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 spermatogénèse, ainsi qu'au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génitale mâle. Cette sécrétion contrôle en outre les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle (Barone, 2001).

La biosynthèse de la testostérone nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes qui agissent en cascade à partir d'un précurseur commun à tous les stéroïdes, le cholestérol (Saez, 1994). Au niveau de la membrane des mitochondries s'effectue le transport du cholestérol grâce à des protéines de transport dont la plus importante est la protéine STAR (Clak et *al.*, 1994), afin qu'il sera converti en prégnénolone par le cytochrome P450_{sc} situé dans membrane interne de la mitochondrie en induisant la coupure de la chaîne latérale du cholestérol (O'Shaughnessy et Murphy, 1991). Cette dernière sort de la mitochondrie ensuite métaboliser par différentes réaction enzymatique (P450_{c17}, 3βHSD, 17βHSD....) pour produire la testostérone (Figure 19).

En association avec la FSH, la testostérone est essentielle pour l'initiation et le maintien de la spermatogénèse en agissant 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).

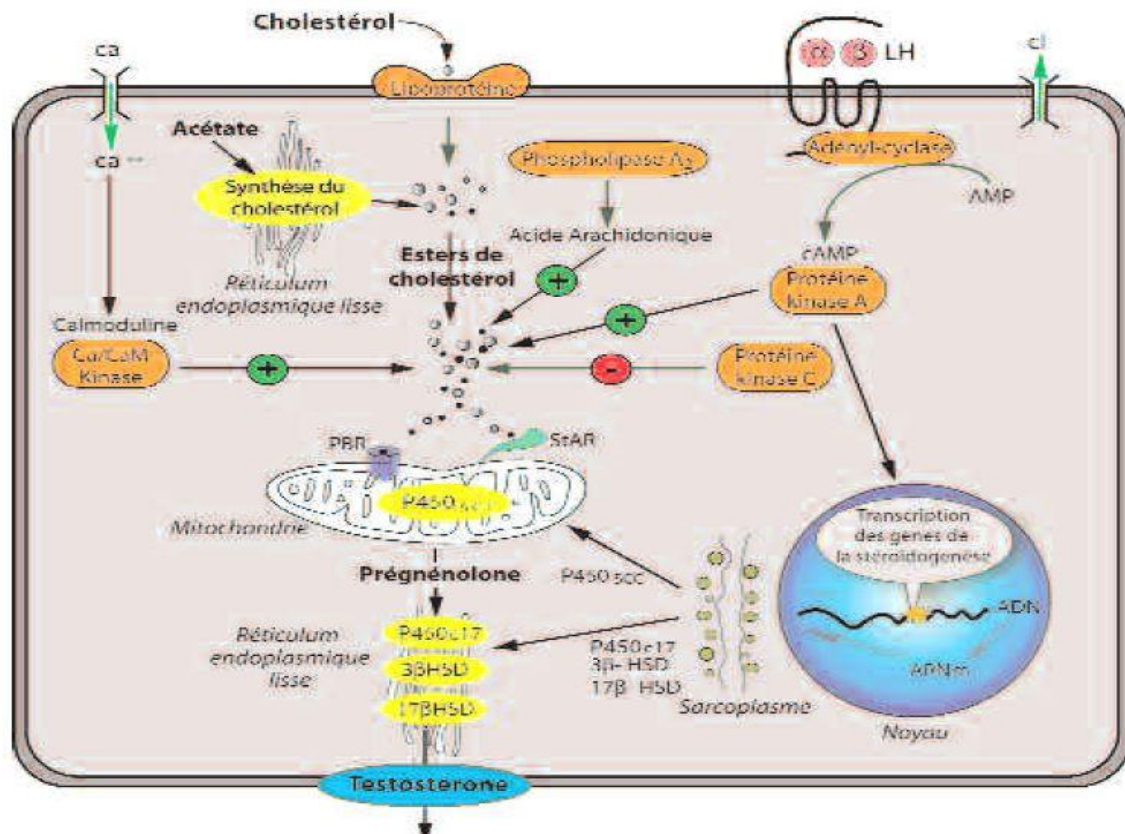


Figure 19 : Régulation de la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig (Clarisse, 2012)

3. Fonctions physiologique de l'épididyme

3.1 Mode de sécrétion de l'épididyme

La sécrétion des protéines est réalisée essentiellement par les cellules principales et accomplie selon deux modes de sécrétions différents: le mode mérocrine et le mode apocrine.

3.1.1 Sécrétion mérocrine

La sécrétion mérocrine est le mode de sécrétion protéique classique (Thibault et Levasseur, 2001) qui se produit dans la plupart des différents types cellulaires y compris les cellules principales de l'épithélium épididymaire (Sherwood, 2006).

Les protéines sont transportées jusqu'à l'appareil de Golgi afin de subir différentes modification post-traductionnelles telles que la glycosylation et l'acylation (Thibault et Levasseur, 2001)

La séquence primaire des protéines sécrétées de cette façon est caractérisée par la présence d'un peptide signal, ce qui permet à la protéine de s'associer au réticulum endoplasmique rugueux (Girouard, 2009).

3.1.2 Sécrétion apocrine

Selon Sullivan et *al.* (2005), la synthèse des protéines dans le mode apocrine se fait au niveau des cellules principales, qui s'effectue grâce aux ribosomes libres, contrairement au mode mérocrine. Puisque la séquence primaire de ces protéines est dépourvue de peptide signal, de ce fait elles ne peuvent s'associer au réticulum endoplasmique (Figure 20) (Thibault et Levasseur, 2001).

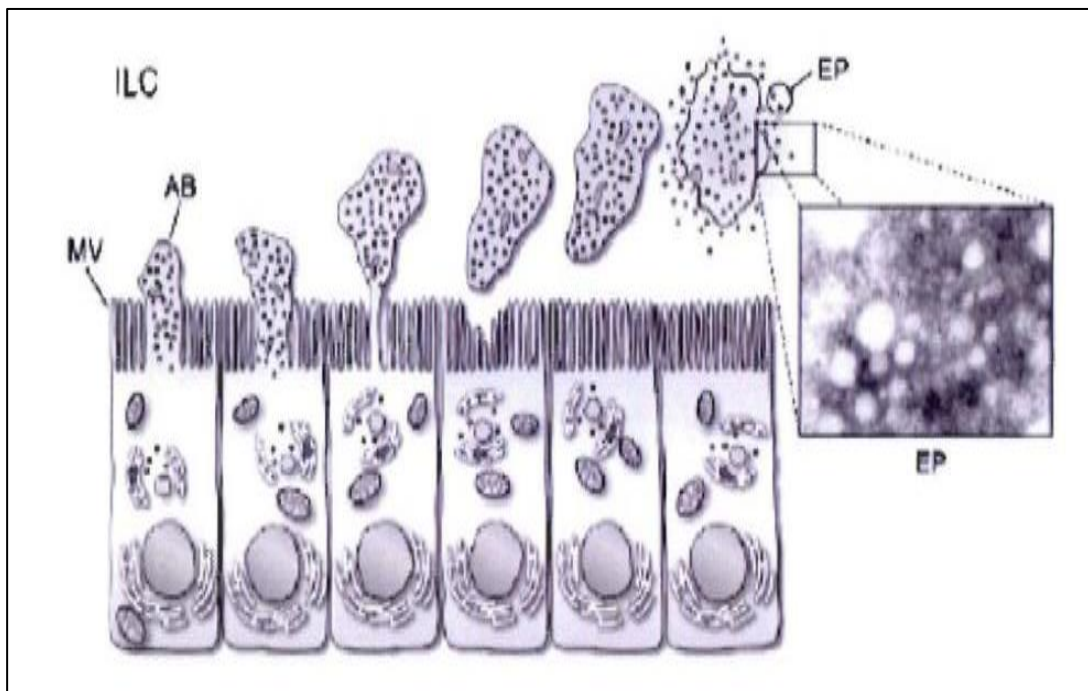


Figure 20 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).

AB : Aposomes; **EP :** Epididymosomes; **ILC :** compartiment intra-Liminaire ; **MV :** microvillosité

3.2 Fonctions de l'épithélium épидидymaire

L'épididyme possède plusieurs fonctions qui sont attribuées, soit à la lumière de tubule, soit à son épithélium. Parmi ses fonctions on distingue : la maturation des spermatozoïdes, acquisition de la mobilité, modification de la membrane des spermatozoïdes, protection et stockage des spermatozoïdes.

3.2.1 Maturation des spermatozoïdes

La maturation des spermatozoïdes est l'ensemble des modifications morphologique et physiologique, aboutissant à l'acquisition de la motilité, la capacité de reconnaître la zone pellucide et la fusion avec l'ovocyte (le pouvoir fécondant) (Thibault et Levasseur, 2001). Ces

différentes propriétés sont acquises séquentiellement au cours du transit des spermatozoïdes dans le canal épидидymaire (Bonet et *al.*, 1992) pendant 10 jours (3jours dans la tête, 1jour dans le corps et 6 jours dans la queue) (Robaire et Hermo, 1988).

3.2.2. Acquisition de la mobilité

Chez la plupart des mammifères, les spermatozoïdes traversent les canaux efférents et sont pris en charge par l'épididyme qui assure leurs transits grâce aux contractions des fibres musculaires lisses qui l'entourent et aux mouvements des stéréocils des cellules épithéliales (Cornwall et Hann, 1995 ; Kirchhoff, 1999). Les spermatozoïdes commencent à osciller dans la tête de l'épididyme avec des mouvements vibratoire de la queue alors que dans le corps il y a apparitions de mouvements inefficaces, mais la mobilité progressive n'est acquise que dans la région caudale (Gaddum, 1968 cite par Boussit, 1989).

La motilité est acquise suite à des modifications des mitochondries et de la composition lipidique de la membrane plasmique des spermatozoïdes qui est induits par modifications des protéines de surface avec apparition des protéines de maturation (Thibault et Levasseur, 2001).

Le marquage par les lectines, les anticorps, les précurseurs radioactif a montré de profonds changements dans la composition lipidique et protéique de la membrane des spermatozoïdes durant le transit épидидymaire (Voglmayr et *al.*, 1985) . Ces changements résultent de plusieurs mécanismes incluant la redistribution ou la suppression après protéolyse, l'action des enzymes glycolytiques et l'intégration des composants néo synthétisés (Yanagimachi, 1994).

3.2.3. Protection des spermatozoïdes

Une des fonctions de l'épididyme est la protection des spermatozoïdes matures au niveau de la barrière hémato-épидидymaire qui les protège contre les attaques du système immunitaire (Pollanen et Cooper, 1994) et les dommages protéolytiques qui pourraient avoir lieu lors d'une libération prématurée des enzymes acrosomiales (Vernet et *al.*, 1996, 1999) , ainsi certaines protéines sécrétées par l'épithélium épидидymaire ont une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs durant le transit épидидymaire (Cornwall et *al.*, 2003 ; Cornwall et Hsia, 2003).

3.2.4. Stockage des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes sont stockés dans la queue de l'épididyme (Barone, 2001) où ils baignent dans un liquide qui permettra de les conserver et qui servira de réservoir durant l'attente de prochaine éjaculation (Hinton et Palladino, 1995)

Barone, 2001 a constaté que le taux de fécondation chez le lapin est seulement 1 à 2 % avec des spermatozoïdes prélevés dans la tête de l'épididyme, alors qu'ils atteignent 95 à 98% avec ceux prélevés dans la queue de l'organe.

3.2.5 Autre fonction de l'épididyme

3.2.5.1. Absorption et réabsorption

L'épithélium de l'épididyme joue un rôle primordial dans la composition du fluide séminal en absorbant et réabsorbant un large volume de liquide et de molécules (ions, des protéines ...), la majorité des protéines provenant du fluide testiculaire sont absorbées 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).

3.2.5.2. Sécrétion

L'épithélium épididymaire sécrète dans la lumière une variété d'ions et de protéines telle que la Glycéryle Phosphoryl Choline (GPC) et des protéines spécifique majoritairement des enzymes tel que la phosphatase acides et alcalines, les glucosidases et les protéases procathepsine L qui modifient la membrane des spermatozoïdes, les glycosyl transférases qui peuvent modifier le fluide épididymaire, la lactoferrine et la clustérine qui permettent la survie et la protection des spermatozoïdes au cours du transit épididymaire (Figure 21) (Thibault et Levasseur, 2001).

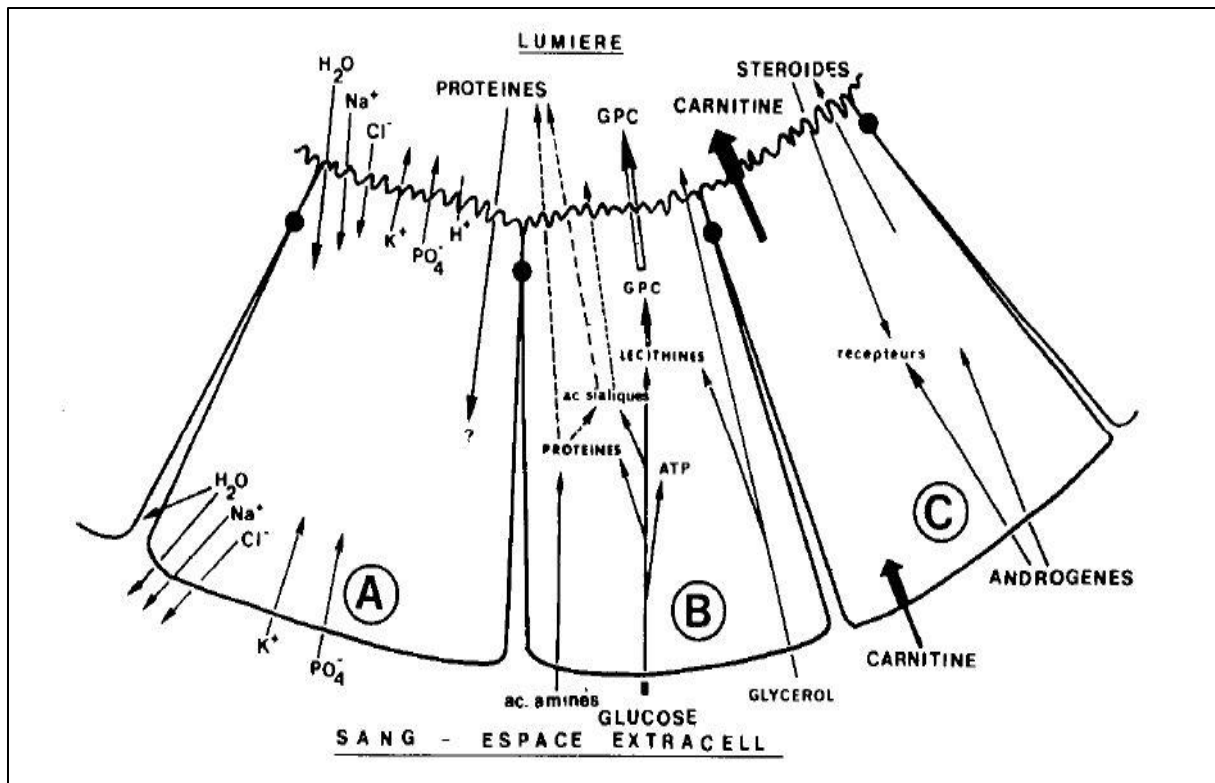


Figure 21 : Représentation schématique des trois principales fonctions de l'épithélium épididymaire (Kellaci, 2017).

A : Fonction de réabsorption , B : Fonction de sécrétion , C : Fonction de concentration

3.2.5.3 Métabolisme

La structure de l'épithélium de l'épididyme assure métabolisme de la testostérone en 5 α -dihydrotestostérone (DHT) et du glucose (Cooke et Robaire, 1987). L'épididyme est aussi impliqué dans la biosynthèse, le métabolisme et la conjugaison du glutathion, la biosynthèse des prostaglandine et le métabolisme de la vitamine D (Blodorn et *al.*, 1996, Leung et *al.*, 1998).

3.2.5.4 Spermiophagie

La majorité des spermatozoïdes sont absorbés, puis détruite par les cellules apicales de l'épididyme et le canal déférent par Spermiophagie qui est une phagocytose des spermatozoïdes non éjaculés, tandis qu'une portion de 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 faisant intervenir des hormones provenant de deux origines, le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules (Bonnes *et al.*, 2005).

4.1. Axe hypothalamo-hypophysaire

L'hypothalamus situé à la base de l'encéphale fait partie du système nerveux central, permet la transmission d'information à l'hypophyse par l'intermédiaire de neurohormones via le système porte hypothalamo-hypophysaire (Thibault et Levasseur, 2001).

La fonction gonadique dépend d'une gonadolibérine la GnRH qui est un décapeptide sécrété de manière pulsatile par les neurones hypothalamiques et diffuser via le système porte pour agir sur les cellules de l'hypophyse antérieure (antéhypophyse) (Figure 22) (Anjolras, 2011). La fixation de GnRH sur ses récepteurs au niveau des cellules gonadotropes antéhypophyse, active les phosphokinase C et entraîne la libération de FSH et de LH dans le sang (Thibault et Levasseur, 2001 ; Bonnes *et al.*, 2005).

4.2. Régulations des fonctions testiculaires

La sécrétion de la testostérone ainsi que la production des spermatozoïdes sont sous le contrôle des gonadotrophines hypophysaires FSH et LH circulant dans le sang pour atteindre le testicule. La FSH agit sur les cellules de Sertoli en se fixant sur ses récepteurs pour activer la production des facteurs Sertoliens tel que l'ABP, la transferrine et divers agents nécessaire au bon déroulement de la spermatogenèse. Tandis que la LH agit sur les cellules de Leydig pour la sécrétion de la testostérone qui favorise la spermatogenèse (Widmaier *et al.*, 2009), le développement des organes génitaux masculins et les caractères sexuels secondaire (Figure22) (Nguyen et Bourouina, 2008)

La régulation de la fonction gonadotrope est caractérisée par un rétrocontrôle négatif par les sécrétions testiculaires, exercé au niveau de l'axe hypothalamo- hypophysaire et gonadique. En effet La concentration élevée de la testostérone ainsi d'autre molécules tel que l'inhibine ont une action inhibitrice sur la sécrétion de la LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus (Figure 22) (Bridges *et al.*, 1993 ; Dohle *et al.*, 2003).

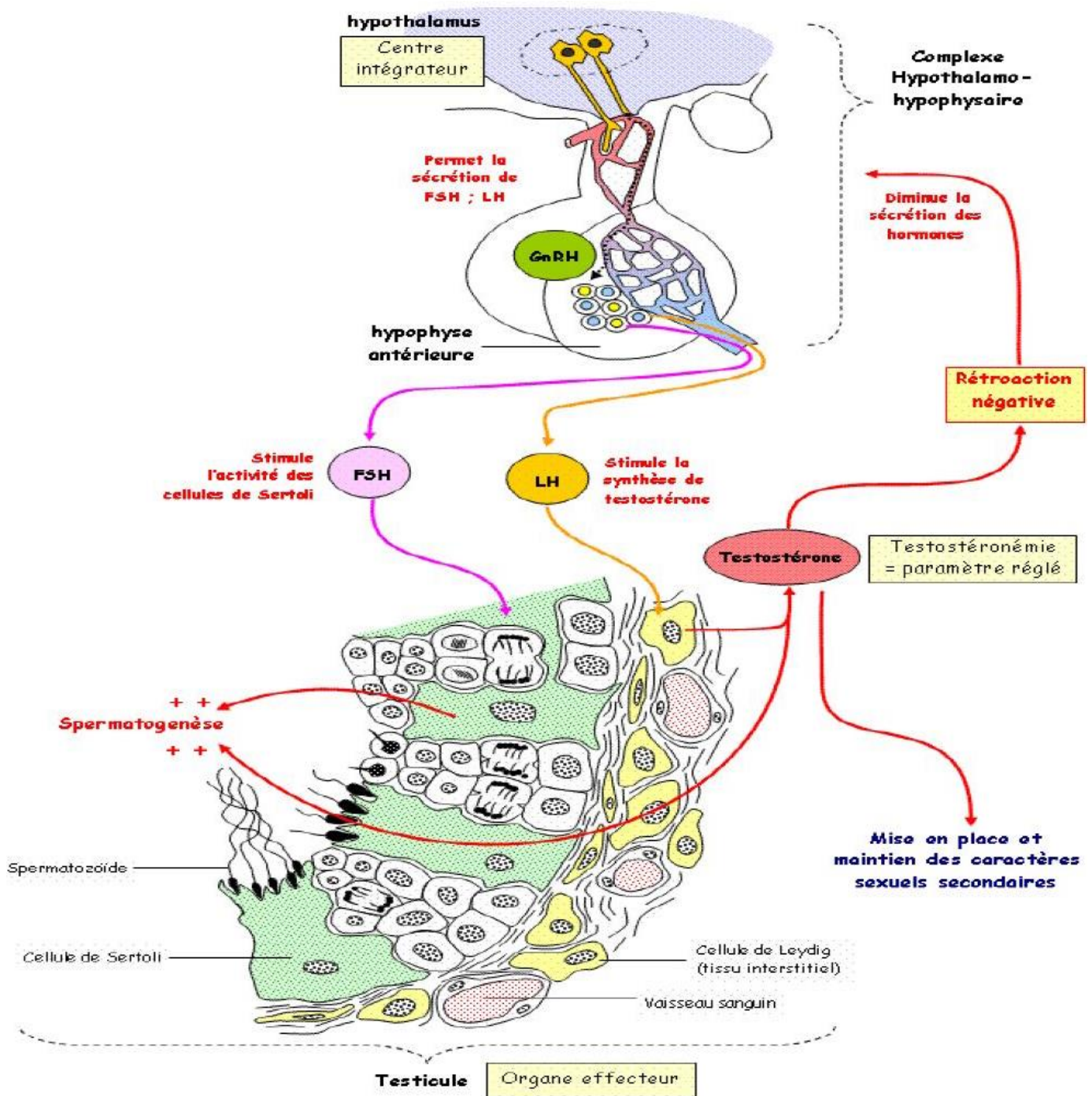


Figure 22 : Contrôle endocrinien de la reproduction chez le mâle (Morin-Ganet, 2006) .

4.3. Régulation intra gonadique

La régulation endocrine de la fonction testiculaire est très complexe car elle dépend non seulement de la régulation exercée par l'axe hypothalamo- hypophysaire mais aussi de la régulation exercée localement au niveau du testicule. Parmi ces facteurs qui assurent cette régulation intra testiculaire on distingue :

- ✚ L'ABP est une protéine qui se lie à la testostérone et la dihydrotestostérone et permet le maintien des concentrations testiculaire et épидидymaire élevées en androgènes.
- ✚ L'inhibine et l'activine sont des glycoprotéines produites par les cellules de Sertoli qui sont impliquées dans la régulation de la stéroïdogénèse. L'inhibine exerce un effet sur l'hypophyse antérieure afin d'inhiber la sécrétion de FSH (Campbell *et al.*, 2009). Tandis que l'activine a un effet inverse.
- ✚ Des facteurs de croissance (EGF-1, TGF, IGF-1 et le FGF) et de nombreux facteurs locaux comme les cytokines TNF et IL-1 régulent la production de testostérone par les cellules de Leydig (Payne et O'Shaughnessy, 1996).

4.4 Régulation des fonctions épидидymaire

D'après Robert *et al.*, (2003), la régulation des fonctions épидидymaire fait appel à un réseau complexe de molécules biochimique très variées d'origine diverse, qui vont agir spécifiquement au niveau des cellules de l'épithélium épидидymaire pour réguler l'expression des gènes cible. Selon leur proximité par rapport aux cellules cibles on distingue des facteurs endocriniens arrivant par la voie systémique, des facteurs lumicrines apportés par la lumière du canal épидидymaire et des facteurs paracrine/autocrine produit par les cellules avoisinante ou les cellules elle-même (Robaire *et al.*, 2003).

4.4.1. Androgènes

Les androgènes sont nécessaire pour le maintien de la morphologie des cellule principales et préviennent leur apoptose (Fan et Robaire, 2012), ainsi que l'expression de la sécrétion des protéines (Syntin *et al.*, 1999), le transport des ions et des molécules organiques comme la L-carnitine, la régulation des protéines qu'interviennent dans la motilité des spermatozoïdes (Briz *et al.*, 1995) et l'expression des protéines intervenant dans le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue et la glycolisation des protéines (Castellon et Huidobro, 1999).

Tout fois les androgènes acheminées par le fluide testiculaire, complexés à l'ABP, ont une action lumicrine au niveau de l'épидидyme pour contrôler les fonctions physiologiques de cet organe (Brook, 1981 ; Holland et Argebin-crist, 1988).

4.4.2. Oestrogènes

Les œstrogènes sont importants dans la fertilité puisque ils interviennent dans l'absorption du fluide luminal, transition pubertaire, et l'expression des protéines comme la lactoferrine, la cystine 12 (Yu et Chen, 1993).

En effet, l'invalidation du RE chez la souris induit un phénotype épидидymaire anormal (Eddy et *al.*, 1996) et une infertilité (Hess et *al.*, 1997), suit à un retard dans l'absorption du fluide au niveau des canaux efférent.

4.4.3. Ocytocine/mélatonine et Angiotensine II

L'ocytocine intervient dans les fonctions de reproduction mâle en participant à la stéroïdogénèse ainsi qu'à la contraction des tubes séminifères (Niemi et Kormano, 1965 ; Survanto et Kormano, 1970) et du tubule épидидymaire (Melin, 1970 ; Hib, 1974, 1977) qui permet la progression des spermatozoïdes au cours de leur maturation post-testiculaire.

D'autre par la mélatonine en synergie avec l'ocytocine stimule la contraction tubulaire et la prolifération des cellules épithéliales épидидymaires en se liant aux récepteurs qui sont sous le contrôle des androgènes (Shiu et *al.*, 1996), ces effets dépendent de la concentration et du temps d'exposition à la mélatonine (Li et *al.*, 1999 ; Shiu et *al.*, 2000).

L'angiotensine II a une action paracrine et / ou autocrine au niveau de l'épithélium épидидymaire une fois libéré, les cellules basales elles stimuleraient les cellules principales et leur fonction de sécrétion (Leung et *al.*, 1997).

5. Facteurs de variations de la fonction de reproduction du lapin

D'après Theau-clément (2005), les performances de reproduction varient en fonction de multitude facteurs extrinsèques liés au milieu tels que les saisons, température, humidité, photopériodisme et qualité de l'alimentation.

5.1. Température

La température est un facteur d'ambiance le plus néfaste pour la croissance et la performance de la reproduction du lapin, sachant que c'est un animal dépourvu de glande sudoripare, ils assurent sa thermorégulation par de multiples adaptations ; par voie respiratoire et par vasomotricité des vaisseaux sanguins superficiels (Zemmodj, 2001). C'est pour cette raison que les éleveurs redoutent les chaleurs élevées (Colin, 1995).

La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18°C (Lebas, 2009) car l'exposition des mâles à des températures élevées (34 °C pendant 8 h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa et Thwaites, 1992).

Chou et *al.* (1974) ont constaté que les lapins exposés à un stress thermique présentent d'une part, une diminution du poids des organes génitaux et d'autre part une diminution de sécrétion des hormones sexuelles, de plus les températures supérieures à 30°C réduisent la *libido* des mâles (Lebas et *al.*, 1990 et Quinton, 2003).

5.2. Saison

De nombreux travaux font référence à l'effet saison sur les performance de reproduction et l'activité sexuelle du lapin, en affectant la plupart des paramètres de la production spermatique (Marai et *al.*, 2002 ; Safaa et *al.*, 2008) .

Selon Bannano et Costanzo (1987), la production spermatique (pourcentage de cellule motile, vitesse d'acheminement et concentration) est supérieure en automne comparée au printemps, alors qu'elle est nettement inférieure en été. La saison estivale a un effet dépressif sur le volume, la motilité et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat.

En effet, les lapins qui sont nés en Hiver entrent plus précocement en puberté que ceux nés en été, de ce fait la saison influence sur l'âge d'entrée en puberté (Boulbina , 2011) se qui peut être expliqué par l'effet de la saison sur la sécrétion de la testostérone (Frolich, 1948 ; Brambell, 1944).

5.3. Eclairement et Photopériode

Selon Walter et *al.* (1968), il est possible de provoquer une diminution de la concentration en spermatozoïdes et une baisse du poids des testicules grâce à une photopériode de 16h de lumière pour 8h d'obscurité.

En effet, une bonne conduite de l'élevage implique un éclairage de 30 à 40 Lux à condition que la lumière soit répartie de façon uniforme dans toute la pièce (Lebas et *al.*, 1990 ; Lebas et *al.*, 1991).

5.4. Humidité (l'hygrométrie)

Dans les normes recommandées, l'humidité relative doit être maintenue entre 60 et 70 % (Lebas, 2009) car humidité relative trop basse (moins de 50%) est néfaste tandis que une

hygrométrie trop élevée se traduit par une réduction des performances de la reproduction (Finzi et al., 2000) et aboutit à la prostration des animaux .

5.5. Alimentation

L'alimentation des lapins mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la *libido* sont affectés lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. Des études ont montré qu'un régime alimentaire limité en glucide, protéines et lipides réduit la *libido* et quelques traits séminaux chez le lapin mâle.

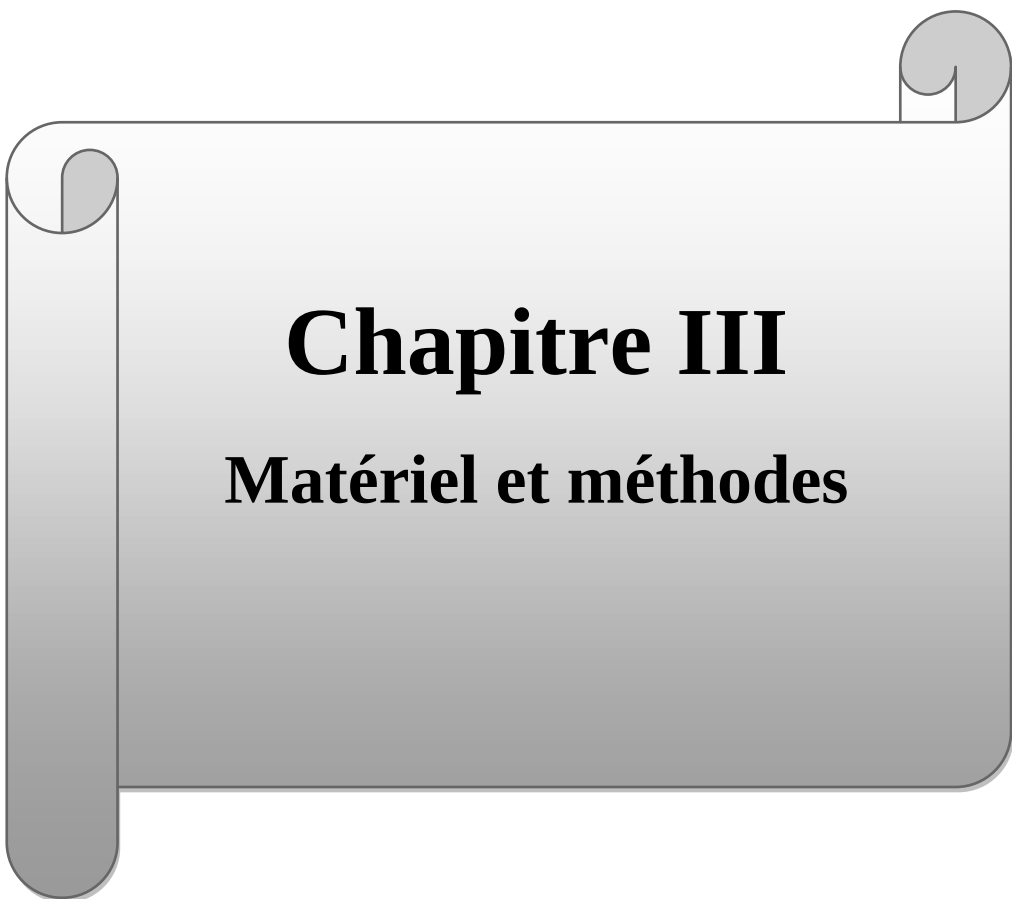
Néanmoins le facteur le plus important reste la qualité plutôt que la quantité du régime alimentaire (Luzi et al., 1996) car un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculat et de la concentration en spermatozoïdes (Joly et Theau-Clément, 2000). Par contre, un excès dans l'alimentation provoque un engraissement important qui est préjudiciable à la reproduction (Lebas et al., 1991).

5.6. Age

L'âge des mâles influence significativement le pH, la concentration et le nombre de spermatozoïdes totaux et motiles par éjaculat. En effet, les mâles adultes (au-delà de 43 semaines) ont une semence de concentration et un nombre de spermatozoïdes totaux et motiles plus élevés (Panella et Castellini, 1990).

5.7. Huiles essentielles

Des études récentes ont montré que les variations de la fonction de reproduction chez le lapin ne peuvent se limiter aux facteurs cités en dessous. Cependant une étude a été réalisée pour étudier l'effet de l'huile essentielle de sarriette (*Satureja khuzestanica*) sur la fertilité des rats mâles, cette huile a été administrée par voie orale à différentes doses (75 ,150 et 225 mg /Kg /jour) pendant 45 jour, et elle a induit une augmentation significative de la concentration en FSH et en testostérone, de même l'augmentation de poids de vésicule séminale et de la prostate (Haeri et al., 2006). Comme les huiles essentielles peuvent avoir une toxicité plus ou moins importante chez les lapins et rongeurs de compagnie selon la plante utilisée (Kammerer et al., 2012).



Chapitre III

Matériel 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 et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche et de la souche synthétique. L'objectif de ce présent travail est l'étude de l'effet des huiles essentielles de la menthe poivrée , sauge et romarin sur la structure des testicules et des lapins mâles pré pubère (3 mois) à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire.

1. Lieu et dure d'expérimentation

Le travail a été réalisé au niveau de l'Institut de Technologie Moyen Agricole spécialisé de Boukhalfa Tizi-Ouzou (ITMA), situé à 5 km du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou, puis au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre au sein de l'université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.

2. Matériel et méthode

2.1 Modèle Animal

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un modèle essentiel en recherche scientifique , car il offre beaucoup d'avantages dans le domaine de la reproduction et permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques de cycle épithéliale séminifère (Figure 23) (Ewuola et Equinike, 2010).

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*

En effet il existe deux lignées de lapins une locale et une synthétique , dont notre travail s'intéresse sur la synthétique qui a été initié dans l'institut Baba-Ali,Alger (ITELV) en

collaboration l'INRA de Toulouse et l'UMMTO ont abouti à la création d'une nouvelle lignée de lapin dénommée les animaux de la souche synthétique (Gacem et *al.*, 2010).

Cette souche est caractérisée par une prolificité importante (9 lapereaux par mi-bas), un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population algérienne (Lebas et *al.*, 2010).



Figure 23: Lapins male appartenant à la souche synthétique

2.1.2. Condition d'élevage

Les animaux ont été placés dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole (une mangeoire individuelle ainsi qu'un système d'abreuvement à tétine) et exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement et nourris *ad libitum* à base d'un aliment sec granulé fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail). L'eau distribuée aux animaux provient du réseau local d'eau potable, disponible en accès libre permanent.

2.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des extraits purs et naturels provenant de substances aromatiques, produites par de nombreuses plantes sous forme de minuscules gouttelettes de quelques microns retrouvées dans les feuilles, les fruits, les fleurs, les graines, les racines, les branches et le bois (Fouzi, 1981). Elles sont liquides volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardy et *al.*, 2007), caractérisées par leur odeur, leur goût, leur couleur qui varie selon la plante dont elles sont extraites, et leurs propriétés physicochimiques et biologiques (Mc-Graw-Hill, 2007), qui peuvent être administrées par voie orale, voie transcutanée ou voie inhalatoire (Couderc, 2001).

2 .2.1. Romarin à verbénone (*Rosemarinus officinalis*)

Le Romarin à verbénone (*Rosemarinus officinalis*) est une espèce qui se trouve dans toutes les contrées mondiales, c'est une plante des zones arides garrigues et des lieux rocheux du pourtour méditerranéen et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens (Figure27) (Makhloufi, 2009) .

Le Romarin est un arbrisseau de la famille des labiées mesure environ 0,8 à 2m de hauteur (Atikbekkara et *al.*, 2007),il se reconnaît de loin par son odeur pénétrante (Beniston, 1984). Ses feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, friables et coriaces et disposées en courtes grappes denses épanouissent presque tout au long de l'année, tandis que les fleurs sont d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet (Gonzalez-Trujano et *al.*,2007).

Selon Tyler et *al.*, (1976) la position systématique du romarin est :

Règne: Plantae

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: Rosmarinus

Espèce: Rosmarinus officinalis

Genre: *Rosmarinus*

Espèce: *Rosmarinus officinalis*



Figure 24: Romarin cultivé (Monzie, 2008)

L'huile essentielle du *Rosemarinus officinalis* extraite à partir des fleurs en utilisant la technique de distillation par entraînement à la vapeur (Bruneton, 2009), est d'aspect liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement piquante camphrée, pénétrante de saveur très aromatique (Jeaun Brineton, 1992).

La teneur en huile essentielle du Romarin varie en fonction de l'origine géo-climatique de la plante avec une production entre 10 et 25 ml/Kg à partir des sommités fleuries. Plus de 50 composants mono-terpéniques rentrent dans la composition chimique de l'huile essentielle du Romarin dont les constituants principaux sont présentés dans le tableau 1:

Tableau 1 : Composition de l'huile essentielle Romarin à verbénone (RS Frag,1989)

Camphre	Pinène	Bornéol libre et estérifié	1,8 Cinéol	Limonène
(15-25 %)	19,6 %)	(10,0 %)	(15-50%)	(3,6%)

2.2.2. Sauge officinale (*Salvia officinalis*)

La Sauge est d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (Labiacées) (Djerroumi et Nacef, 2004) appelée sauge de Grèce, herbe sacrée, grade sauge ou thé d'Europe. Il existe environ 900 espèces identifiées dans le monde contre une 30 environ en Algérie (Maksinovic et *al.*, 2007).

La Sauge est une plante vivace à tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm, à rameaux vert-blanchâtre, des feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées et des fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés, calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée; fruits en forme détitra akènes (Figure 28) (Madi, 2010).

Selon Hippolyte et *al.*, (1993) , la systématique de la Sauge est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis*



Figure 25 : La Sauge (*Salvia officinalis* L.) (Madi,2010)

L'huile essentielle Sauge, extraite par distillation à la vapeur des parties aériennes de la plante, est caractérisée par une couleur transparente à jaune, une odeur camphrée et un peu épicée et une composition chimique différente d'une région à une autre dont les plus importants sont représentés dans le (Tableau 2).

Cette huile essentielle est utilisée en pharmacopée moderne (médecine), en cuisine et dans l'industrie du parfum.

Tableau 2 : Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* (Wolter, 2007).

Hydrocarbures terpéniques			Cétones			ester
Humilène	A-pinène	P-pinène	Camphre	A-Thujone	P-tujone	Acetate de bornyl
Trace à 18.9 %	1.7 à 13.1 %	0.5 à 17.9 %	4.1 à 27.5%	1.5 à 44.2 %	1 à 36.7 %	0.1 à 36.7 %

2.2.3. Menthe poivrée (*Mentha peperita*)

La menthe poivrée est une plante commune dans toutes les régions tempérées du monde, elle pousse sur des sols frais et humides jusqu'à 1800 m d'altitude. Elle est vivace à rhizome long rampant, traçant, chevelu avec une tige mesurant 50 à 80 cm, des feuilles de 4 à 10 cm de longueur qui sont ovales, opposées et fortement pétiolées (Benayard cité in Bouchiha

et al., 2014) et des fleurs violacées qui forme des épis très courte et ovoïdes à l'extrémité des rameaux (Figure 26).

Selon Cronquist (1981), la classification botanique de la menthe poivrée est :

Règne: plantae

Embranchement: Spermaphytes

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe : Métachlamides

Ordre : Tubiflorales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha peperita*.



Figure 26: Feuilles et fleurs de la Menthe poivrée (Benayard cité in Bouchiha *et al.*, 2014)

L'huile essentielle de la menthe poivrée, obtenue par distillation complète des feuilles de menthe, est la plus polyvalente avec une couleur jaune clair rafraîchissante dont la très forte odeur est due au menthol. Elle est utilisée en médecine traditionnelle, dans les préparations et l'industrie alimentaire, en cosmétique et récemment des études scientifiques montrent un intérêt promoteur quant à son utilisation en pharmacologie et médecine moderne. L'huile essentielle de la menthe poivrée comporte 85 composants dont les principaux constituants sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Composition de l'huile essentielle Menthe poivrée (Bouchihaet al., 2014)

Monoterpénols	Oxydes		Monoterpénones		Esters terpéniques
Menthol	1,8-Cinéole	Menthofurane	Mentone	Pulégone	Acétate de menthyle
38.51%	35.65%	1.16%	23.01%	1.00%	4.33%

2.3 Autres matériels

D'autres matériels ont été utilisés dans l'expérimentation tels que les béchers, tubes sec, eppendorf, éprouvettes, pipettes graduées, des bavettes, papiers filtres, des gants, ciseaux, scotch, étiquettes, spatules, balance a précision, centrifugeuse, étuve, portoirs, micropipettes (10-100µl ; 100-1000µl), pince, poire, pissettes, cassette d'inclusion, cryotubes et moules à paraffine.

3. Expérimentation

Les expériences ont été mené sur 21 lapins mâles de 3 mois d'un poids qui varie entre 2,2 et 2,7 ,ils ont été sélectionnés et placer dans des cages spéciales aménagées à l'élevage cunicol et répartis en 4 groupes, un groupe témoin et 3 groupes traité par les huiles essentielle (Figure 27) .Chaque groupe traité est constitué de deux lot .

- Groupe 1 : témoin
- Groupe 2 : traite par Sauge officinale
 - Lot 1 : L'administration de la première dose (D1=100µl/kg)
 - Lot 2 : L'administration de la deuxième dose (D2=200µl/kg)
- Groupe 3 : traite par Romarin à verbénone
 - Lot 3 : L'administration de la première dose (D1=100µl/
 - Lot 4 : L'administration de la deuxième dose (D2=200µl/kg)
- Groupe 4 : traite par Menthe poivre
 - Lot 5 : L'administration de la première dose (D1=100µl/kg)
 - Lot 6 : L'administration de la deuxième dose (D2=200µl/kg)

Avant de commencer l'expérimentation, les animaux ont été laissés une semaine d'adaptation dans le nouveau milieu (clapiers de l'ITMAS) à fin d'éviter l'effet du stress.



Figure 27: Lapins placés en groupes dans des cages spéciales

4. Protocole expérimentale

4.1 Pesé et administration des huiles

Après une semaine d'adaptation les lapins des différents lots ont été pesés à l'aide d'une balance à précision (J0) puis soumis à un traitement de différentes doses d'huiles essentielles : Sauge officinale ,Romarin à verbénone et la Menthe poivrée , le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale (Figure 28) .En effet le lot des lapins témoins n'a pas reçue de traitement à l'huile essentielle . Cette opération à dure 15 jours .

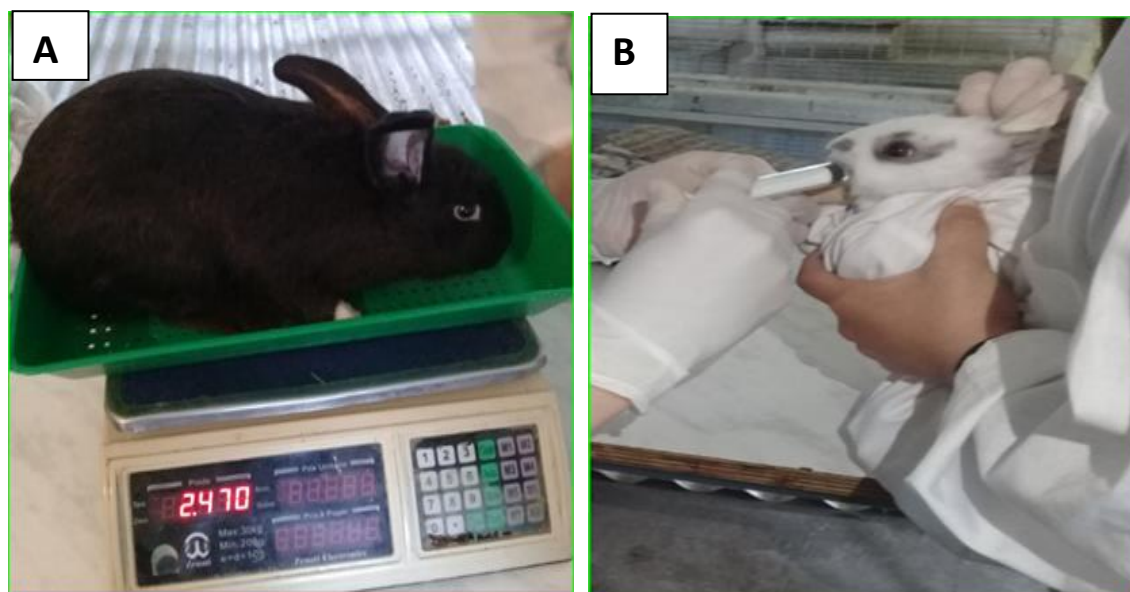


Figure 28: Pesé et l'administration des huiles essentielles aux lapins

A : Prise du poids des lapins ; **B :** Traitement des lapins

4.2 . Sacrifice et prélèvement des organe

Une semaine après l'administration de huile les animaux ont été peser (J7), puis sacrifié par décapitation la matinéentre 9 H : 00 et 12H : 00 au niveau de laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre à l'université Mouloud Mammeri-Tizi Ouzou, et le sang à été immédiatement recueilli dans des tubes secs et congelé à -4°C pour le dosage des paramètres biochimiques.

Ensuit les organes génitaux (testicules et l'épididyme) ainsi d'autre glande (surénales, foie , thyroïde, rein) ont été prelever après avoir disséquer l'animal, puis les organes ont été dégressé et pesé à l'aide d'une balance de précision de 0,01g, et le volume a été déterminer dans des tubes gradués par la mesure du volume d'eau déplacer à l'immerssion de l'organe dans une éprouvette graduée contenant un volume d'eau initiale connu (Figure 29).

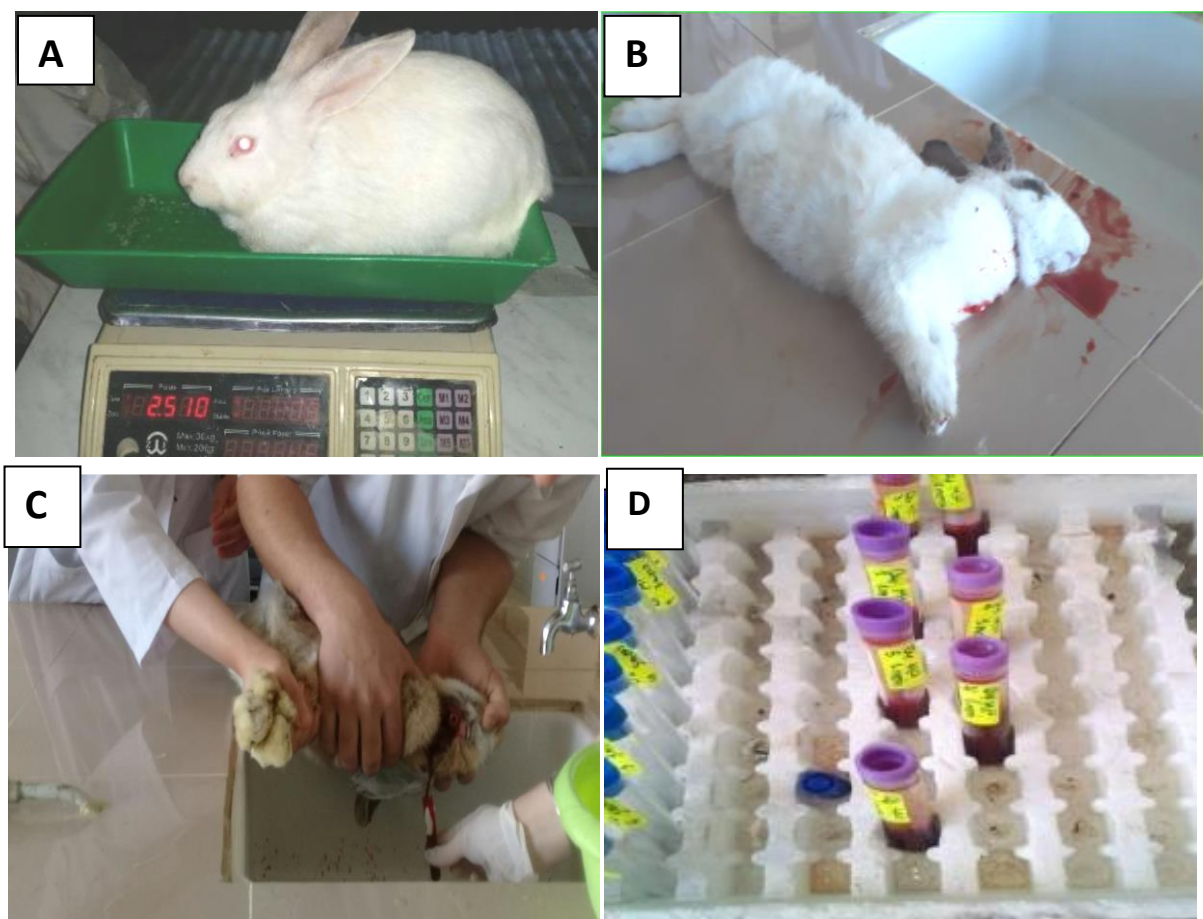


Figure 29: Lapin sacrifié et prise du sang après la prise du poids)

A: Prise du poids des lapins; **B:** Sacrifice des lapins **C** Prise du sang; **D:**Le sang recueilli dans les tubes secs.

Les testicules et glandes surrénales gauche ont été fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules et glandes surrénales droites sont placés dans des cryotubes et congelés à -20°C , jusqu'à leur utilisation ultérieure (Figure 30).

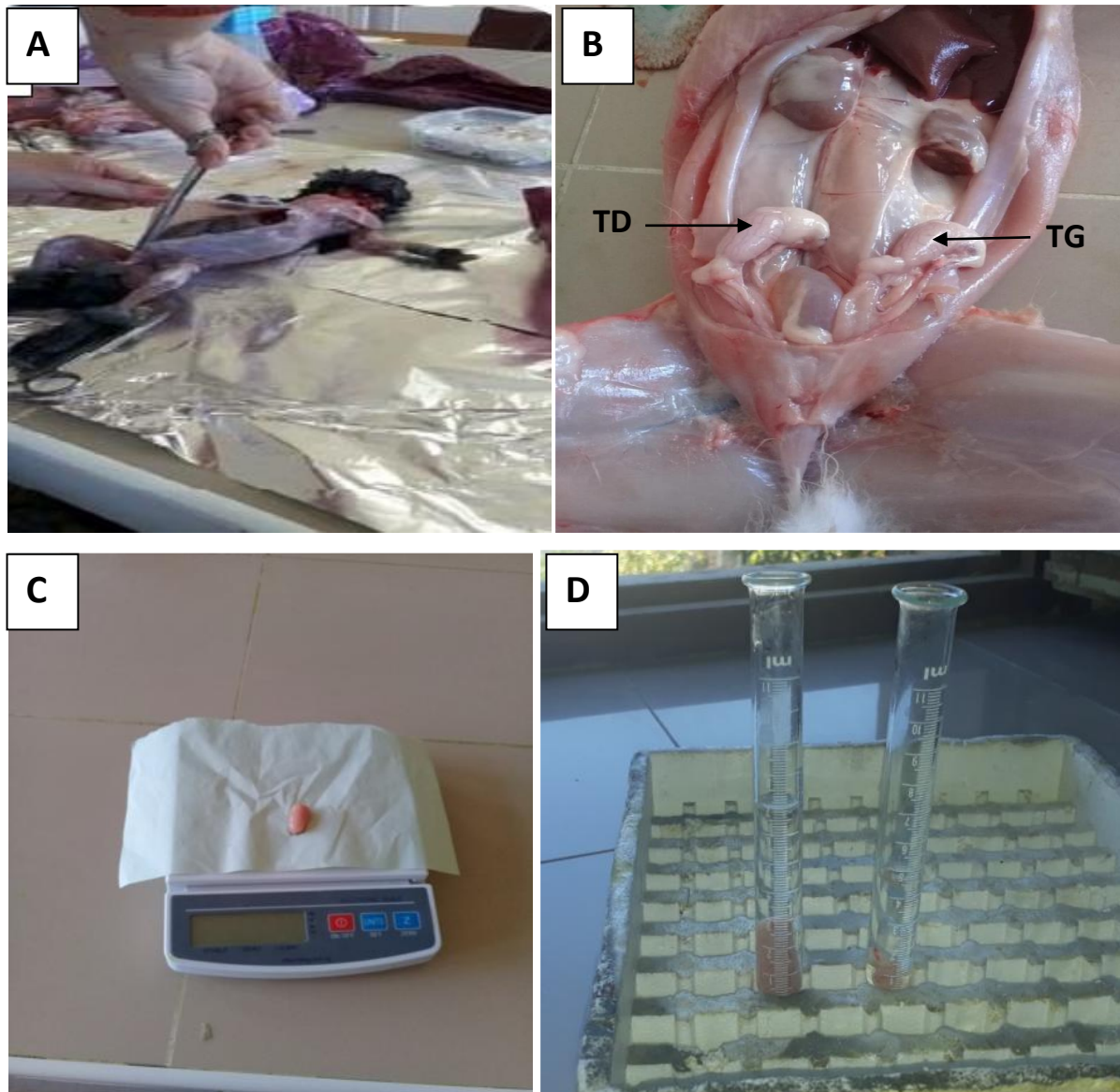


Figure 30 : **A** : Photographie d'une dissection d'un lapin mâle ; **B** : Présentation de gonades du lapin lors du sacrifice ; **C** : Détermination du poids du testicule ; **D** : Détermination du volume

5. Etude histologique

L'étude histologique est une étude importante qui permet une observation microscopique des tissus, elle se réalise en suivant certaines étapes spécifiques qui ont été mises en évidence par Martoja et Martoja (1967) dont : la fixation des échantillons, déshydratation et

éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes et collage, déparaffinage et réhydratation, coloration topographique, observation des lames.

5.1. Fixation

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes permettant de pratiquer ultérieurement certaines manipulations avec un minimum de dommages pour les structures cellulaires. 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 de l'attaque bactérienne ou encore de celle des enzymes.

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 a été utilisé. Les organes ont été 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 (Figure 31). Les organes ont été maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante.

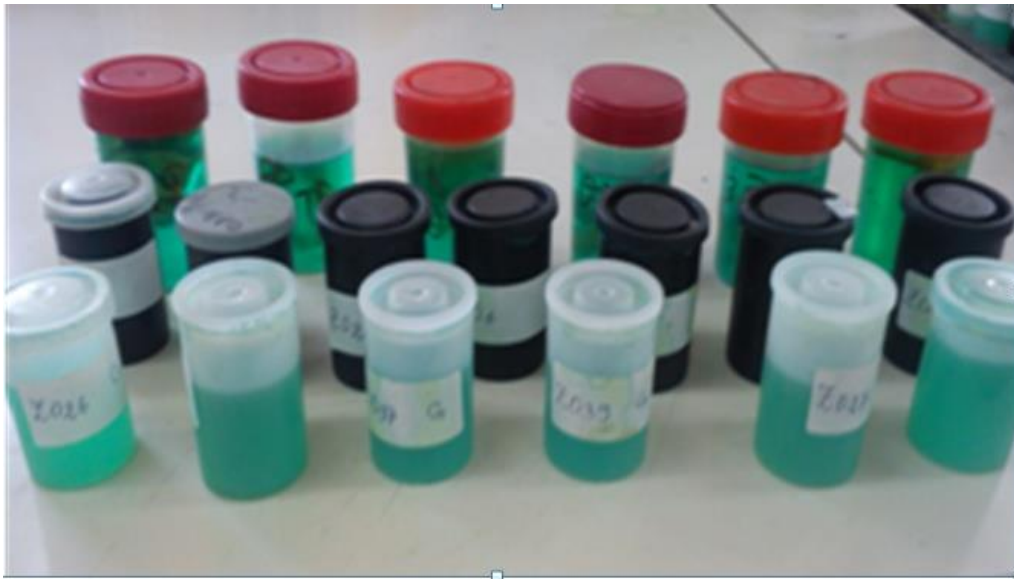


Figure 31: Piluliers de fixateur contenant les organes

5.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation est la suppression de toute l'eau (milieu de prolifération bactérienne) contenue dans l'organe, ce qui va permettre l'inclusion de l'échantillon dans la paraffine.

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, une série de bains d'alcool éthylique à des degrés croissant (50°, 70°, 80°, 90°, 100°) a été utilisée, pendant 40 minutes 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 (Figure 32).

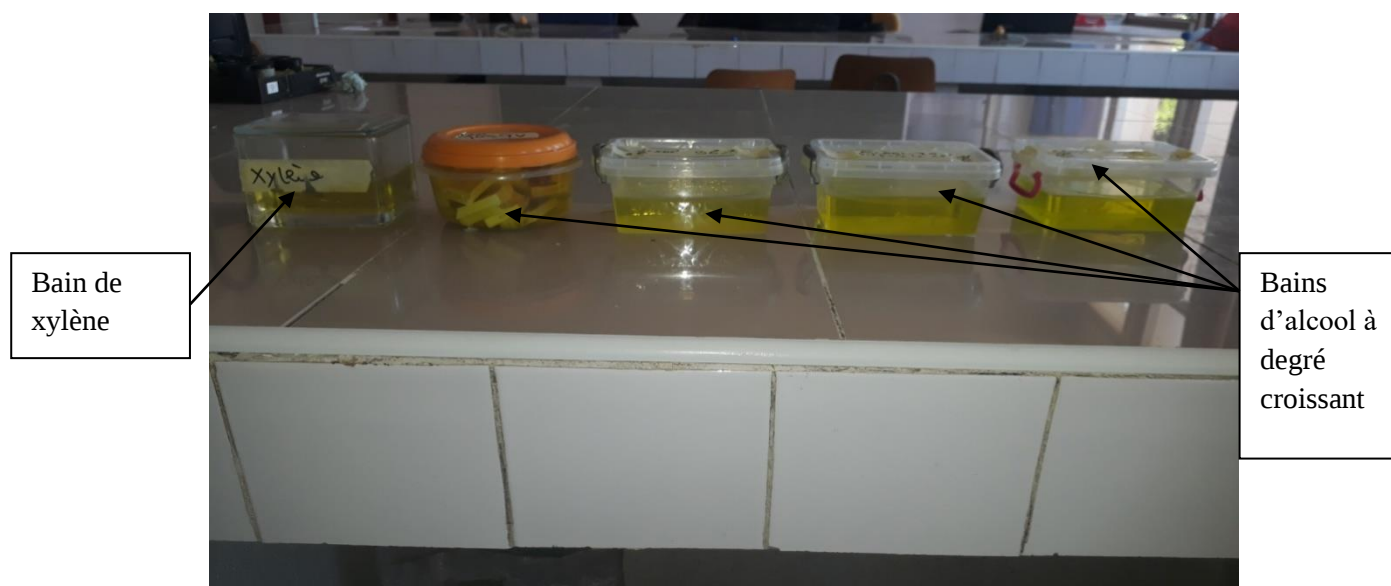


Figure 32: Série de bain d'alcool éthylique

5.3. Imprégnation

L'imprégnation consiste à plonger les organes dans 3 bains successifs de paraffine, de 40 minutes pour chaque bain à 60°C, immédiatement après les bains de xylène. 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. Un séjour prolongé des pièces dans le deuxième bain ne présente aucun inconvénient, à condition que la température ne dépasse pas 60°C.

Les deux opérations, déshydratation et imprégnation ont été réalisées au niveau de laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestres. De l'université Mouloud Mammeri.

5.4. Inclusion

L'inclusion est l'opération qui consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C. Les organes ont été placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes respectives, identifiant chaque échantillon ont été placées à la surface

des moules avant de faire couler la paraffine jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante (-10 à -15°C) (Figure 33).



Figure 33 : Organe placé dans des moules a paraffine

5.5. Confection des coupes et collage

Des coupes fines de 2 à 5 μ m d'épaisseur ont été réaliser sur les blocs d'organes, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica au niveau de laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou (Figure 34). Les coupes ont été récupérées sur des lames porte-objet propres qui ont été incubées pendant une heure à 60°C dans une étuve a fin de fixe l'échantillon.



Figure 34 : Microtome et Bain Marie

5.6. Déparaffinage et réhydratation

Avant de procéder à la coloration des lames ont été déparaffiner et 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. Il est suivi d'une réhydratation. Le schéma est une séquence inverse de celle de la déshydratation (Figure35). Il consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à de degrés décroissants (100°, 90°, 80°, 70°).



Figure 35: Les bains de xylène de la circulation

5.7. Coloration topographique

Pour la coloration de nos échantillons la coloration topographique de Trichrome de Masson (Figure36) a été utilisée. 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.

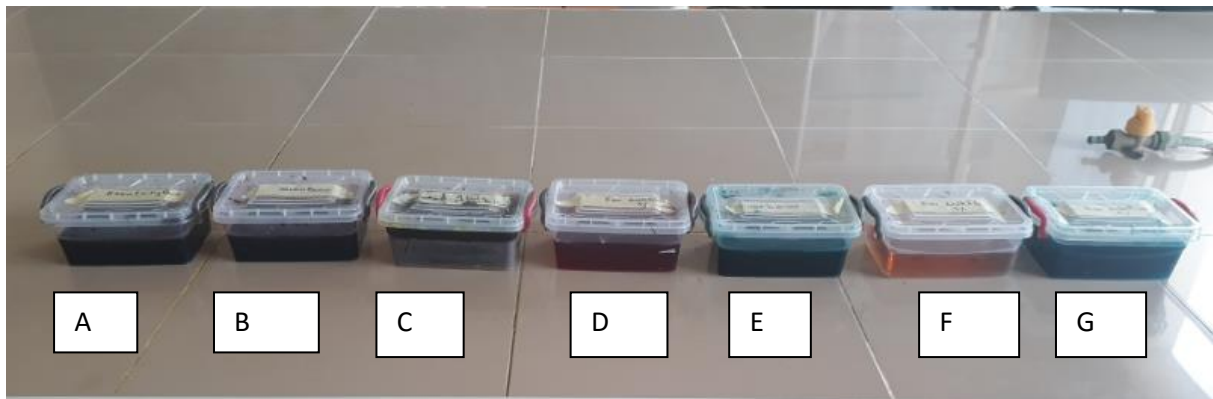


Figure 36 : Une série d'une coloration topographique

A : Hématoxyline ; **B :** Fuschine Ponceau ; **C:** Eau Acétifiée ; **D :** Acide Phosphomolybdique ; **E :** Eau Acétifiée ; **F :** Vert Lumière ; **G :** Eau Acétifiée

5.8. Observation des lames

Pour l'observation des lames un microscope photonique de type OPTICA, équipé d'une caméra de type 1,3M pixels, CMOS, USB 2.0 , a été utiliser ce qui a permis de réaliser des photographies à partir des échantillons qui ont été effectuée au sein de laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

Les lames obtenues par la technique histologique ont été observées au microscope photonique dans le but de rechercher toute modification histologique et histochimique des structures étudiées.

Des photographies ont été prises grâce à un appareil photo numérique, de ce fait le grossissement de l'observation change et 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

1.7. Etude statistique

Les variables poids vifs, poids et volume des testicules et 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, suivie par la valeur de l'erreur standard à la moyenne «ESM ».

La validité statistique des différences entre les moyennes a été évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logiciel 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

Ce travail porte sur les effets des huiles essentielles Sauge officinale, Romarin à verbénone et Menthe poivrée à différentes doses sur la fertilité des lapins mâles de la souche synthétique en déterminant les poids corporels, les poids et volumes testiculaires des lapins âgés de 3 mois, ainsi qu'une étude histologique des structures testiculaires.

1. Résultats

Les résultats porteront sur les paramètres macroscopiques (le poids corporel, le poids et volume du testicule) et les paramètres microscopiques (étude histologique).

1.1 Résultat de l'étude macroscopique

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérimentation avant (J0) et après l'administration des huiles essentielles (J7) qui ont permis de déterminer les effets des trois huiles utilisées sur le développement pondérale des lapins.

1.1.1 Poids corporel

Le poids corporel en kilogramme (kg) est exprimé par la valeur moyenne $\pm$ l'erreur standard liée à la moyenne (ESM).

1.1.1.1 Poids corporel des animaux traités par la Sauge officinale

Le poids corporel des lapins âgés de 3 mois avant (J0) et après (J7) l'administration de l'huile essentielle Sauge officinale à deux doses différentes D1 (100 μ l/Kg) et D2(200 μ l/Kg) est représenté dans la figure 37.

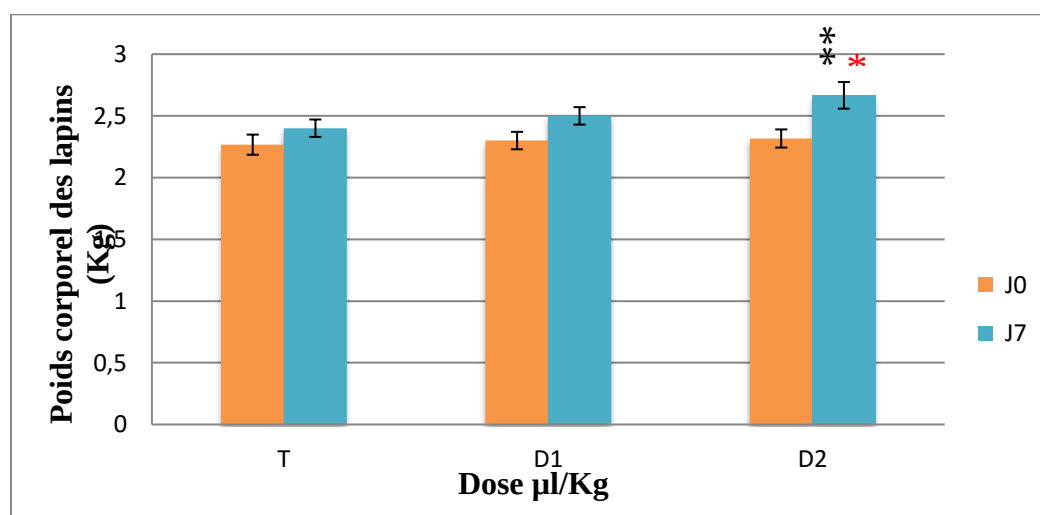


Figure 37 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par l'huile essentielle Sauge officinale.

T : Témoin ; D1 : 100 μ l/kg ; D2 : 200 μ l/kg ; J0 : Avant traitement ; J7 : Après traitement,

* Comparaison témoin - dose 2

* Comparaison dose-dose

L'huile essentielle Sauge officinale a induit chez les lapins mâles prépubères une augmentation du poids corporel entre J0 et J7. En effet la valeur moyenne du poids corporel des lapins augmente avec un écart de 0,14Kg chez les témoins, de 0,2 Kg chez le lot traité par la dose 1 et enfin de 0,35 Kg chez le lot traité par la dose2, dont l'écart est plus grand à la dose 2. Cette augmentation est peu significative ($P < 0,05$) entre D2(J0) et D2(J7).

Le poids corporel des lapins traités par la D1 et D2 dont les valeurs respectivement sont $2,5 \pm 0,071$ Kg et $2,67 \pm 0,108$ Kg, sont plus élevés que celles des témoins d'une valeur de $2,4 \pm 0,071$ Kg, avec une variation significative ($P < 0,02$) entre T et D2.

La comparaison de l'effet dose sur le poids a révélé que la Sauge induit une augmentation plus importante du poids corporel à la D2 par rapport à la D1 avec un écart de 0,17Kg.

1.1.1.2. Poids corporel des animaux traités par le Romarin à verbénone

Le poids corporel des lapins âgés de 3 mois avant (J0) et après (J7) l'administration de l'huile essentielle Romarin à verbénone à deux doses différentes D1 et D2 (100 μ l/kg et 200 μ l/kg) est représenté dans la figure 38.

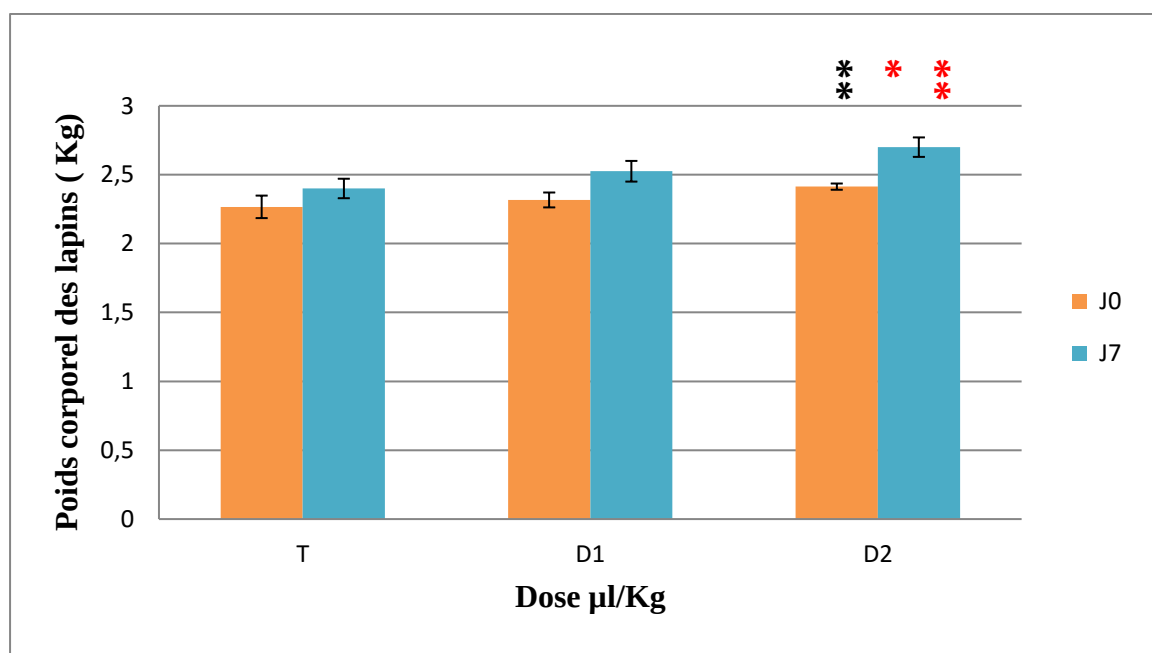


Figure 38: Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone.

T: Témoin ; D1: 100 μ l/kg ; D2: 200 μ l/kg ; J0 : Avant traitement ; J7: Après traitement,

* Comparaison témoin-dose

* Comparaison dose - dose

Après l'administration de l'huile essentielle Romain, la valeur moyenne du poids corporels des lapins mâles prépubères enregistre une augmentation progressive entre J0 et

J7. En effet le poids corporel a augmenté avec un écart de 0,14Kg chez les témoins, tandis que cet écart est de 0,21Kg chez les lapins traités par la D1 et de 0,29 Kg chez les lapins traités par la D2 qui est le plus important, dont la valeur est très significative ($P<0,01$) entre D2(J0) et D2(J7).

Le poids corporel des lapins augmente respectivement du lot témoin qui est de $2,4 \pm 0,071$ à $2,53 \pm 0,075$ Kg de ceux traités à la D1 jusqu'à $2,7 \pm 0,071$ Kg pour les traités à la D2, avec une différence très significative ($P<0,01$) entre la dose 2 et le témoin.

La comparaison de l'effet dose sur le poids a révélé que le Romarin induit une augmentation plus importante du poids corporel à la D2 par rapport à la D1 avec un écart de 0,17 Kg.

1.1.1.3 Poids corporel des animaux traités par la Menthe poivrée

Le poids corporel des lapins prépubères avant et après l'administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée à deux doses différentes ($100\mu\text{l/kg}$ et $200\mu\text{l/kg}$) est représenté dans la figure 39.

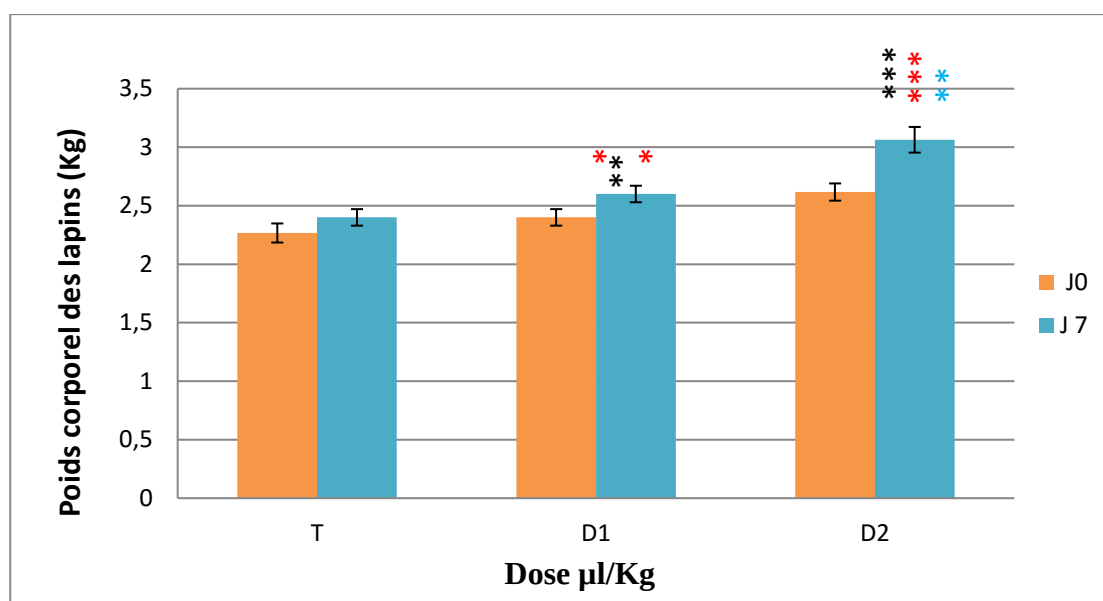


Figure 39 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : $100\mu\text{l/kg}$; D2 : $200\mu\text{l/kg}$; J0 : Avant traitement ; J7 : Après traitement,

*Comparaison J0 - J7

* Comparaison témoin- dose

*Comparaison dose – dose

Après une semaine d'administration de l'huile Menthe poivrée , le poids corporel des lapins enregistré durant notre expérimentation (J0) et (J7) augmente d'un écart de 0,14 Kg

chez le lot témoin, tandis que cet écart est de 0,20Kg chez le lot traité par la D1 et de 0,44Kg chez le lot traité par la D2, dont la valeur de l'écart est plus importante à la D2. Avec des variations significatives ($P < 0,02$) entre le lot de D1 (J0) et D1(J7) et très significatives ($P < 0,01$) entre le lot D2 (J0) et D2 (J7).

En effet la comparaison du poids corporel des témoins avec la valeur de $2,4 \pm 0,071$ Kg est plus faible par rapport au traités par la D1 et D2 dont les valeurs respectivement sont $2,60 \pm 0,071$ Kg et $3,24 \pm 0,110$ Kg, avec des différences significatives ($P < 0,02$) entre T et D1, et très significatives ($P < 0,01$) entre le T et D2.

D'autre par la comparaison de l'effet dose sur le poids corporel a révélé que la Menthe poivrée induit une augmentation plus importante du poids corporel à la D2 par rapport à la D1 avec un écart de 0,64 Kg qui est une valeur significative ($P < 0,02$).

1.1.1.4. Poids corporel comparaison entre les trois huiles

Le poids corporel des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose des trois huiles essentielles Sauge, Romarin, Menthe poivrée administrées est représenté dans la figure 40.

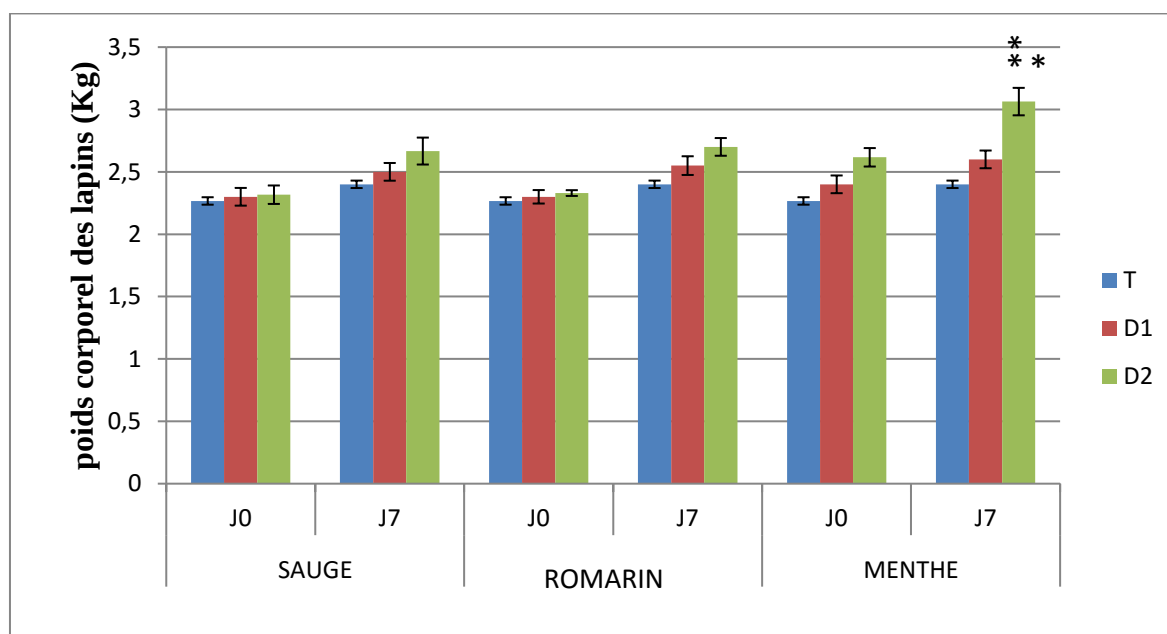


Figure 40 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge, Romarin et Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : 100µl/kg ; D2 : 200µl/kg ; J0 : Avant traitement ; J7 : Après traitement,
*Comparaison huile-huile

La comparaison entre les trois huiles essentielles Sauge, Romarin et la Menthe poivrée montre que la D2 (200 µl/kg) induit une augmentation plus importante du poids corporel des lapins mâles âgés de 3 mois par rapport à la D1 (100µl/kg) d'une part. D'autre part, les

lapins traités par la D1 montre des valeurs du poids corporel plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle Menthe poivrée, puis les lapins traités par l'huile essentielle Romarin, enfin ceux traités par l'huile essentielle Sauge.

Le poids corporel des lapins traités par les différentes huiles par la dose 2 de 200 $\mu\text{l/kg}$ ont des valeurs plus élevés chez ceux traités par la Menthe poivrée, suivie du Romarin enfin Sauge. Avec une différence peu significative ($P < 0,05$) entre Romarin et Menthe poivrée, et significative ($P < 0,02$) entre Sauge et Menthe poivrée.

1.1.2 Poids testiculaire

Le Poids du testicule en gramme est exprimé par la valeur moyenne $\pm$ l'erreur standard liée à la moyenne (ESM).

1.1.2.1 Poids testiculaire gauche et droit des lapins traités par les trois huiles

Les poids des testicules gauches et droits des lapins de 3 mois en fonction de la dose des 3 huiles essentielles Sauge, Romarin et Menthe poivrée administrées sont représentés dans la figure 41

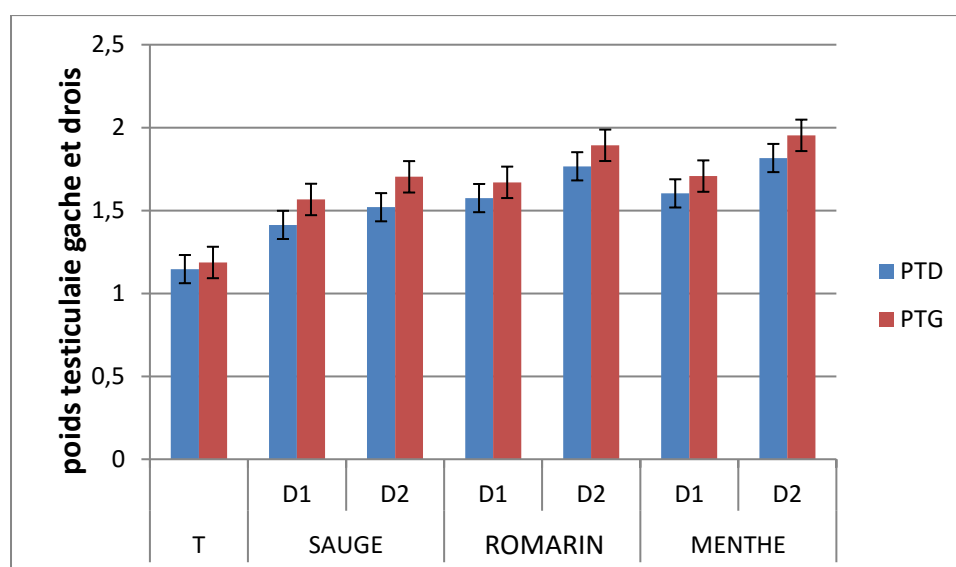


Figure 41 : Poids des testicules gauche et droit des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge, Romarin et Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : 100 $\mu\text{l/kg}$; D2 : 200 $\mu\text{l/kg}$; TG : testicule gauche ; TD : testicule droit

*comparaison huiles - huiles (D1)

* comparaison huiles - huiles (D2)

Le poids testiculaire des lapins prépubères de la souche synthétique présente une valeur plus importante au niveau du testicule gauche par rapport au testicule droit chez tous

les lot. Néanmoins l'écart entre eux est plus important chez le lot traité par la dose 2 de la Menthe poivrée qui est de 0,23g.

1.1.3 Poids testiculaire

Poids du testicule en gramme est exprimé par la valeur moyenne $\pm$ l'erreur standard liée à la moyenne (ESM).

1.1.3.1. Poids testiculaire totale des lapins traités par la Sauge officinale

Le poids total de testicule des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle Sauge officinale administré est représenté dans la figure 42.

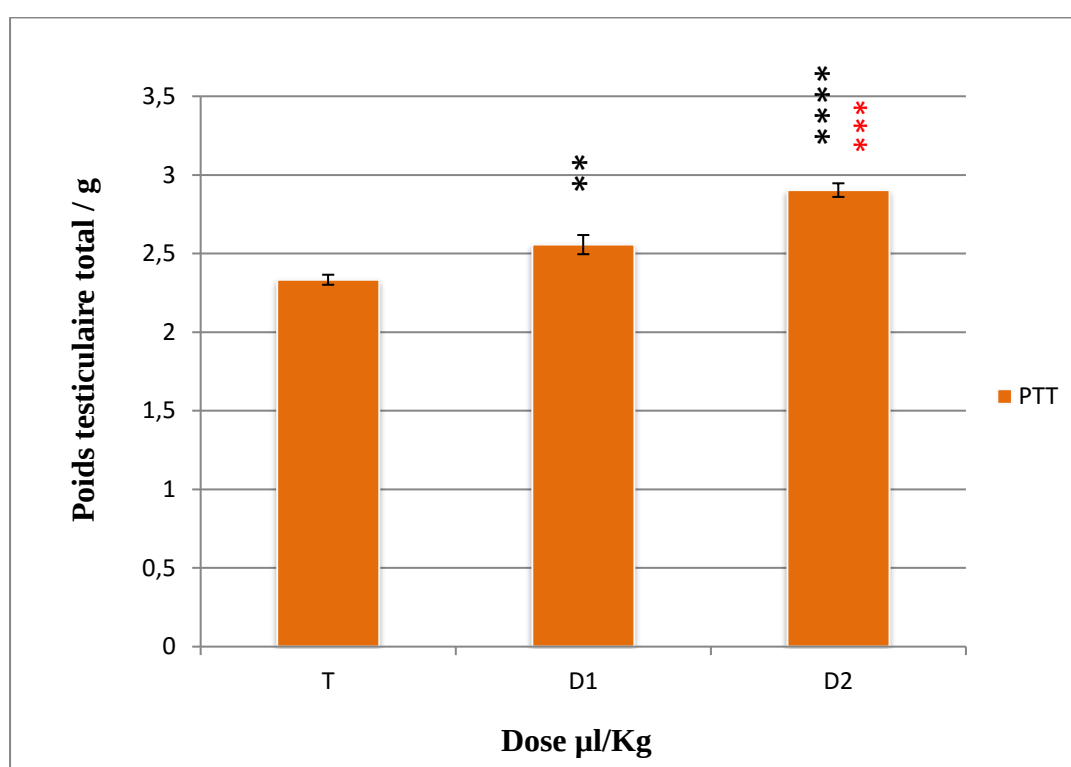


Figure 42: Poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge officinale
T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose2 ; **PTT :** Poids testiculaire total
 *Comparaison témoin – dose
 *Comparaison dose – dose

Les valeurs moyennes du poids du testicule total des lapins traités par l'huile essentielle Sauge officinale à deux doses (100µl/kg et 200µl/kg) sont supérieures à celles des lapins témoins dont la valeur est de $2,33 \pm 0,033$ g.

Cependant les animaux traités par la D2 ont une valeur plus élevée par rapport à ceux traités par la D1 qui ont les valeurs respectives de $2,90 \pm 0,043$ g et $2,56 \pm 0,061$ g. Ces

variations du poids testiculaire total sont significatives ($P<0,02$) entre T et D1, hautement significatives ($P<0,001$) entre T et D2 et très significatives ($P<0,01$) entre D1 et D2.

1.1.3.2. Poids testiculaire totale des lapins traités par le Romarin à verbénone

Le poids total de testicule des lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle Romarin à verbénone administré est représenté dans la figure 43

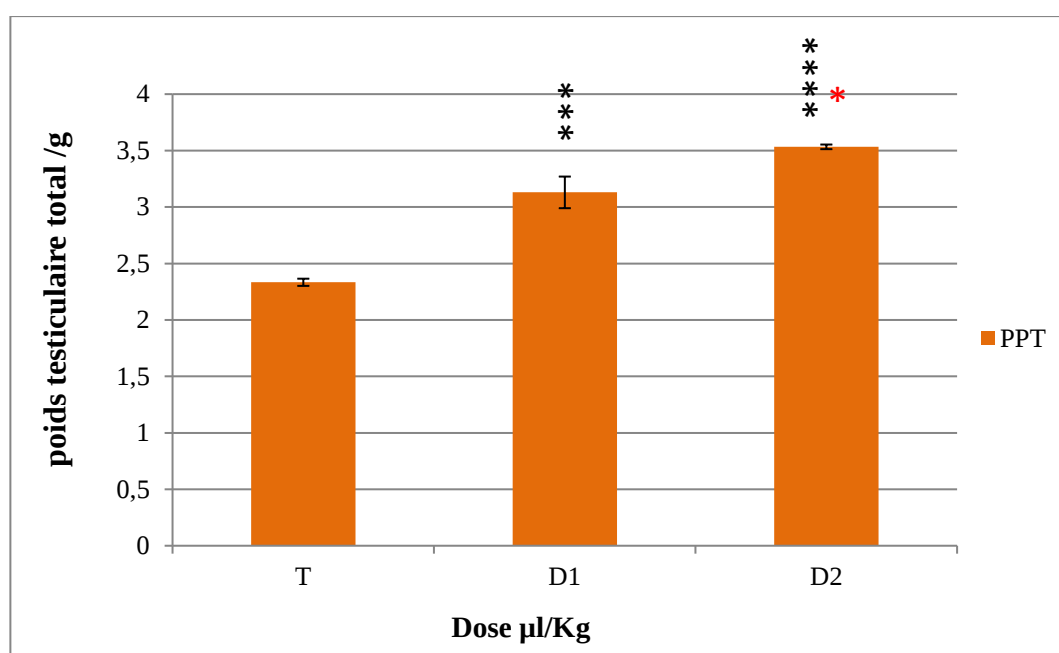


Figure 43 : Poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; PPT : Poids testiculaire total

* Comparaison témoin et dose

* Comparaison dose-dose

La valeur moyenne du poids total du testicule des lapins traités par la D1 et D2 est plus importante que les témoins dont la valeur est $2,33 \pm 0,032$ g.

Cependant les animaux traités par la D2 ont une valeur plus élevée par rapport à ceux traités par la D1 qui ont les valeurs respectives de $3,53 \pm 0,020$ g et $3,13 \pm 0,140$ g avec des différences très significatives ($P<0,01$) entre T et D1, hautement significatives ($P<0,001$) entre T et D2 et peu significatives ($P<0,05$) entre D1 et D2.

1.1.3.3. Poids testiculaire totale des lapins traités par la Menthe poivrée

Le poids total du testicule pour les lapins prépubères en fonction de la dose de l'huile essentielle Menthe poivrée administré est représenté dans la figure 44.

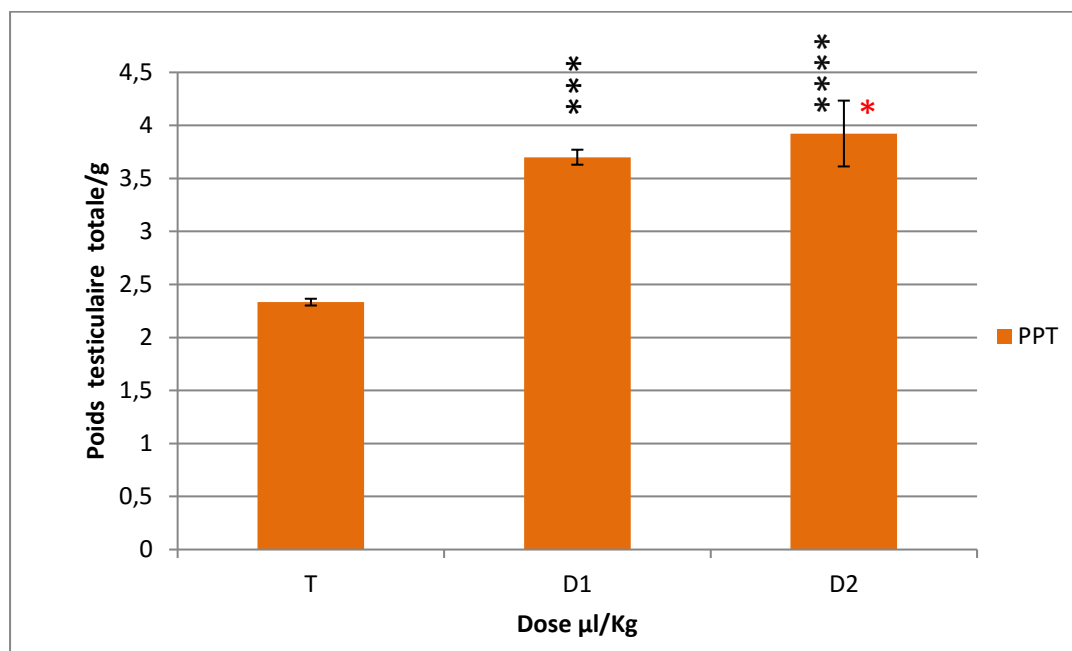


Figure 44: Poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; PTT : Poids testiculaire total

* Comparaison témoin et dose

* Comparaison dose-dose

Les valeurs moyennes du poids du testicule total des lapins traités par l'huile essentielle Saugue officinale à deux doses (100μl/kg et 200μl/kg) sont supérieures à celles des lapins témoins dont la valeur est de $2,33 \pm 0,032$ g

Cependant les animaux traités par la D2 ont une valeur plus élevée par rapport à ceux traités par la D1 qui ont les valeurs respectives de $3,92 \pm 0,310$ g et de $3,70 \pm 0,071$. Ces variations sont très significatives ($P < 0,01$) entre T et D1, hautement significatives ($P < 0,001$) entre T et D2 et peu significatives ($P < 0,05$) entre D1 et D2.

1.1.3.4. Poids testiculaire totale comparaison entre les huiles

Le poids totale des testicules des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose des trois huiles essentielles administrées Saugue, Romarin et Menthe poivrée est représenté dans la figure 45.

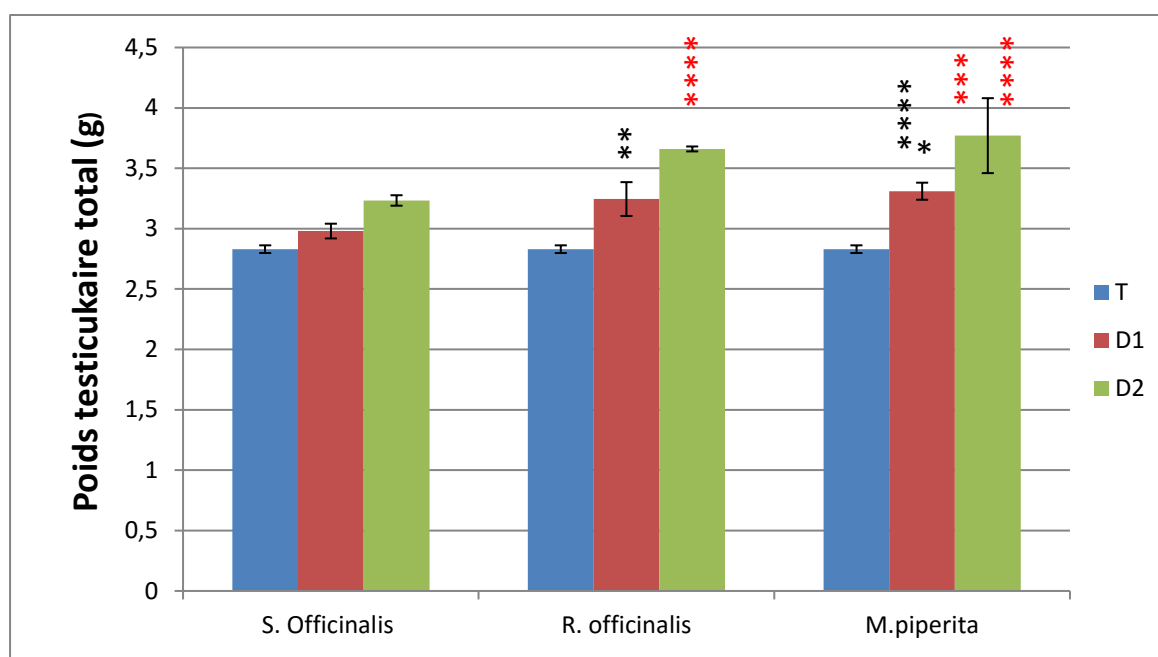


Figure 45 : Poids total des testicules des lapins prépubères traités par les différentes huiles Sauge , Romarin et Menthe poivrée
T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose 2 ;
 * Comparaison huile- huile (D1)
 * Comparaison huile – huile (D2)

Les poids des testicules des lapins traités par la Sauge ont des valeurs plus faibles à ceux traités par le Romarin, qui a leur tour ont une valeur faible que ceux traités par la Menthe, avec un écart important entre la Sauge et Romarin, ainsi que entre Sauge et Menthe poivrée des lapins traités par la D2 d'où les valeurs respectivement sont 0,63 g et 1,02g. Ces variations sont significatives entre la D1 de la Sauge et Romarin ($P < 0,02$), hautement significatives entre D1 de la Sauge et Menthe poivrée ($P < 0,001$), et peu significatives entre D1 Romarin et Menthe poivrée ($P < 0,05$).

D'autre part la Menthe poivrée à la dose 2 induit à un effet plus marqué sur le poids des testicules totales que le Romarin et la Sauge, avec des différences hautement significatives entre la Sauge et le Romarin ($P < 0,001$) ainsi entre la Sauge et la Menthe poivrée ($P < 0,001$), et très significatives ($P < 0,02$) entre Romarin et la Menthe poivrée.

1.1.4 Poids testiculaire relatif à 100 g de poids corporel

1.1.4.1 Lapins traités par la Sauge officinale

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par l'huile essentielle Sauge officinale sont représentés dans la figure 46.

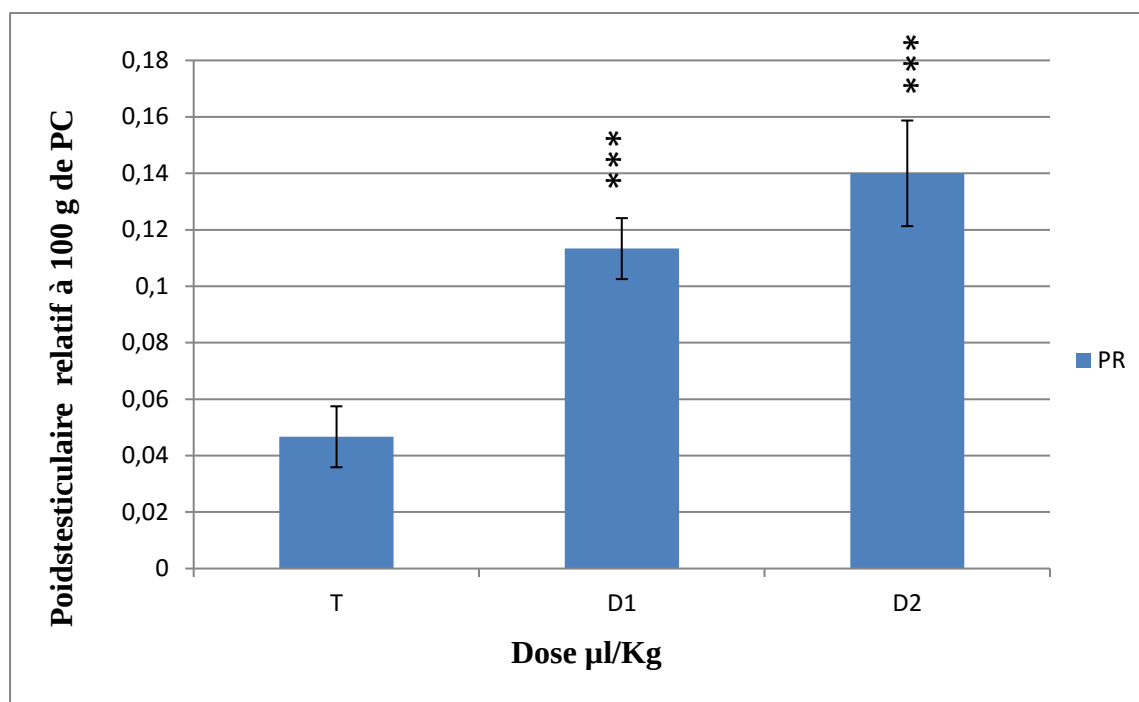


Figure 46 : Poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Sauge officinale

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; PR : Poids relatif

*Comparaison témoin et dose

Le poids testiculaire relatifs à 100 g du poids corporel présente une valeur plus importante chez les lapins traités par rapport au témoin, d'où la valeur du poids relatif augmente d'un écart de 0,066 entre les lapins témoins et ceux traité par la D1, tandis que cet écart est de 0,093 entre les témoins et les traité par la D2, cette augmentation est très significative ($P < 0,01$) entre témoin et D1 et entre témoin et D2.

1.1.4.2 Lapins traités par le Romarin à verbénone

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle Romarin à verbénone administrée sont représentées dans la figure 47

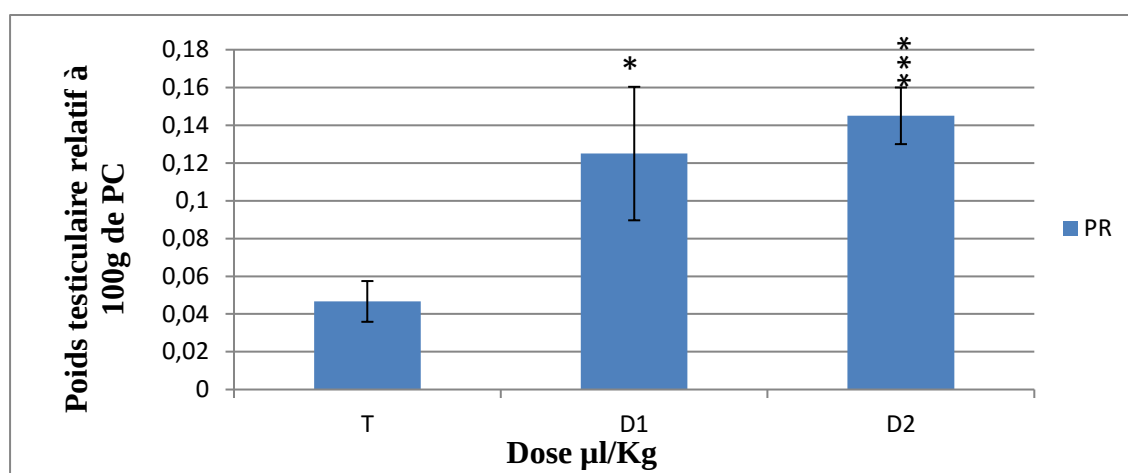


Figure 47 : Ppoids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; PR : Poids relatif

* Comparaison témoin- dose

Les valeur du poids relatif des lapins traités par la dose 2 est supérieurs à ceux traités par la dose 1 qui est supérieure au témoin, avec un de écart de 0,078 entre les lapins témoins et ceux traité par la D1 et de 0,098 entre les témoins et les traité à la D2, avec une valeur peu significative ($P < 0,05$) entre témoin et ceux traités par la dose 1 et très significative ($P < 0,01$) entre les témoin et ceux traités par la dose 2

1.1.4.3. Lapins traités par la menthe poivrée

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100g de poids corporel des testicules des lapins prépubère en fonction de la dose de l'huile essentielle menthe poivrée administrée sont représentées dans la figure 48

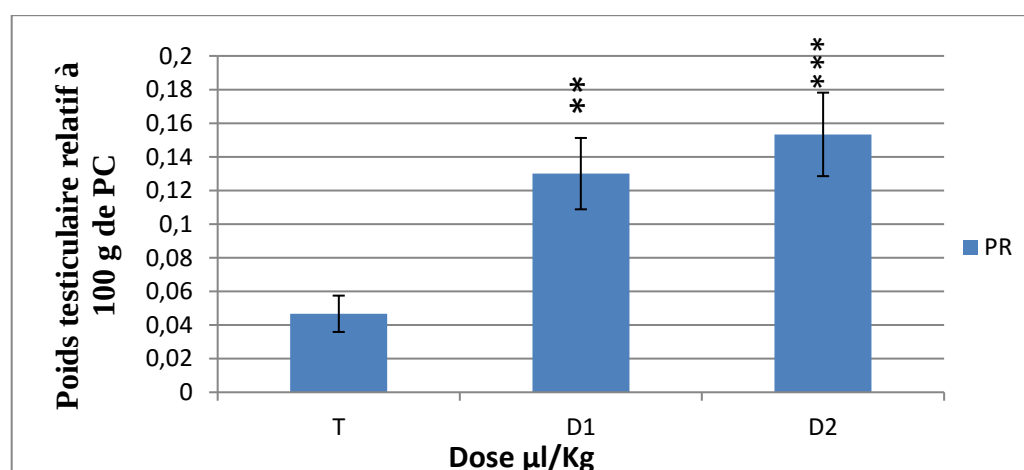


Figure 48 : Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2; PR : Poids relatif

* Comparaison témoins – dose

Le poids relatif des lapins témoins présente une valeur faible par rapport à ceux traités, cependant les animaux traités par la D2 ont une valeur plus importante que ceux traités par la D1, où cette valeur augmente avec un écart de 0,083 entre les lapins témoins et ceux traités par la D1 et de 0,103 entre les témoins et les traités à la D2. Avec des différences significatives ($P < 0,02$) entre le témoin et la dose 1 et très significatives ($P < 0,001$) entre témoin et dose 2.

1.1.4.4. Poids relatif des lapins traité par les 3 huiles essentielles

Le poids relatif des lapins âgés de 3 mois en fonction de dose des trois huiles essentielles Sauge, Romarin et Menthe poivrée administrées est représenté dans la figure 49

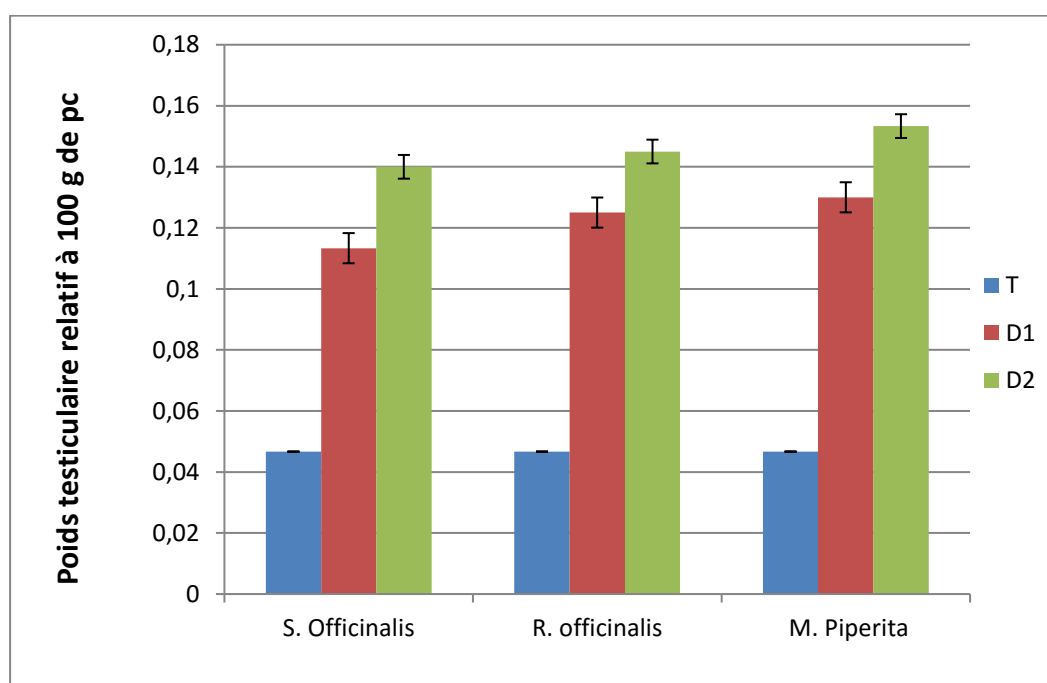


Figure 49 : Poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois traité par les trois huiles Sauge officinale Romarin à verbénone et Menthe poivrée.
T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2

Le poids relatif des testicules à 100g de poids corporel présente des valeurs plus importantes chez les lapins traités par la Menthe poivrée puis par le Romarin à verbénone enfin ceux traités par la Sauge officinale.

1.1.5. Volume testiculaires

Le volume total des testicules (VTT) en millilitre (ml) est exprimé par la valeur moyenne $\pm$ l'erreur standard liée à la moyenne (ESM).

1.1.5.1 .Volume testiculaires des lapins traités par la sauge officinale

Le volume total de testicule des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle Sauge officinale administrée est présenté dans la Figure 50.

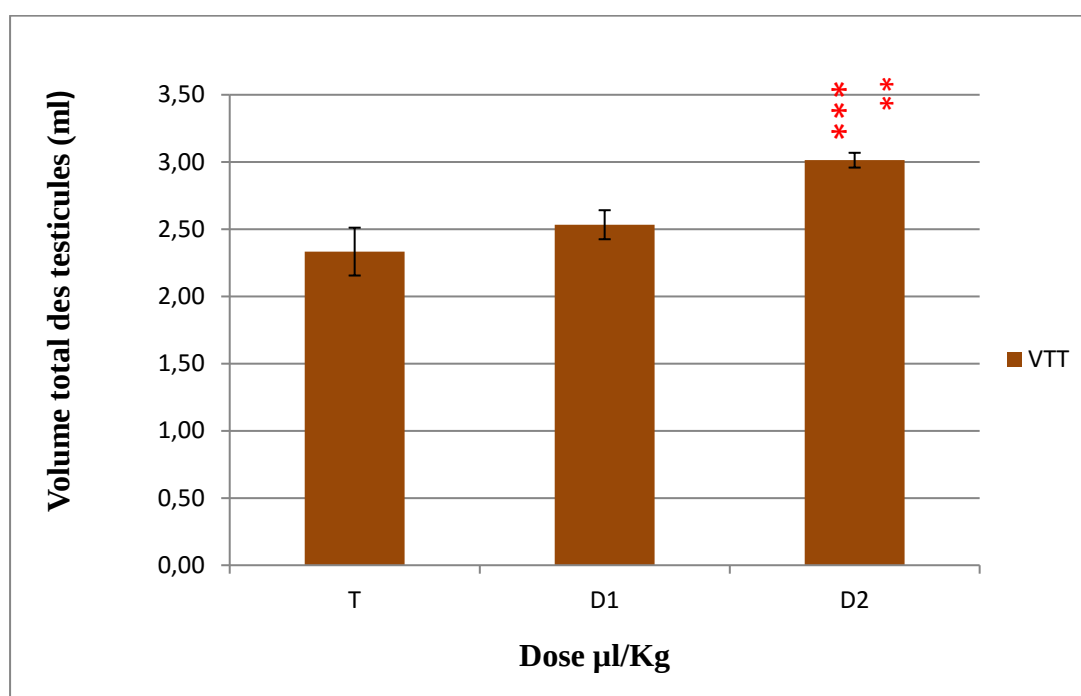


Figure 50: Volume totale des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par d'huile essentielle Sauge officinale.

T : Témoin ; D1 : 100µl/kg ; D2 :200µ/kg ;VTT : Volume testiculaire total

*Comparaison témoin - dose

La valeur moyenne du volume des testicules des lapins en fonction de la dose d'huile essentielle « Sauge officinale » administrée est de $2,33 \pm 0,178$ ml chez le lot témoin , de $2,53 \pm 0,108$ ml chez le lot traité par la première D1 et de $3,01 \pm 0,055$ ml chez le lot traité par la D2 , d'où nous avons constaté que cette valeur est plus élevée chez les traités par rapport au témoins et la D2 par rapport a la D1, avec une différence très significative ($P < 0,01$) entre T et D2, et significative ($P < 0,02$) entre D1 et D2

1.1.5.2 .Volume testiculaires des lapins traités par le Romarin à verbénone

Le volume testiculaire total des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle Romarin à verbénone administrée est représenté dans la figure 51.

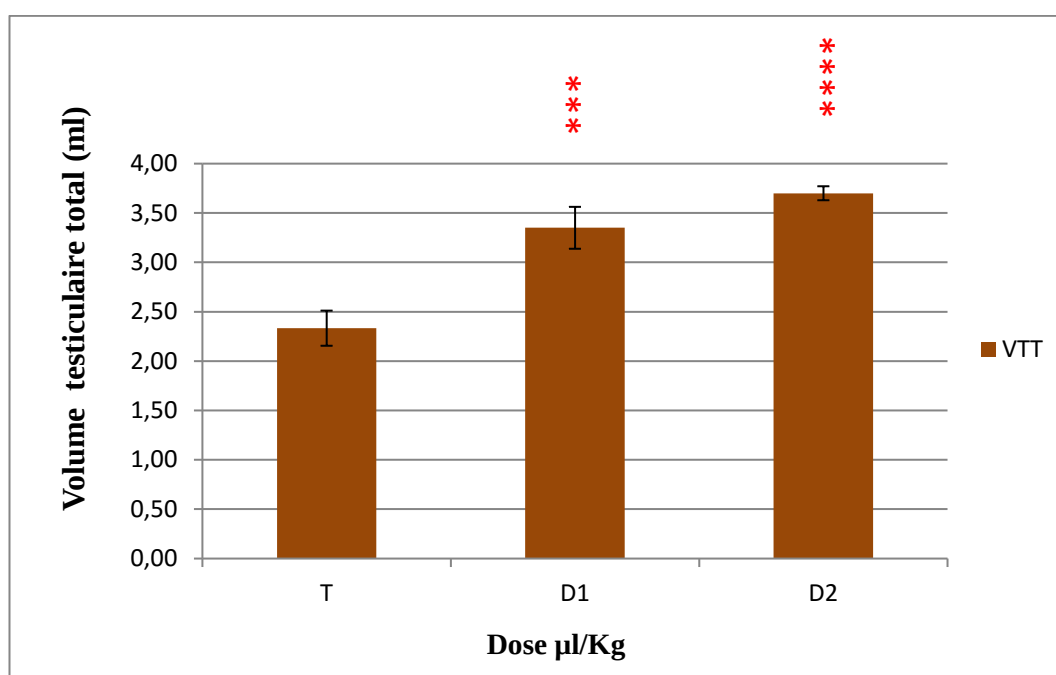


Figure 51 : Volume des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par le Romarin à verbénone

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 VTT : Volume Total Testiculaire

*Comparaison témoin et dose

La valeur moyenne du volume testiculaire des lapins prépubères traités par l'huile essentielle Romarin a verbénone est de $2,33 \pm 0,0178$ ml chez le lot témoin alors que chez ceux traités par la D1 est de $3,35 \pm 0,212$ ml et de $3,70 \pm 0,071$ ml chez ceux traités par la D2 , d'où nous avons constaté que cette valeur est plus élevée chez les traités par rapport au témoins et la D2 par rapport à la D1, avec une différence très significative entre les témoins et D1 ($P < 0,01$) et hautement significative entre les témoins et D2 ($P < 0,001$) .

1.1.5.3 .Volume testiculaires des lapins traités par la Menthe poivrée

Le volume total testiculaire des lapins âgés de 3mois en fonction de la dose de l'huile essentielle Menthe poivrée administrée est représenté dans la figure 52

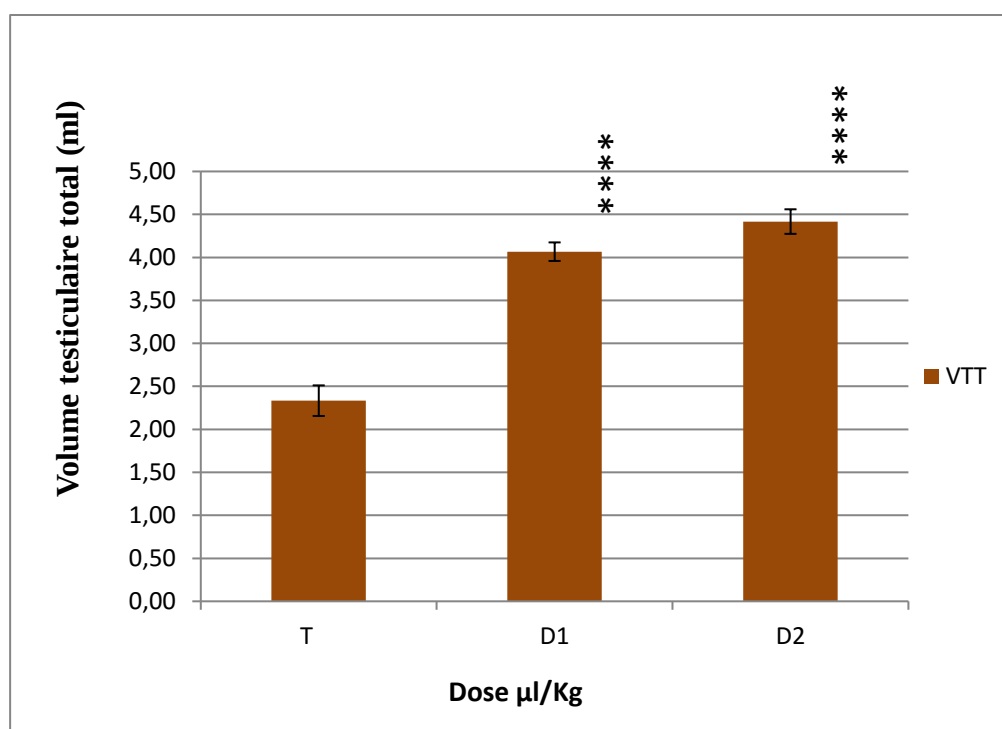


Figure 52 : Volume des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par la Menthe poivrée
T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose 2 ; **VTT :** Volume Total Testiculaire
 * Comparaison témoin et dose

Les valeurs moyennes du volume des testicules des lapins traités par la D1 et D2 de l'huile essentielle Menthe poivrée sont respectivement de $4,07 \pm 0,108$ ml et $4,42 \pm 0,143$ ml qui sont plus élevés par rapport à la valeur des témoins qui est de $2,33 \pm 0,178$ ml.

Ces variations sont hautement significatives entre les T et D1 ($P < 0,001$), et entre T et D2 ($P = 0,001$).

1.1.5.4. Comparaison entre les huiles

Le volume total des testicules des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose des trois huiles essentielles administrée (Sauge, Romarin, Menthe poivrée) est représenté dans la figure 53.

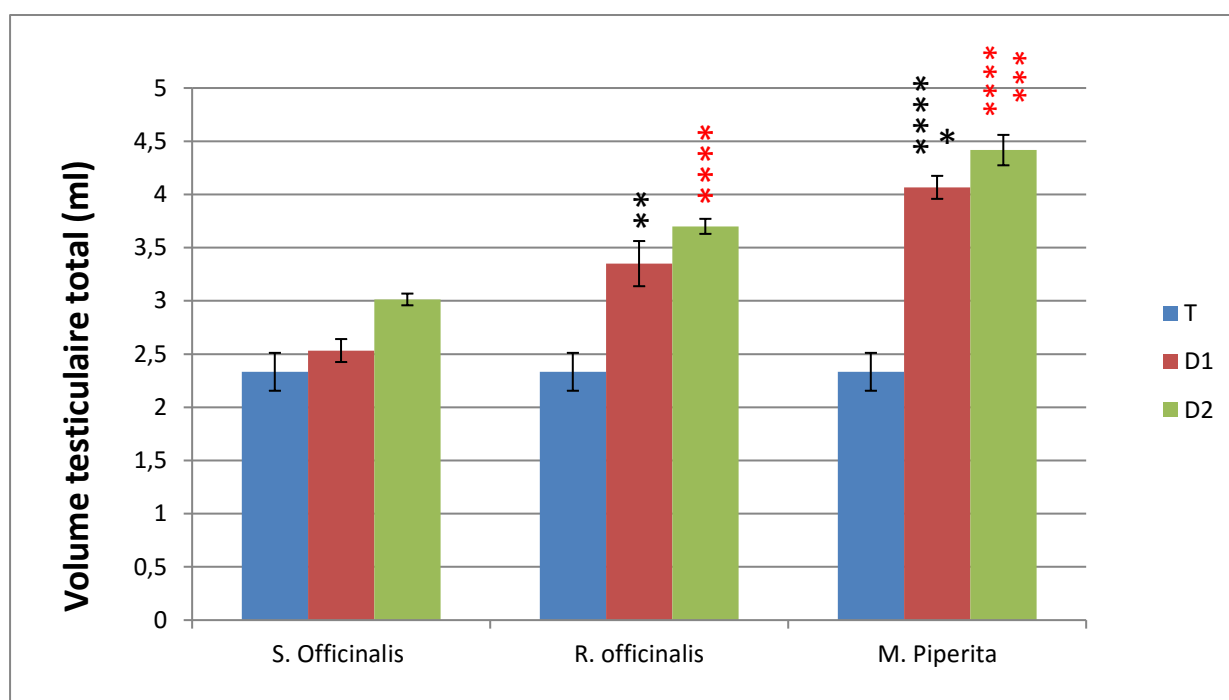


Figure 53 : Volume des testicules des lapins âgés de 3 mois traités par les trois huiles

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2

*Comparaison huile – huile (D1)

*Comparaison huile – huile (D2)

Les trois huiles essentielles Sauge, Romarin et Menthe poivrée induisent chez le lapin mâle prépubère une augmentation importante du volume testiculaire par rapport au témoin en fonction de la dose administrée

En effet les valeurs du volume testiculaire chez les lapins traitées par les 2 doses sont plus élevées respectivement chez le lot traité par la Menthe poivrée puis ceux traitées par le Romarin enfin ceux traitées par la Sauge, néanmoins la valeur de la D2 est toujours supérieure à celle de la D1

Ces variations sont significatives ($P < 0,02$) entre la D1 de la Sauge et D1 du Romarin , hautement significative ($P < 0,001$) entre la D1 de la Sauge et la D1 de la Menthe poivrée, et peu significative ($P < 0,05$) entre D1 du Romarin et D1 de la Menthe poivrée d'une part.

D'autre part, ces valeur sont hautement ($P < 0,001$) significative pour la D2 entre la Sauge et le Romarin ainsi la Sauge et la Menthe poivrée et très significative ($P < 0,01$) entre la D2 du Romarin et D2 de la Menthe poivrée.

1.2. Résultat de l'étude microscopique

Etude microscopique porte sur les changement des structures histologiques du testicule sous l'effet d'administration des huiles essentielles Sauge officinal, Romarin, Menthe poivrée à deux doses différentes.

1.2.1. Étude histologique des structures testiculaires des lapins témoin

L'observation des coupes histologiques des testicules des lapins âgés de 3 mois du lot témoin révèle des tubes séminifères dépourvue d'une lumière avec une paroi formée d'un épithélium comprenant, des cellules de Sertoli à noyau triangulaire, des cellules de la lignée germinale : spermatogonies à noyaux ronds et condensés organisées en couches de cellules occupant la périphérie du tube, spermatocytes I à noyaux volumineux et chromatine décondensée grossiers, de nombreuses cellules de petite taille qui sont les spermatides ronds. Ces tubes sont entourés par un tissu conjonctif inter tubulaire, riche en cellules péritubulaires à noyau aplatis et de cellules de Leydig à noyaux arrondis(Planche 1T).

1.2.2. Étude histologique des structures testiculaires des lapins traités par la Sauge officinal

Les structures histologiques des tubes séminifères des lapins traités par l'huile essentielle Sauge par la dose 1 (100µl/Kg) est la même que celle des témoins ,avec augmentation de nombre des spermatides rondes et apparition des 1^{er} spermatides allongés avec un petit noyau, effilé et très dense dans certain tubes séminifères (Planche 1D1).

Tandis que le lot traité par la dose 2 (200µl/Kg) présente des spermatides allongés plus nombreux dans certain tubes que la 1^{ère} dose ce qui prouve l'efficacité de la D2 (Planche 1D2).

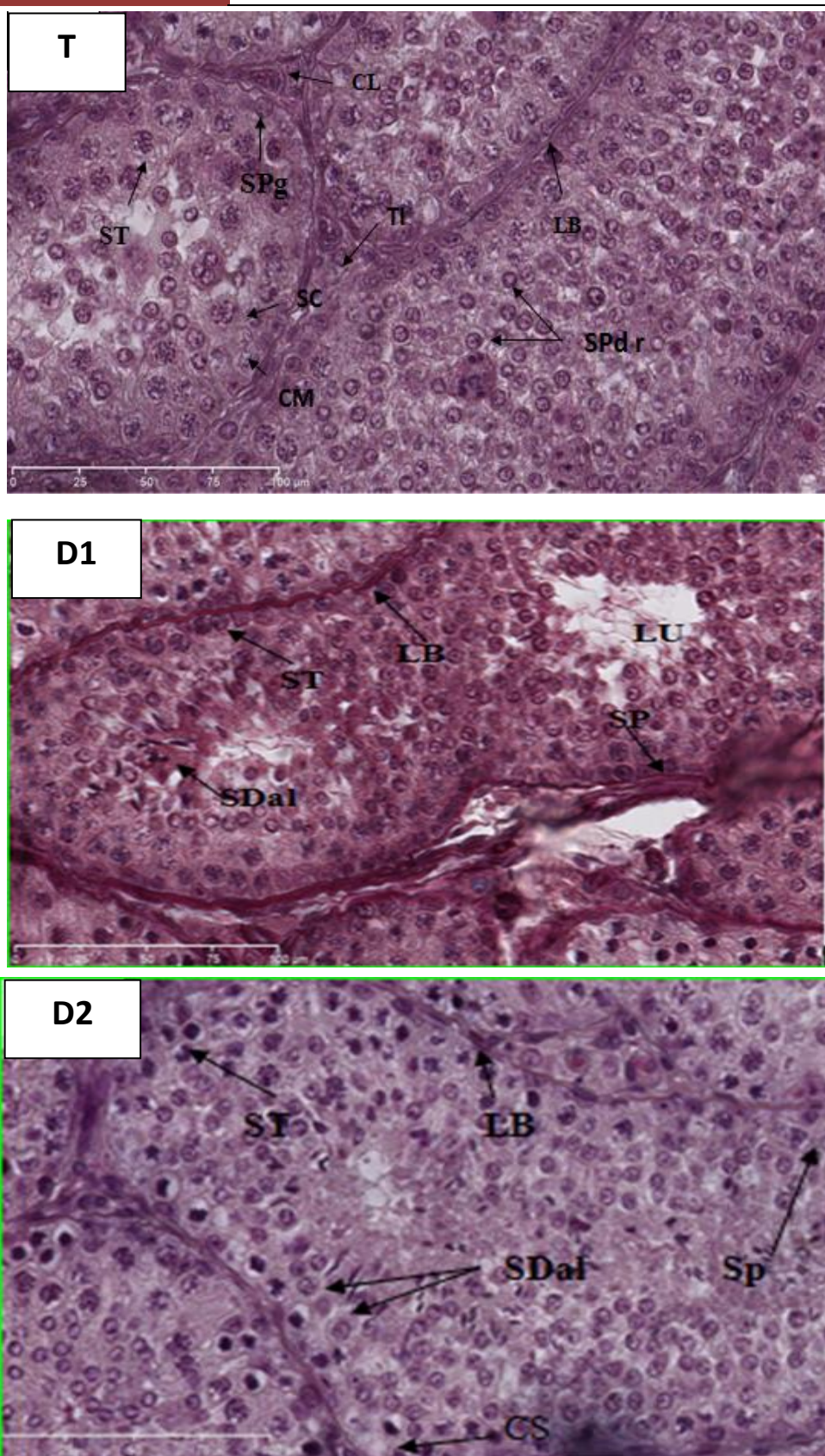


Planche 1 : Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule de lapins âgés 3 mois après coloration de trichrome Masson

SPg : Spermatogonie, **ST :** Spermatocyte, **SPr :** Spermatide ronds , **SDal :** Spermatide allongé, **LB:**Lame basale, **CS :** Cellule de sertoli, **TI :** Tissu interstitiel, **CM :** Cellules myoïdes, **Lu :**Lumière

1.2.2. Étude histologique des structures testiculaire des lapins traités par le Romarin à Verbénone

A l'observation des coupes histologiques des testicules des lapins traité par l'huile essentielle du Romarin à la dose1(100µl/Kg), l'épithélium séminifère présente presque les même structures que celle des témoins et ceux traités par la Sauge, qui est constitué de cellules de Sertoli, des spermatogonies, des spermatocytes I, des spermatides rondes, des spermatides plus nombreux allongés dans la plupart des tubes séminifères(Planche 2B).

Les structures histologiques des lapins traités par la dose 2 (200µl/Kg) est la même que celle des lapins traités par la dose 1 cependant une richesse en spermatides allongés est constatée, dû à une accélération de l'étape de différenciation spermatique ou spermatogenèse sous l'effet de l'huile essentielle du Romarin à la dose 2 (Planche 2C).

1.2.3 Étude histologique des structures testiculaires des lapins traités par la menthe poivrée

Les tubes séminifères des lapins traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à la dose1(100µl/kg) apparaissent plus développés que ceux de témoins, ceux traité à la Sauge et le Romarin et présente des spermatides allongées plus nombreux, entourés par un tissu interstitiel où baignent les cellules de Leydig ainsi que des cellules péri tubulaires (Planche 2D).

Tandis que les structures testiculaires des lapins traités à la dose 2(200µl/kg) révèlent des tubes de même structure que les tubes séminifères des lapins traités à la dose 1 avec une abondance en quantité des spermatides allongés ainsi une apparition de 1^{er}spermatozoïdes qui témoigne de l'activité des tubes séminifères (Planche 2E).

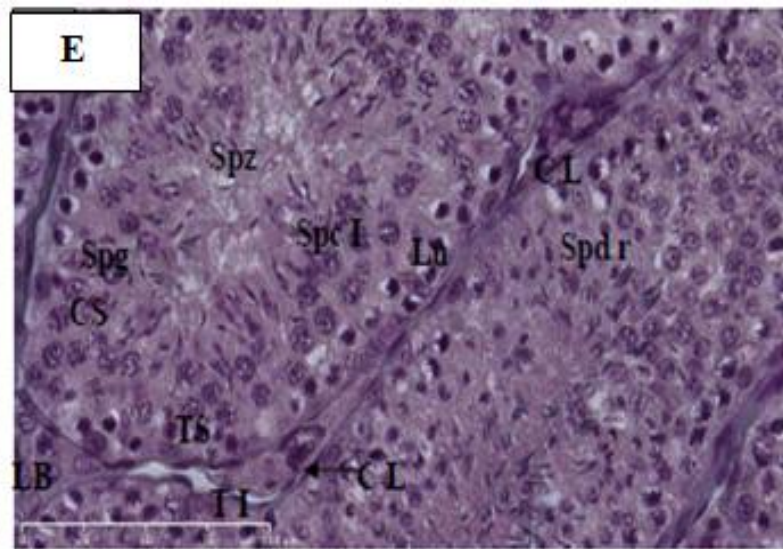
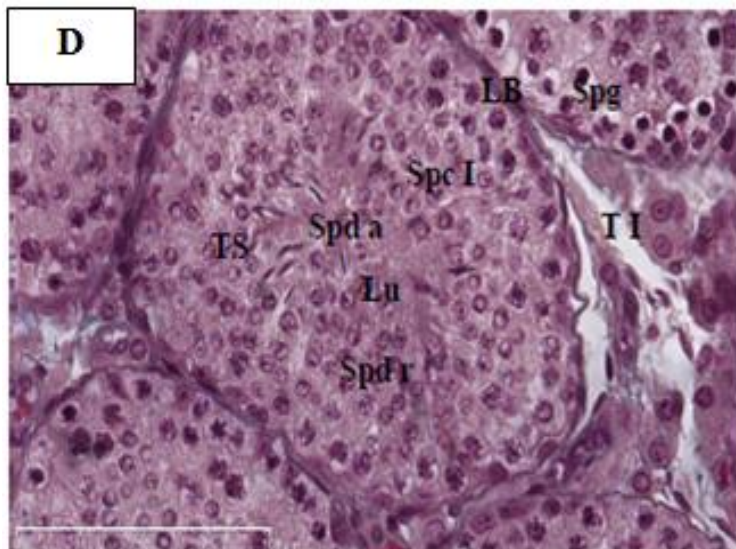
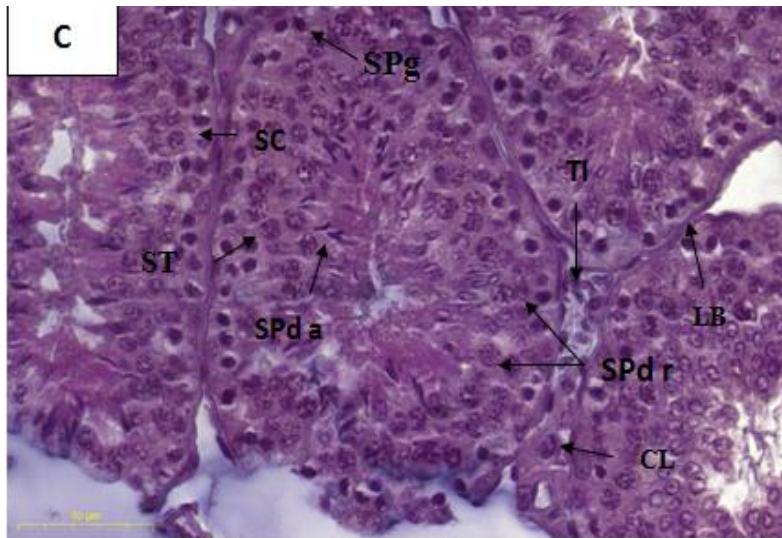
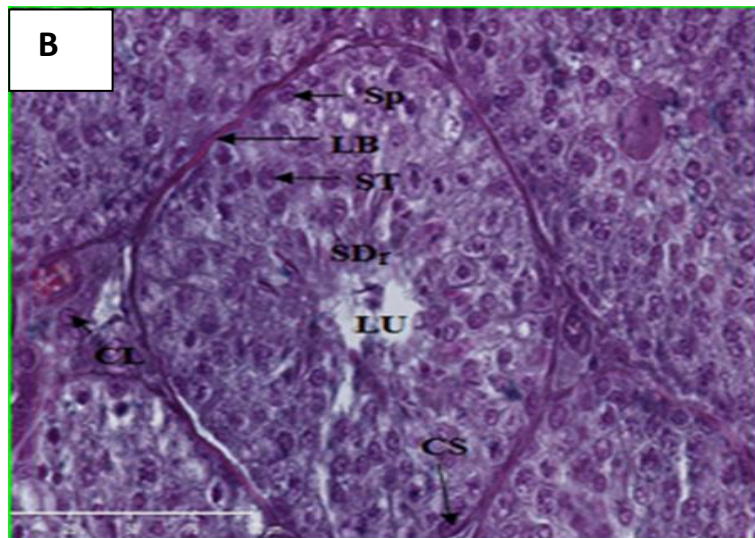
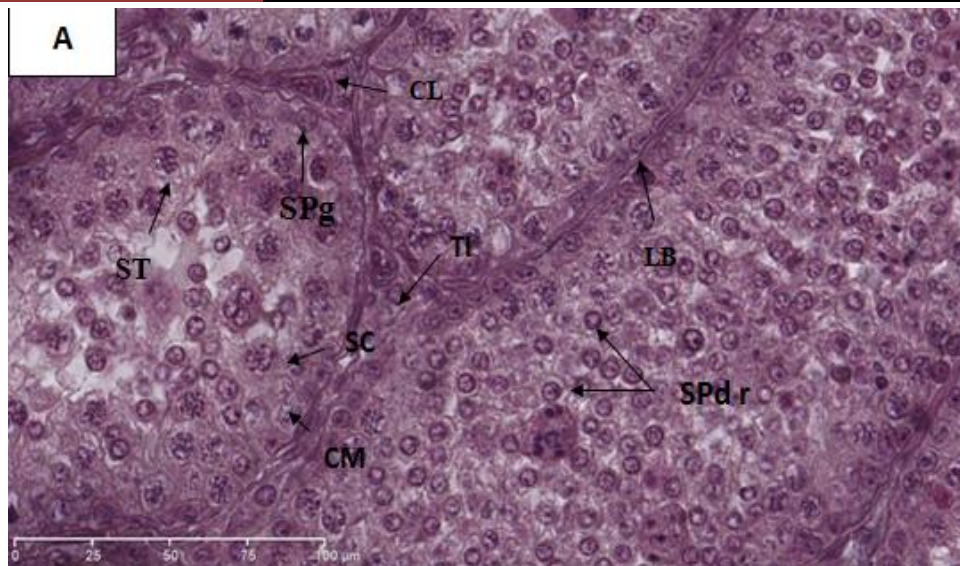


Planche 2 : Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule des lapins âgés de 3 mois après coloration de trichrome de Masson .

ST : Spermatocyte, sp : Spermatogonie , Spda : Spermatide allongé, LU :Lumière, LB:Lame basale, CS : Cellule de Sertolie, CL : Cellule de Leydig, SPdr : Spermatide ronds, Spz :Spermatozoïdes
A : Témoins , B : D1 Romarin , C : D2 Romarin , D : D1 Menthe poivrée , E : D2 Menthe poivrée

2. Discussion

Dans la présente étude sur les effets des trois huiles Sauge officinale, Romarin à verbénone et Menthe poivrée, nous montrons le développement des structures gonadiques (testicule) parallèlement au poids gonadiques et au poids corporels ainsi que le développement de sa structure histologiques chez des lapins âgés de 3 mois.

2.1. Poids corporel

Durant cette étude nous avons constaté que toute les huile essentielle administré aux lapins prépubères le poids corporel est plus élevé chez les traité par rapport aux témoins d'une part. D'autre part le poids corporel est plus important chez ceux traités par la dose 2 par rapport à ceux de la dose 1(100µl/kg).

Néanmoins l'huile essentielle Menthe poivrée a induit un effet plus efficace que les deux autre huiles, toutefois le Romarin a un effet plus marqué que la Sauge .

Nos résultats corroborent avec ceux obtenu par Fellag et Fethoun (2018), qui ont constaté l'augmentation des poids corporels en fonction de dose chez les lapin prépubère.

Selon Piles *et al.* (2003), la croissance pondérale d'un animal est un caractère extrêmement variable en fonction des facteurs génétiques, alimentaires et/ou environnementaux. Après la naissance la régulation de la croissance pondérale chez le lapin n'atteint la pleine efficacité qu'au bout de 100 jours. La croissance pondérale d'un animal résulte d'un développement en poids de chacun des éléments constitutifs de son corps (Micol *et al.*, 1993).

En effet un gain de poids est observé chez les poulets de chair après l'administration des huiles essentielles d'origan, romarin, sauge et de lavande(Alçiçk *et al.*, 2003, Alçiçk *et al.*, 2004, Botsoglou *et al.*, 2004, Bozkurt *et al.*, 2009, Bozkurt *et al.*, 2012) d'une part .

D'autre part, l'utilisation de l'extrait éthanlique de feuilles de *Mentha Piperita* pendant 60 jours et l'extrait au méthanol de *Bsella alba L.* pendant 30 jours chez le rat mâle a induit une élévation des poids corporel avec le temps (Soyet *al.*, 2016 et Nantia *et al.*, 2007)

2.2. Poids et volume testiculaires des lapins

Les variables macroscopiques des testicules comme le poids, le volume ou la circonférence scrotale ont été considérées comme des marqueurs de la maturité sexuelle chez divers mammifères (Schinckel *et al.*, 1983; Salhab *et al.*, 2001; Mandal *et al.*, 2004).

Durant notre étude nous avons constaté que quel que soit l'huile essentielle administré au lapins âgés de 3 mois le volume testiculaire est plus important chez ceux traités par

rapport aux témoins d'une part. D'autre part le volume est plus élevé chez ceux traités par la dose 2 (200µl/kg) que ceux traités par la dose 1(100µl/kg).

Néanmoins l'huile essentielle Menthe poivrée induit un effet plus marqué que les deux autres huiles essentielles puis vient le Romarin

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Morakinyo *et al.*, (2008), qui a démontré une augmentation significative du poids testiculaire chez les rat après 28 jours de traitement par du *Zingiberen* en fonction de la dose et de la durée par rapport au témoins. Ainsi qu'avec les résultat obtenu par Nesssah et Zaatri (2018) qui ont constaté l'augmentation des poids corporels des lapins prépubère qui sont dose dépendante.

Selon Allrich *et al.* (1983), les dimensions des testicules et de l'épididyme sont très corrélées avec l'âge, le développement et le poids corporel. En effet une augmentation de la taille des testicules est due à l'augmentation du diamètre et de la largeur du tubule séminifère et l'augmentation du nombre de cellules de Leydig.

Selon Garcia Tomas *et al.* (2007), l'augmentation du volume testiculaire est probablement liée à la prolifération cellulaire au niveau des tubes séminifères suite à une augmentation importante de testostérone plasmatique.

Cependant une étude porte sur les rats qui ont été traités par l'extrait de la Menthe verte « *menthaspicata* » à la dose de 20 g /l pendant 35 jours révèle une diminution significative du poids des testicules, épididymes, vésicule séminale et prostate tandis que le traitement à la dose de 40g/l de la menthe verte pendant 25jours, a causé une diminution significative de la LH sérique, FSH, la testostérone et la concentration des spermatozoïdes au niveaux de l'épididyme (Kumar *et al.*, 2008).

En effet Kumar (2014) n'a observé aucun changement significatif au niveau du système reproducteur après l'utilisation de la Menthe verte à court terme, mais l'utilisation à long terme a causé des dommages irréversibles à ce système, tels qu'une diminution significative du poids des vésicules séminales, épididyme, testicule et prostate avec changements histopathologiques significatifs dans ces tissus.

2.3 Paramètre histologique

Les variabilité microscopiques comme l'apparition de spermatides allongées et de spermatozoïdes dans les tubes séminifères, le diamètre, le nombre et la taille des cellules interstitielles et germinales ont été utilisées comme indicateurs de maturité sexuelle (Schinckel *et al.*, 1983 ; Tegegne *et al.*, 1991).

La structure histologique des testicules des lapins traités par les huiles essentielles a présenté des modifications en fonction de l'huile essentielle et la dose administrée par rapport aux témoins.

En effet des spermatides allongés apparaissent dans les structures histologiques des animaux traités alors que chez les témoins la spermiogénèse s'arrête au stade spermatide rond.

L'abondance des spermatides allongés dans chaque tube séminifère est dose dépendante et huiles dépendante d'ailleurs les 1^{er} spermatides allongés apparaissent dans quelques tubes séminifères des animaux traités par la Sauge officinale à la dose 1, et se présentent dans la plupart des tubes séminifères des animaux traités par à la dose 1 du Romarin et très abondant chez les animaux traités par la Menthe poivrée à la dose 1. D'autre part quelques spermatozoïdes sont observés chez ceux traités à la dose 2.

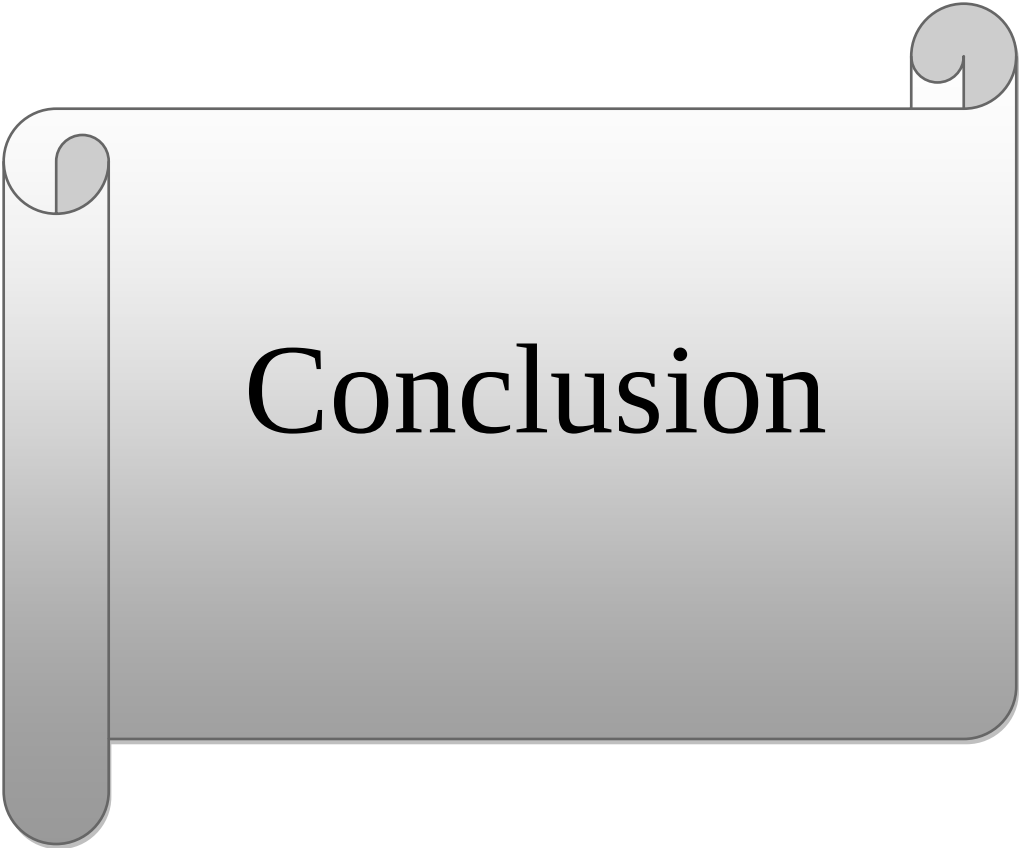
Nos résultats sont en accord avec ceux de Bashady *et al* (2007) qui ont montré que l'administration de 300 mg/kg d'un extrait aqueux de *Nigella sativa*, pendant 60 jours chez les rats, induit une augmentation du poids des organes reproducteurs ainsi que l'épaisseur et le diamètre des tubes séminifères et stimulation du développement des spermatogonies, spermatocytes primaires et secondaires, spermatides, spermatozoïdes libres, densité du sperme, activité sécrétrice des vésicules séminales et de la prostate ainsi le temps d'excitation. Ces variations seraient probablement dues à une augmentation des concentrations des hormones responsables de la spermatogénèse, LH, FSH et la testostérone.

Selon Haeri *et al.* (2006), l'huile essentielle de la sarriette (SKEO) a un effet sur la fertilité des rats mâles à des doses de 150, 225 mg /kg en induisant une augmentation du nombre des spermatogonies, des spermatides, des cellules de Leydig et les spermatozoïdes ainsi une hypertrophie des cellules de Sertoli, accompagné de l'augmentation des hormones la FSH et la testostérone. Cependant l'augmentation des androgènes est confirmée par l'augmentation du nombre de spermatocytes (I et II) et des spermatides observés chez les groupes traités, car ces stades sont complètement dépendants des androgènes (Dymet *al.*, 1979).

Toutefois, l'effet de la Menthe verte à une dose de 30 et 40g /l induit chez les rats albinos mâles un stress oxydatif hypothalamique et testiculaire, et un traitement a entraîné une diminution de la synthèse de LH et de FSH et la libération des gonadolibérine (GnRH) ainsi que la testostérone testiculaire par la perturbation d'un certain nombre de cascades intermédiaires : synthèse du cholestérol, transport des esters de cholestérol dans les tissus stéroïdogènes et leur conversion en cholestérol. En effet, le traitement a diminué le taux des

enzymes impliquées dans la biosynthèse des stéroïdes la 3β -HSD et 17β -HSD (Mishra *et al.*, 2014).

Cependant, Kumar (2008) n'a observé aucuns changements significatifs au système reproducteur après l'utilisation à court terme de la Menthe verte, mais l'utilisation à long terme a causé des dommages irréversibles à ce système, tels qu'une diminution significative du poids des vésicules séminales, épидидymes, testicules et prostate avec changements histopathologiques significatifs dans ces tissus.



Conclusion

Au terme de notre travail portant sur l'effet des huiles essentielles Sauge officinale, Romarin à verbénone et Menthe poivrée à 2 doses différentes (100µl/Kg et 200µL/Kg) sur la structure des testicules des lapins prépubères appartenant à la souche synthétique il en ressort que ces huiles ont un effet amélioratif sur le poids corporel, le poids et le volume testiculaire ainsi que sur l'aspect histologique.

En effet les valeurs des paramètres macroscopiques (poids corporel, poids et volume des testicules) sont plus élevées chez les lapins traités par rapport aux témoins. Néanmoins ceux traités par la dose 2 (200µl/Kg) présentent un effet plus marqué par rapport à ceux traités par la dose1 (100µl/Kg) notamment chez les traités par la Menthe puis chez ceux du Romarin à verbénone en fin chez ceux traités par la Sauge officinale.

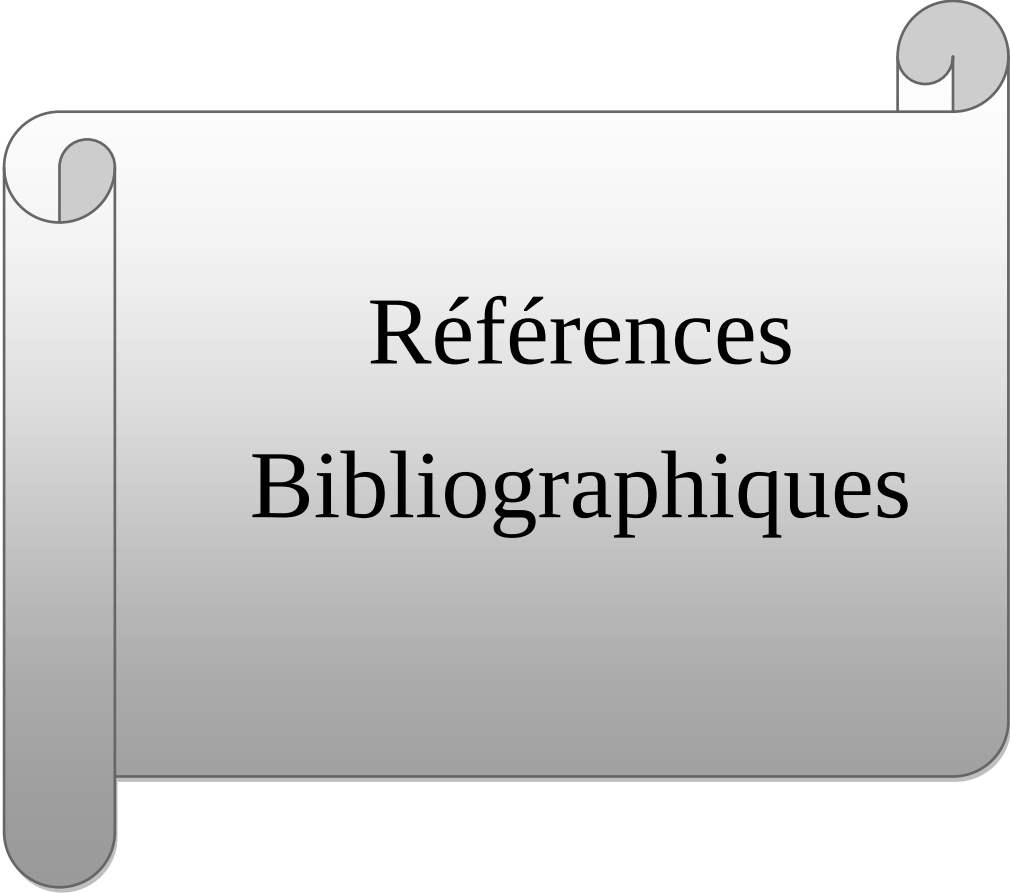
Sur le plan histologique les testicules des lapins traités présentent des changements qui varie selon la dose et l'huile administrée par rapport aux témoins. De ce fait les huiles essentielles ont déclenchées la transformation des spermatides rondes en spermatides allongés chez les traités par les trois huiles à la dose 1 et deviennent plus abondant chez ceux traités par le Romarin et Sauge à la dose 2 d'une part. D'autre part l'apparition des premiers spermatozoïdes chez ceux traités par la Menthe poivrée à la dose 2.

De ce fait il semblerait que les huiles essentielles utilisées à différentes doses ont un effet positif sur le développement des testicules, la spermatogenèse et la fertilité des lapins prépubère avec des effets plus marquant chez ceux traités par la Menthe poivrée puis du Romarin à verbénone et enfin la Sauge officinale.

Il serait donc intéressant de compléter cette étude en élargissant le spectre d'étude par :

- L'étude de l'impact de ces huiles sur la qualité de la semence.
- L'étude les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus.
- Utilisation des effectifs plus grands et réalisation de cette étude dans un temps plus large et des doses plus élevées.
- Renforcer cette étude par une étude Histomorphométrique afin d'étudier l'effet de ces trois huiles sur des paramètres morphométriques, le diamètre des tubes séminifères etc.
- Suivre cette expérimentation sur l'évaluation des cellules germinales sur la quantité nucléaire et les mouvements des spermatozoïdes.

- L'étude de l'impact des huiles essentielles sur la fertilité féminine.
- L'étude l'effet thérapeutique des huiles essentielles dans le cas d'une stérilité.
- Déterminer la possibilité de l'application d'un protocole au niveau des élevages pour améliorer la fertilité.



Références Bibliographiques



- **Abadlia Maroua ., Chebbour Aicha Hanan. (2014).** Etude des huiles essentielles de la plante menthacypripita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire d'un Master en biologie végétal. Université constantine I. P(44-45).
- **Abe K., Takano H. et Ito T.(1983).** Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. Arch. Histol. Jpn. 46 :51-68.
- **Abou-Haila A. et Fain-Maurel M.A.(1984).** Regional differences of the proximal part of mouse epididymis : morphological and histochemical characterization. Anat. Rec. 209 :197-208.
- **Abraham I., et Kierszenbaum, 2006.** Histologie et biologie cellulaire.
- **Abraham L., Kierszenbaum., 2002,** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique, Paris : éd médicales internationales. P69.
- **Adamali HI, Somani IH, Huang JQ, Gravel RA, Trasler JM et Hermo L. 1999.** II: characterization and development of the regional and cellular specific abnormalities in the epididymis of the mice with beta-hexosaminidase A deficiency. J Androl 20(6):803-24.
- **Albert et Jean., 2001.** « Biologie du développement. 5^{ème} édition de l'abrégé.
- **Alçiçek A., Bozkurt M. et Çabuk M., 2003.** The effect of an essential oil combination of selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. S. Afr. J. Anim. Sci. 33,89-94.
- **Alçiçek A., Bozkurt M. et Çabuk M., 2004.** The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. S. Afr. J. Anim. Sci. 34, 217-222.
- **Allrich R. D., Christenson R. K., Ford J.J. et Zimmerman D. R. (1983).** Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17 beta. Biology of Reproduction. Vol. 28.(4), 902-909.
- **Alvarino J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. 7th World Rabbit Congresses. Valencia Jul., 2000, vol. 8. (1), 13-35..
- **Alvarino M.R (1993).** Control de la reproducción en el Conejo. 1^{er} éd., RYDA, Mundiprensa Madrid, pp.137.
- **Aman R.P. et Lambiase J.T.(1967).** the male rabbit. I. changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. J. Recod. Fert. 14 :329-332.
- **Anjolas E, (2011).** « Prévention de l'oestrus induit par la pose d'un implant de desloréline chez la chienne : utilisation de l'acétat d'osaterone ». Thèse de doctorat vétérinaire. Alfort : faculté de médecine de Créteil 142p.
- **Atik Bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova. J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L point à l'état spontané.

B

- **Bailleul J.P. et Mauroy B. (1991).** Anatomie des testicules et voies spermatiques et des bourses, éditions techniques EMC (Paris-France), Néphrologie-Urologie, 18600 A10, 14p.
- **Bannano A et Costanzo D. (1987).** The effect of physiological and climatic factors on the main reproductive traits of artificially inseminated rabbits. *Coniglicoltura*, 24(3à, 33-39.
- **Barone R, 1984.**Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3: Splanchnol gie1 :Appareils digestif et respiratoire -Paris :Vigot.-896p)
- **Barone R. (1976).** Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome 4 : Splanchnologie: Laboratoire d'anatomie.-Lyon, ENV. 879p.
- **Barone R. (1978).** Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 :□ Splanchnologie 2: Appareil uro-génital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale.Paris : Vigot.-896p.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot frères 241-256.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241-516.
- **Barone R., (1978).** Anatomie comparéz des Mammifèrs domestiques : Tome 5 : splanchnologie2 : Appareil uro-génital, fœtus et ses annexes, peritoinee et topographie abdominale. Paris : vigot. -896p.
- **Barone R.,1978,** Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome3 : splanchnologie 3 : Appareil uro-genital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. -Paris : vigot.-896p.
- **Barone R.,1984,** Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome3 : splanchnologie 1 :Appareils digestif et respiratoire.- Paris :vigot.-896p.
- **Bashandy S., 2007.** Effect of fixedoil of *nigella Sativa* on male fertility in normal and hyperlipidemicroats.*International journal pharmacology* (1):27-33.
- **Baunne F, (2009).** Apoptose du spermatozoïde et fertilité masculine, thèse doctorat. Université d'aurvege :175p.
- **Bedford, J.M., 1975 .**Passage of spermatozoa through the epididymis. *In:Handbook of Physiology. Hamilton, D.W., Greep, R.O. Edit. Sect.7 Vol.5 pp.303-305 of Physiology. Hamilton, D.W., Greep, R.O. Edit. Sect.7 Vol.5 pp.303-305.*
- **Belkamel. S., Drouet, M., Rouzet, (1990),** Rev. Mar. Pharmacol.4,7.
- **Beniston (1984).** Fleurs d'Algérie « *Rosmarinusofficinalis* ».E.N.I.Alger.p47.
- **Berger M ; Jean-Faucher C.H., De., Turckhein M., Veyssiere G., lanc M.R ; Pairier J.C.et Jean C.(1982).** Testostérone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbitfrombith to adultthhood. Correlationwithsexual and behaviouraldevelopment. *Acta Endocrinol.*99 : 459-465.
- **Blodorn B., Mader M., Urade Y., Hayaishi K., Felgenhauer K., et Bruck W., 1996.** “ Chroid plexus: the majore site of mRNA expression for the beta-trace protein

- (prostaglandin D synthase) in human brain “ *Neurosciences Letters*, vol .209, p.117-120
- **Bonnes G., Des Claude J., Drogoul ., Gadoud R., Jussian R ., Le lo’h A., Montémas L. et Robin G. (2005).** Reproduction des animaux d’élevage. 2^{ème}Ed.E du cagri : 470p.
 - **Botsoglou N.A., Christaki E., Florou-Paneri P., Giannenas I., Papageorgiou G. et Spais A.B., 2004.** Effect of a mixture of herbal essential oils or α -tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34, 52-61
 - **Boulbina I. (2011).** Caractéristique de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*). Thèse de magistère. Ecole nationale supérieure D’Alger.
 - **Boussarie D, 2003.** Consultation des petits mammifère de compagnie. Edition du point vétérinaire 210.P.
 - **Boussit D.(1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. Edition Association française de cuniculture, France, diffusion Lavoisier TEC & DOC : PP 17-34. Iculture.info/docs/indexbiol.htm. (Accès 03/2009) .
 - **Bozkurt M., Küçükylmaz K., Çatlı A.U. et Çınar M., 2009.** Effect of dietary mannan olig saccharide with or without oregano essential oil and hop exctrat supplementation on the perfomance and slaughter characteristics of male broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 39 (3), 223-232.
 - **Bozkurt M., Küçükylmaz K., Çatlı A.U., Özyıldız Z., Çınar M., Çabuk M. et Çöven, F., 2012.** Influences of an essential oil mixture supplementation to corn versus wheat-based practical d ets on growth, organ size, intestinal morphology and immune response of male and female broilers. *Ital. J. Anim. Sci.* 11, 290-297
 - **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *proc. zool. Soc. lond.* 114, 1-114.
 - **Breton S. et Da Silva N. (2012).** Rôle de l’épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer.* 1: 1-20.
 - **Bri .M.D ., Bonet S., Pinart B., Egozcue J. et camps R. (1995).** Comparative study of boarspermcommingfrom the corpus, corpus, and cauda regions of the epididymis. *J. Andol.* 16 : 175-188.
 - **Bridges NA., Hindmorsh PC., Pringle PJ., Matthews DR. et Brouk CG. (1993).** The relationship between endogenous testosterone and gonadotrophin secretion. (edition oxford) *Clin Endocrinol*, 38:373-378.
 - **Brooks D.E(1981).** Metabolicativity in the epididymis and itsregulation by andogens. *Physiol. Rev.* 61 : 515-555.
 - **Bruneton J, (1993).** Pharmacognosie, phytochymie, plantes medicinale. 2^{ème} édition. Tec et Doc. Paris, France.
 - **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4^{ème} éd. Paris : Lavoisier, 1292,pp.147-570.
 - **Bruneton.J,1999.** Pharmacognoie, phytochimie, plantes médinales, 3^{ème} Edition. Paris pp 533-536.

C

- **Castellon E.A. et Huibro C.C. (1999).** Androgenregulation of glycosidase secretion in epithelialcell cultures fromépididymis . Hum. Reprod. 14 : 1522-1527.
- **Castro A.C.S,Berndtson W.E, Cardoso F.M. 2002.** Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rebbits . Br. J.Med.Biol.Res.35:493-498.
- **Chemineau, p., cagomnie , y., guerin, y.,orgeur,P., &vallet, j.c (1991).** Manuel de formation pour l'insiminationartifielle chez les ovins et les caprins trangmanual on artificialinsemination in sheep and goats (no.FAO.APHP-83). FAO, Roma (italia).
- **Chocu S, (2014).** Découverte de nouvelles protéines impliquées dans la spermatogenèse chez le rat. *Biologie de la reproduction*. Université Renne 1, France.
- **Clarisse Marie-Luce.2012.** Etude des mécanisme d'action nis en jeu par la testostérone dans la regulation du comportement sexuel mâle. Neurosciences [q-bio.NC].Université Pierre et M rie Curie-Paris VI,.
- **Clark, B.J., J. Wells, S.R king and D.M. Stocco (1994).** « the purification, clonning, and expression of novelluteinzing hormone induced mithondrialprotein in MA-10 mousse Leydig tumorcells. Characterization of the stérodogenic a cutereculatorprotein (STAR). « *J Biol chem* 269 (45) : 28314-22.
- **Colin M., 1995.** Comment maitriser les effets de la chaleur. L'éleveur de lapins. 56, 22-27.
- **Cooke G.M. et B.Robaire., 1987.** The mechanism of rat epididymal 4-ene steroid - 5 α - reductase "*Journal of Steroid Biochemistry*", vol. 26,p . 361-368.
- **Cooper T.G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. Journal Reproduction and Fertiityl Suppl, vol 53, p. 119-136.
- **Cornwall G.A. (2009).** New insights into epididumal biology and function. *Hum.Reprod. Upd.* 15: 213-227.
- **Cornwall G.A., and HsiaN. (2003).** A new subgroup of the family 2 cystatins. *Mol Cell Endocrinol* 200, 1-8.
- **Cornwall GA., Hann SR (1995)**Transiet appearance of CRES protein during spermatogenesis and caput epididymal sperm maturation. *Mol Reprod Dev* 41: 37-46.
- **cornwall, g. a., et hsia, n.(2003).** A new subgroup of the family 2 cystatins. *Mol Cell Endocrinol* 200, 1-8.
- **Couderc V.(2001).** Toxicité des huiles essentielles. thèse Méd. Vét. Ecole Nationale vétérinaire de toulouse n°4106.
- **Curtis S.K. et Amann R.P.(1981).** Testicular development and estabishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J.Anim. Sci.* 53 : 1645-1657.

D

- **Dadoune J P., Hadjhsy P., Siffroi J P et Vendrel E. (2000).** Histologie. Edition Médecine Science Flammarion (2^{ème}Edition), pages : 229-246.

- **Dadoune J. P. et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule in Thibault C, et L vasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Edition INRA, Paris : 256-289.
- **Dadoune J.P hadjisky P. Siffroi JP et Vendrely E.(1990).** histologie. Edition Médecine – scienceFlamarion ; Paris : 333-348.
- **Dadoune JP. Hadjiisky P. Siffroi JP et Vendrely E. (1990).** Histologie. Edition Médecine science Flamarion, Paris : pp 333-348.
- **Dadoune J-P.,1998.** « Histology ». Médecine- science. Flammarion. P 462.
- **Dadoune,J.P.,&démoulin, A.(1991).** Structure et fonction du testicule. In la reproduction chez les mammifères et l'homme (pp.221-250).institut National de la recherche agronomique.
- **Del Nino Jesus A, Munoz L, Josa A, Espinosa E, Gracia M, Martinez G, Leuza MP (1997).**Modifications of someparametrs of the rabbitejaculate after ablation of thrseicular gland. World Rabbit Science.5: 3-5.
- **Djeroumi A&Nacef M.(2004).** *100 plantes médicinales d'algerie*. Edition palais du livre p 15-131.
- **Dohle GR., Smit M., et Weber RF. (2003).** Androgens and male fertility. World J Urol , 21 (5):341-345.
- **DOMINIQUE, BOUSSIT., 1989.**Reproduction et insémination artificielle en cuniculture.p17-41.
- **Dym M.R., Raj H.G.M., Lin Y.C., Chemes H.E., Kotitie N.J., NayfehS.N.,French F.S., (1979).** Is FSH required for maintenance of spermatogenesis in adultrats? J. Reprod. Fertil.,vol. l. (26), 175-181.
- **Dym M.R., Raj H.G.M., Lin Y.C., Chemes H.E., Kotitie N.J., Nayfeh S.N., French F.S., (1979).** Is FSH required for maintenance of spermatogenesis in adult rats? J. Reprod. Fertil.,vol. l. (26), 175-181.

E

- **Eddy E.M., Washburn T.f., Bunch D.O., Goulding E.H., Gladden B.C., Lubahn D.B. et Korach K.S (1996).** Targeteddistribution of the estrogenreceptorgene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. Endocrinol . 137 : 4756-805.
- **El Kalamouni. (2010).** Caractérisations chimiques d'extraits de plantes, 22-38.
- **Eurell J.N. et Frappier.L. (2006).** Dellmann's textbook of veterinary histology Blackwell Pub, Ames, Low.
- **Ewula E.O. et Equnike G.N.(2010).** Effects of dictaryfumonisin B1 on the onset of puberty, semenquality, fertlityrates and testicularmorphologyin male rabbt. Reproduction. 139 :439-45.

F

- **Fabre-nys C,2000.** « le comportement sexuel des caprins : contrôle hormonal et facteurs sociaux ». INRA. Prod. Anim., 13,11-23.

- **Fawcett, DW (1975).** Le spermatozoïde mammifère. *Biologie du développement*, 44 (2), 394-436.
- **Fawcette D D.W. et Burgos M.H., 1956.** Observation on the cutomophosis of the germinal and interstitial cells of the human testes.in : Ciba fondation colloquium on Agein, vol.2, p86
- **Fawcette D.W. et Burgos M.H.,1956.** Observation on the cutomophosis of the germinal and interstitial cells of the humant st . in : Ciba fondation colloquium on Agein, vol.2,p86.
- **FELLAG Messad et FETHOUN Milia.2018.** Étude préliminaire sur les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâle de la souche synthétique, au sevrage et pré pubère. Mémoire fin d'étude pour l'obtention du master, option biologie et physiologie de la reproduction. université UMMTO.
- **Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000).**Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.
- **Flickinger C.J, Howards S.S et English H.F. 1978.** ultrastructural differences in efferent ducts and Several regions of the epididymis of the hamster. *Am J Anat* 152, P557-585.
- **Fouzi (1981) cite in MAKHLOUFI AHMED.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(*Matricaria pubescens*(Desf.) et *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse doctorat d'état en biologie. L'UNIVERSITE ABOUBAKER BELKAID
- **Frolich A. (1948).**Sorne factors affecting semen production in rabbits. primo. Congo intern. fisiopat. h.iprod. animal fecond. artif. ,milano.

G

- **Gacem M., Zerrouki N., Lebas F. (2010).**Comaraison des performances de production d'une souche synthetique de lapin avec deux population locales disponible en algérie. 13^{ème} journées de de la recherché cunicole, novembre. France. 17-18.
- **Gallup CG.** Semendisplacement as a spermcompetitionstrategy in humans. *Evolutionarypsychology* 2004 ;2 :12-23.
- **Gallup GJ, Burch RL, Zappieri ML, Parvez R, Stockwell M, Davis JA.** The humanpenis as a seendisplacement devis. *Evolution and Human* 2003 ; 24 :277-289.
- **García-Tomas M., Sanchez J., Rafel O., Ramon J., Piles M,2007.** Développement sexuel post-natal chez le lapin : profils de croissance et de développement du testicule et l'épididyme dans deux lignées. *12èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Le Mans, France : 49-52.
- **Gayrard , V., (2007).** Physiologie de la reproduction des mammifère. Page 97.
- **Gayrard V. (2007).** « Physiologie de la reproduction des mammiferes ». Thèse de Doctrat,écolévétérinaire de Toulouse.198 p.
- **Girod C., Czyba J C..** Biologie de la reproduction 2 emeédition (lyon) : 79-82.

- **Girouard J.** (2009). Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes b vins. *Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie*. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.
- **Glover T.D., 1974.** "Recent progress in the study of male reproductive physiology : testis stimulation ;sperm formation, transport and maturation (epididymal physiology) ; semen analysis, storage and artificial insemination " . *In AG Cuyton et D .Horrobin (éd.) .Reproductive physiology, vol. 8.MIR International Review of of Sciences . University Park Press. Baltimore, p. 221-270*
- **Gonzalez-Trujono, M.E.,Pena, E.I., Martinez, A.L., et al (2007).**evaluation of the antinocicptiveeffect of rosmarinusofficinalis L. usingthreedifferentexperimentalmodels in rodents. Journal of thno^harmacology,2007, vol.111,n°3, p.476-482.
- **Grasse P., (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.-Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.
- **Guy G, (1997).** Les plantes à parfum et huiles essentielles à grasse. Edition l'Harmattan Paris.

H

- **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M. (2006).** Effect of Saturejakhuzestanica essential oil on male rat fertility.Elsevier, Fitoterapia, 77, 495-499.
- **Hamilton D.W., 1975."** Stucture and function of the epithelium lining the ductuli efferentes , ductus epididymis ,and ductus deferens in the rat".In R.O. Geep et E.B. Astwwod (éd) . Handbook of physiologie , Section7, Volume 5. Washington, DC: American Physiology Society, P.259-301.
- **Hermo L. et Robaire B., 2002.** Epididymal cell types and their function. In the Academic/pl numpublishers, P:81-102. Ology 144,975-988.
- **Hermo L., Adamali HI., Andonian S., 2000.** Immunolocalization of CAII and H+ V- ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymise. J Androl 21(3):376-391.
- **Hess R.A., Bunick D., Lee K.H., Bahr J., Taylor J.A., Korach K.S et Lubahn D.B (1997).** A role for oestrogens in the mâle reproductive systtem. Nat . 39 : 509-512.
- **Hib J.(1974).** The in vitro effects of oxytocin and vasopressin on spontaneouscontractility of the mousse cauda épидидymis. Biol. Reprod. 11 : 436-439.
- **Hinton B.T. et Palladino M.A., (1995).** Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res. Tech.* 30, pp: 67–81.
- **Hinton, B.T et turner, TT (1988).** L'épididymest il un analogue du rein ?.physiologie 3 (1),28-31.

- **Hippolyte.I., Allain.P., Pellecuer.J.**, variation de la teneur de certain composés de l'huile essentielle de la Sauge (*Salvia Officinalis L.*) en fonction de divers états physiologiques huile essentielles, biochimie, salviaofficinalis, micropropagation, vitroplant, terpène, société botanique de France. Acta Bot. Gall. Ball. Soc. Bot. Fr (1904). Tome140- fascicule 2, p225-225,1993.
- **Hocherreau-De Reviers, M.T., Perreau, C., Pisselet, C., Locatelli, A. Bosc, M.1995.**ontogenesis of somatic and germcells in sheepfetaltestis.J. Reprod
- **Hoffer A. P., Hamilton D. W. et Fawcett D. W. (1973).** The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat. Rec.* 175: 169-201.
- **Holland M.K et Orgebin-Christ M.C. (1988).**Haracterization and hormonalregulation of protteinsynthesis by murine epididymis. Biol. Reprod.38 : 487-496.
- **Holtz W, FooteH (1978).** The anatomy of the reproduction system in male dutchrabbits (*Oryctolagusuniculus*) withspecialemphasison the accessorysex glands. J. Morphology.158 :1-20.

I

- **Imbeaud S. (1994).** Moleculargenetics of the persistent mullarianductsyndrom : astudy of 19 families. Home Mol Genet.3(1) :p.125-31.

J

- **Jacques.H., Luc.C., Véronique.P., Hubert.G.** Exploration clinique et paraclinique du test cule. EMC - Urologie 1997:1-0 [Article 18-601-C-10].
- **JeaunBrineton.** Pharmacognosie, phytpcimie-plante médicinales.1992, 2^{ème} édition.
- **Johnston D.S., Jelinsky S.A., Bang H.J., Dicandeloro P., Wilson E., Kopf G.S. et Turner T.T.(2005).** The mouse epididymal transcriptome :transcriptional profiling of segmental gene expression in te epididymis. Biol. Reprod, 73 :404-413.
- **Joly T. et Theau- clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction .7^{ème} congrès mondial de cunicultue.A.S.F.C.5 Décembre 2000- Valencia « Ombre de lumières » PP : 19-24.
- **Jones R., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1979).** Morphology of the epithelium of the extra testicular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. Am J Anat. 156, 373-400.
- **Junqueira L.C. et carneiro J.(2007).** Basic histology. 11 th éd copyright c the MC Growhillcompanies.

K

- **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 intoxications chez les animaux de compagnie. *Maloine*, Paris : 185-186.
- **Kammerer M., Leclerc S., Poncet A. (2012).** 100 Intoxications chez les animaux de compagnie. *Maloine*. Paris. p 185-186.
- **Kirchhoff C. (1999).** Gene expression in the epididymis. *Edition Int. Rev. Cytol.***188**: 133-202.
- **Klinfelter G., 2002.** Actions of Toxicants on the structure and Function of the epididymis. In the epididymis From Molecule to Medical Practice. Edited by Robaire B and Hinton BT. *New York: Kluwer Academic/olenum*:353-369.
- **Kumar V, Kural MR, Pereira BMJ, Roy P.** Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food Chem Toxicol.* (2008); 46:3563–3570.
- **Kumar V, Kural MR, Pereira BMJ, Roy P.** Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food Chem Toxicol.* (2008); 46:3563–3570.
- **Kumar, D., Agrawal, CP, Mishra, DD et Singh, V. (2014).** Effet anti-fertilité de l'extrait de benzène de fleurs de *Hibiscus rosa sinensis* L. Sur le système reproducteur chez des rats mâles albinos. *Indian Journal Applied & Pure Biology.*, 29 (2): 215- 217.

L

- **Lardy J-M. & haberkon V (2007).** l'aromathérapies et les huiles essentielles (kinesitrReved).
- **Le Moigne A. et Foucrier J. (2009).** Biologie du développement. *7ème Edition*. DUNOD Inc.
- **Lebas F et Kennous. (1990).** Résultats de reproduction des lapines locales tunisiennes N° 8. 1990 93-96.
- **Lebas F, Coll., 1994.** Rappel de physiologie général de la reproduction. In : journée de l'Acra , Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 20 janvier 1994., 94p Edition : association pour l'étude de la reproduction animale, Maison- Alfort.
- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin . Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (accès 03/2009).
- **Lebas F. (2010).** Intérêt de l'insémination artificielle pour les élevage cuniciles en Algérie , Atelier de travail sur la création d'une souche synthétique , Baba Ali (Algérie) 14-15 juin 2010.
- **Lebas F., 1984.** Alimentation des lapins producteurs de viande en élevage rationnel intensif. Colloque technique franco-Algérien sur techniques nouvelles dans la filière avicole. 3^{ème} session constantine (Algerie) 21-28 mars 1984, 24p
- **Lebas F., 2010.** Biologie du lapin. <http://www.Cuniculture.info/doc/indexbiol.htm>.

- **Lebas F., cool., 1994.** Rappel de physiologie général de la reproduction. In : Journée de l'Aera, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 20 janvier 1994. 94p. Edition : Association pour l'étude de la reproduction animale, Maison-Alfort.
- **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée à FAO éditeur, Rome : 227p.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H., (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, Rome : 1984-298p.
- **Lebas F., Gacem M., Maftah I., Zerrouki N., Bolet G. (2010).** Comparaison of reproduction performance of a rabbitsyntheticine and of rabbits of local populaton in algeria, in 2 breeding locations. First resuktats, 6th conference on rabbit production in Hot climates, assiut (Egyt) february, 1-4.
- **Lebas F., Marionnet D et Henaff R., (1991).** La production du lapin. Technique et Documentation Lavoisier pp 17-112.
- **Lebas F., oudert P. et De Rochambeau H. (1990).** Le lapin : élevage et pathologie. Collection F.A.O : production et santé animale pp-210.
- **LebasF, Gacem M, Meftah I, ZerroukiN, Bolet G, 2010.** Comparison of reproduction performances of a rabbit syntheticcline and of rabbits of local populations in Algeria, in 2 breedinglocations - First results. 6th Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Assiut (Egypt) 1-4 February.
- **Leesson TS et Leeson RC. (1976).** Histologie. Masson. Barcelone Milan pages : 388-403. luminal content. Biol Reprod 61, 705-714.
- **Leung P. S., Chan H. C., Chung Y. W., Wong T. P., et Wong, P. Y., 1998.** The role of local angiotensins and prostaglandins in the control of anion secretion by the rat epididymis. *J Reprod Fertil Suppl* 53, 15-22
- **Li L., Wong J.T., Pang S.F. et Shiu S.Y. (1999).** Melatonin . induced stimulation of rat corpus epididymalépithelialcell prolifération. *Lif . Sci-* 65 :1067-1076.
- **Li L., Xu J.N., Wong Y.H., Wong J.T., Pang S.F. et Shiu S.Y. (1998).** Molecular and cellular analyses melatoninreceptor. MediatedcAMPsignalin in rat corpus epididymis . *J. Pineal. Res .* 25 : 219-228.
- **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.
- **Lung, P.S, Chan, H. C., Fu, L.X., Leung, P.Y., Chew, S.B., And wong, P.Y. (1997).** Angiotensin II recetors : localization of type I and type II in rat eididymides of difféentsdevelopemental stages. *J Membr Biol* 15, 97-103.
- **Luzi F., Meartens L., Mijten P. et Pizzi F., (1996).** Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. *6th world Rabbit Congress.* Toulouse (France).

M

- **Macari M. et Machado C.R (1978).** Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anim.* 12: 37-39
- **Macedo A.P. et Miguel O. (1986).** Puberty in New Zélande withrabbit. *Rev. De fac. De Medic. Vet . Zoo. Univers . Of Sao Paulo.* 23 (1) : 55-67.

- **Madi Aicha (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mie en évidence de leurs activités biologiques, mémoire de magister, option biotechnologie végétale Université Mentouriconstantine faculté des sciences de la nature et de la vie, département de biologie.
- **Maekawa M, Kamimura K, Nagano T.** peritubular myoid cells in the testis : their structure and fonction . *archhistol* 1996 ; 59 , 1-13.
- **Makhlouffi, 2009.** Cité in Chibah Razika et Labandji Assia, 2007. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de *Romarinus officinalis* et étude de quelques activités biologiques. mémoire de master. p6. faculté des sciences biologique option analyses biologiques et biochimique Université Akli Mouhand Oulhadj- Bouira.
- **Maksinovie M., Danijela v., Mladen M., Sebaheta A & Sonja S.Y. (2007).** Effet of the environmental condition on essential oil profil in two dinaric salvia species : *salvia brachydondas* and *salvia officinalis* L. *Biochemical systematics and Ecology*. 35 :473-478.
- **Mandal D.K., Singh K. et Tyagi S. (2004).** Age related changes in body size and gonadal development of growing Frieswal bulls. *Indian J. Anim. Sci.* 74 (1): 31-34.
- **Marai I.F.M., Habeeb A.A.M. et Gad A.E. (2002).** Rabbits, productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Lives. Prod. Sci.* 78: 71- 90.
- **Marieb E N (2008).** Biologie humaine : Principe d'anatomie et de physiologie. Edition Pearson / Education (8^{ème} édition), pages : 571-578.
- **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, 199-206.
- **Martodja R. et Martodja M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et cie, Paris :33
- **Mc Graw-Hill** Encyclopedia of science and technology, 10th Edition, 2007.
- **Melin P. (1970).** Effects in vivo of neuro hypophysial hormones on the contractile activity of accessory sex organ in mâle rabbits. *J. reprod . fertil.* 22 : 283-292.
- **Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993).** Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscle chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Production Animale*. Vol 6 (1):6169.
- **Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. Editions elsevier. pp85.
- **Monzie, M. 2008.** *Filière plantes aromatiques & à parfum*. Fiche technique : production peu développée en langue doc-Roussillon, 8p.
- **Moore H.P. et Kelly R.B. (1985).** Secretory protein targeting in a pituitary cell line: differential transport of foreign secretory proteins to distinct secretory pathways. *J. Cell. Biol.* 101:1773-1781
- **Morakinyo A O., Adeniyi OS. Et AriKawe AP., 2008.** Effects of Zingiber Officinale on reproductive functions in the male rat. *Journal biomedical research*, Vol II: 329-334.

- **Morin-Ganet**, 2006. www.gegie-bio.ac-varsaillles.fr/IMG Cours la regulation des hormones males (Consulté le : 18/09/2017)
- **Muller Y. et Clos J. (1997)**. La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.

N

- **Nantia EA., Moundipa P.F., Beboy NS., Moussees TK. et Carreau S., 2007**. Etude de l'effet androgénique de l'extrait au méthanol de *Basella alba* L. (Basellaceae) sur la fonction de reproduction du rat mâle. *Journal of andrology*, N02 :129-133.
- **Nessahnacera et Zaatiri Soraya. 2018**. Etude préliminaire sur les effets des huiles essentielles (Romarin à verbénone et Sauge officinale) sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles âgés de 3 mois pré pubère de la souche synthétique. Mémoire fin d'étude pour l'obtention du master, option biologie et physiologie de la reproduction. université UMMTO.
- **Nguyen S Y., Bourouina. (2008)**. Manuel d'anatomie et de physiologie (Paris) :410-458.
- **Nguyen V et Ferry N. (2007)**. La reproduction des vertébrés. Edition de Boeck Université, pages 1-6, 55-63.
- **Niemi M. et Korman 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.
- **Nisrin Benayard**, thèse sur : les huiles essentielles extraites par la plante médicinales

O

- **O'Shaughnessy P.J. et L. Murphy (1991)**. Steroidogenic enzyme activity in the rat testis following Leydig cell destruction by ethylene 1,2 dimethanesulphane and during subsequent Leydig cell regeneration. *J Endocrinol* 131 (3) : 451-7.
- **Olson G.E. et Hinton B.T., 1985**. Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J Androl* 6, 20-34.
- **Ouhayoun, J. (1984)**. La croissance et le développement du lapin de chair *CuniSci*, 1(1) : 1-15.
- **Ozen D.A.P., 1983**. Flore du Sahara. Ed. C.N.R.S. 622p.

P

- **P. PERRIN** : Tumeurs germinales du testicule de l'homme adulte, édition technique EMC (Paris- France), Néphrologie-Urologie, 18650 A10, 1992, 11p.
- **Panella F. et Castellini C., (1990)**. Fattori ambientali e genetica che influenzano sulle caratteristiche del seme di coniglio. *Riv. Di. Coniglicolt.* 27(8): 39-41.

- **Payne A.H et O'shaughnessy P. J (1996).**Structure and regulation of steroidogenic enzymes in the leydig cells.
- **Piles M., Gianola D., Varona L. et Blasco A. (2003).** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J.Anim. Sci.* 81, 2714–24.
- **Pollanen P. et Cooper T.G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J ReprodImmunol.* 26, 167-216.
- **Prud'hon M(1973).** La reproduction des lapins cours polycopié : 25p .

Q

- **Quiles A. et Havia M.L.(2000).** Bases fisiozootécnicas de la reproduction en cunicultura. *RevAgropec.* 814 :270-273.
- **Quinton J F ; 2003c.** les lapins. In : nouveaux animaux de compagnie petits mammifères. Masson, lessy-les Moulineaux, pp. 57-73 ; 222p.

R

- **Ramos A.S. et Dym M., 1977.** Fine structure of monkey Epididymis. *Am J Anat* 149, 501-531.
- **Raymond E. (1988).** Effects of testosterone on neuronal nitric oxide Synthase and tyrosine hydroxylase, *Brain Research*, 836(1-2) :90-98.
- **Richarson V, 2000.**Rabbitshealth, husbandry and disease. Black WellSciencen Oxford.178P.
- **Robaire B. et Hermo L., 1988 .**Efferent ducts, epididymis,and Vas deferens: Structure fun tions,and their regulation. *In The physiology of Reproduction PP 999-1080Eds E Knobil and Neil.RavenPress,New-York.*
- **Robaire B. et Viger R.S. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol Reprod.* 52:226-236.
- **Robaire B., Hermo L. (1988).**Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, fun tions, and their regulation. *In The Physiology of Reproduction pp 999-1080 Eds E Knobil et J Neill. Raven Press, New-York*
- **Robaire B., Hinto B.T. et Orgebin-Cris M.C. (2006).** The epididymis.In:Neill J.D.(ed physiol.ofReprod.third. Edidition .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, The Van Doren Company, Charlottesville, Virginia, USA.
- **Robert.C et Vincent P., (1995).** Biologie physiologie humaine. Edition Vuibert. Pari. PP 700.
- **Roger T.,2002,** Anatomie comparée des animaux de laboratoire. Lyon :ENV.p20.

- **Rouvier., 1980.** Génétique du lapin *Oryctolagus cuniculus*. Article II. *World rabbitcongress, Barcelona, Espagne, April 1980*, vol I. 159-191.
- **RS Farag.** Activity antioxidant of spice essential oils, *JAOCs*, 1989, vol 66, n°6, p7.
- **Russel L.D et Griswold M.D., 1993.** The Sertoli cell. Cache River press, clearwater, FL .P:826

S

- **Sabbagh M. (1983).** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires. Pp 113.
- **Saez, J.M (1994).** « Leydig cells: endocrine, paracrine régulation ». *endocrRev* 15 (5) : 547-626.
- **Safaa H.M et emaah M.E. et Salejh N.F.A. (2008).** Seasonaleffect on semenquality in black bladi and white new zealandrabbitbucks. *Woerl. Rab. Sci.* 16 :13-20.
- **Salhab S.A., Zarkawi M., Wardeh M.F., Al-Masri M.R. et Kassem R. (2001).** Development of testicular dimensions and size, and their relationship to age, body weight and parental size in growing ram lambs. *Small Ruminant Res.* 40: 187-191.
- **Schinckel A., Johnson R.K., Pumfrey R.A. et Zimmerman D.R. (1983).** Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 56 (5):1065–76
- **Schulz R W .Menting S. BogerdJ.França L.R et Vilela D.A.R.(2005)** .Sertoli cellproliferation in adult testi-evidence from two fish species belonging to different orders.*Biol.Reprod.*,73: 891-898.
- **Sebbagh M.,1983,** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*) à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse :Méd vét : Dakar ;p32-33.
- **Seiler P., Cooper T. G. et Nieschlag E. (2000).** Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int. J. Androl.* 23: 65-76.
- **Sherwood L.(2006).** *Physiologie Humaine.* 2^{ème} Edition ; de Boeck Université (Bruxelles) :529-595
- **Shi S.Y., Chow.H., Yu Z.H., tang F. et Pang S.F. (1996).** Autordiographic distribution and physiologicalregulation of 2- (125) iodemelatoninbindin in rat epididymis. *Lif. Sci.* 59 : 1165-1174.
- **Shi S.Y., Li L., Siu S.W., Xi S.C., Frong S.W., et Pang S.F. (2000).** Biologie basis and possible physiological implication of melatoninreceptor – mediatedsignaling in the rat epididymis. *Boil. Signal. Receptor.* 9 : 172 :187.
- **Shum W.W., Ruan Y.C., Da Silva N. et al. (2011).** Establishment of cell-cell cross talk in the epididymis: control of luminal acidification.*J.Androl.* 32:576-586.

- **Siffroi JP. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. p 1-45.
- **Skinner J. D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). J. Reprod. Fert. 14: 151-154.
- **SolauPoissonet C, 2004.** Principales maladies du lapin, du cobaye, du chinchilla, du hamster et du rat de compagnie. Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine, créteil.128P.
- **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.
- **SOY A., SAHU R. et Rath S., 2016.** A Histomorphological study of the effect of Mint on the testes of albino RATS. Journal of dental and medical sciences: 32-35
- **Suckow M, Stevens K, Wilson R (2012).** *The laboratory Rabbit Guinea pig, Hamster, and other Rodents, Academic press.*
- **Sullivan R., Frenette G. et Legare C (2005).** Sécrétion apocrines et glandes annexes. *Erol. 15(1)* : 35-40
- **Survanto O. et Korman M. (1970).** the relation between in vitro contraction of the rat seminiferous tubules and the cyclic stage of the seminiferous epithelium. J. Reprod. Fertil. 21 :227-232.
- **Syntin P., Dacheux J.L. et Dacheux F.(1999).** postnatal development and regulation of protein secreted in the boar epididymis. Biol. Reprod. 61 :1622-1635.

T

- **Tegegne A., Entwistle K.W. et Mukasamugerwa E. (1991).** A quantitative histological study of testicular and epididymal development in boran and boran-x Friesian bulls in Ethiopia. Theriogenology; 35 (5): 991-1000.
- **Theau-clemen M. (2005).** Préparation de la lapine à l'insémination : analyse bibliographique. 11ème journées de la recherche cunicole, Paris (France), 9-30 novembre 2005, 67-82.
- **Thibault C, Levasseur M-C (2001).** la reproduction chez les mammifères et l'homme. Editions Quae 940p.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edition, éd. Ellipses (Paris) p: 928.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition, éd. Ellipses (Paris): page 258-260-276.
- **Thomas O, Mc Cracken, Robert A, Kainer, 2008.** Color atlas of small animal anatomy. library of congress cataloging-in publication Data. 2^{ème} édition.
- **Tortora A, Gerard J, (2007).** Principe d'anatomie et de physiologie. Edition de boeck. Canada 11ème ed. 1341p.
- **Tortora G J., Grabowski S R et Parent J C. (1995).** Biologie humaine : Cytogénétique-régulation-reproduction. Edition CEC, collégial et universitaire, pages 311-322.

- **Tortora G.J., derrickon (2009).** Manuel d'anatomie et de physiologie humaine (Paris) : pages 311-322.
- **Tyler V.E., Brady L.R. et Robbers J.E.** pharmacognosy. Edition, Lea and Febiger, philadelphia, 1976, 171p.

V

- **Vacheret N.(1999).** Histologie fonctionnelle des organes (en ligne). Faculté de médecine. Laennec. Université Claude Bernard- Lyon 1 France : 1-4.
- **Van Praag E., 2002,** Appareil reproducteur mâle du lapin et orchidectomie (castration chirurgicale)., [http://www.medirabbit.Com/FR/skin./fusobacterium fr.pdf](http://www.medirabbit.Com/FR/skin./fusobacterium.fr.pdf) (page consulté le 26/03/2014).
- **Vasquez B, DI Sol M (2009).**Estereoliacomparativa entre as glandulasdelcomplejoprostaticodelconejo Oryctolagus. International journal morphology.27 : 205-210.
- **Veri J. P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocyto chemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J. Androl.* **14**: 23-44.
- **Vernet P., Rigaudiere N., Ghyselinck N., Dufaure J.P., et Drevet J.R. (1996).** In vitro expression of a mouse tissue specific glutathione-peroxidase-like protein lacking the selenocysteine can protect stably transfected mammalian cells against oxidative damage. *Biochem Cell Biol.* **74**:125-131.
- **Vernet P., Rock E., Mazur A., Rayssiguier Y., Dufaure J.P., et Drevet J.R. (1999).** Selenium in dependent epididymis-restricted glutathione peroxidase 5 protein (GPX5) can back up failing Se-dependent GPXs in mice subjected to selenium deficiency. *Mol Reprod Dev.* **54**:362370.
- **Vigueras-villasenor R.M., Montlongo-Solis P., Chavez-Saladana M.D., Gutiérrez-perez o., Arteaga-Silva M. et Rojas- Castaneda J.C. (2003).** postnatal testicular development in the chinchilla rabbit. *Acta Histochemica* :9.

W

- **Walter M.R, Martinet L., Moret B. et Thibault C. (1968).** Régulation Photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin mâle et femelle. *Archives d'anatomie, d'Histologie et d'Embryologie normales et expérimentales*, Tome SI, Fasc. 1/8, 77S-780.
- **Welsh U., 2002,** Précis d'histologie, cytologie, histologie, anatomie microscopique .-tournai (Belgique) : éd médicales internationales.-260p.
- **Wheater P., Trad R et Validire P, (2001).** Histologie fonctionnelle. 4^{ème} édition, Paris : groupe de Boecks .413P.
- **Widmaier H., Raff K. et Strang T. (2009).** physiologie humaine, maloine. p: 703.
- **Wolter Kluwer,(2007).** Botanique pharmacognosie phytothérapie.1, Cus Eugène et Armand peugeot.92500 Reuil. Malmaison cedex.

- **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.
- **Wrobell K.H. (1990).** Male reproduction system. In : Textbook of Veterinary Histology, 2^{ème} Ed: 226-243

Y

- **Yanagimachi R. (1994).** Mammalian fertilization, 2nd. Raven Press, New York, Ny, USA.
- **Yu L.C et Chen Y.H.(1993).** The developmental profile of lactoferrin in mouse epididymis. J. Biochem. 296 :107-111.

Z

- **Zemmoudj A., 2001.** Influence des conditions d'ambiance de printemps sur les performances du lapin de race locale élevé en semi plein air. Mémoire d'ingénieur d'Etat en Agronomie. INA (EL Harrach). 37p.

Résumé

L'étude porte sur les effets des huiles essentielles, *Mentha peperita*., *Rosmarinus officinalis* et *Salvia Officinalis* à deux doses différentes (100µl/Kg et 200µl /Kg) sur les paramètres macroscopique (poids corporel et le poids et volume des testicules) et microscopique (études histologique) du lapin (*Oructolagus cuniculus*) prépubère (3mois) appartenant à la souche synthétique. Notre étude porte sur 21 lapins répartis en 7 lots dont 1 lot témoin et 2 lots pour chaque huile essentielle utilisée. Les animaux ont été pesés puis traités par les différentes huiles par voie orale une seule fois, après une semaine d'administration les lapins ont été sacrifiés, les testicules ont été prélevés, dégraissés puis pesés puis fixés pour effectuer une étude histologique. Les résultats obtenus montrent que les paramètres macroscopiques (poids corporel et poids des testicules et épидидymes) sont plus élevés chez les lapins traités par rapport aux témoins, dont la dose 2 (200 µl/kg) présente des valeurs plus importantes que la dose 1 (100 µl/kg). Cependant les huiles essentielles ont un effet plus marqué chez ceux traités par la Menthe poivrée puis Romarin et enfin Sauge officinale. Sur le plan histologique les testicules des lapins traités par la dose 1 de la Sauge et Romarin présentent quelques spermatozoïdes allongés, qui devient plus fréquent chez ceux traités par la dose 2. Tandis que la Menthe Poivrée induit à un nombre plus abondant de spermatozoïdes allongés chez les animaux traités par la dose 1 et ceux traités par la dose 2 quelques spermatozoïdes apparaissent dans la lumière des tubes séminifères. De ce fait il semblerait que les huiles essentielles utilisées à différentes doses ont un effet positif sur le développement des testicules, la spermatogenèse et la fertilité des lapins prépubère avec des effets plus marqués chez ceux traités par la Menthe poivrée suivie du Romarin à verbenone, puis la Sauge officinale.

Mots clés

Lapins mâles, Huiles essentielles, Menthe poivrée, Testicule, Reproduction

Abstract

The study focuses on the effect of essential oils, *mentha pepirita*, *rosmarinus officinalis*, *salvia officinalis* at two different doses (100µl/Kg and 200µl/Kg) on macroscopic (body weight and weight and volume of testes) and microscopic (histological studies) parameters of the rabbit (*Oructolagus cuniculus*) prepubescent (3 months) belonging to the synthetic strain. Our study involved 21 rabbits divided into 7 batches including 1 control batch and 2 batches for each essential oil used. The animals were weighed and then treated with the different oils orally only once, after one week of administration the rabbits were sacrificed, the testicles were taken, defatted, weighed and then fixed for a histological study. The results obtained show that macroscopic parameters (body weight and weight of testes and epididymides) are higher in treated rabbits compared to controls, where dose 2 (200µl/kg) shows higher values than dose 1 (100 µl/kg). However, essential oils have a more marked effect in those treated with Peppermint, then Rosemary and finally Sage officinale. Histologically, the testicles of rabbits treated with dose 1 of Sage and Rosemary show some elongated spermatids, which becomes more frequent in those treated with dose 2 while Peppermint induces a more abundant number of elongated spermatids in animals treated with dose 1 and those treated with dose 2, some spermatozoa appear in the lumen of the seminal tubes. Therefore it would seem that the essential oils used at different doses have a positive effect on the development of the testis spermatogenesis and fertility of prepubescent rabbits with more marked effects in those treated with Peppermint followed by Rosemary with Verbenone, then Sage.

Keywords

Male rabbits, Essential oils, *mentha pepirita*, Testis, Reproduction.