



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction.

Thème

***Étude des effets des huiles essentielles Romarin à
verbénone et Sauge officinale à deux doses différentes
sur la structure épидидymaire des lapins mâles
prépubères de la souche synthétique.***

Réalisé par : Mlle DAOUD Nouara

Soutenue devant le jury composé de

Mme.MEDJDOUB-BENSAAD F.	Professeur	UMMTO	Présidente.
Mme.LAKABI-AHMANACHE L.	MCB	UMMTO	Promotrice.
Mme.GUERMAH D.	MAB	UMMTO	Examinatrice.

2019-2020

Remerciements

Je remercie Allah. Grand et miséricordieux. Le tout puissant pour le courage qu'il m'a donné pour mener ce travail à terme.

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et profond respect à ma promotrice **Mme. LAKABI L.** maître de conférences classe B à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou qui m'a fait l'honneur d'accepter de me diriger tout au long de mon travail, pour sa patience, son aide, sa disponibilité, sa gentillesse et surtout ses judicieux conseils.*

*Je voudrais aussi remercier **Mme. MEDJDOUB F.** professeur à l'UMMTO d'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance et pour son accueil dans son laboratoire, mes sincères remerciements et mon immense gratitude.*

*J'exprime ma reconnaissance à **Mme. GUERMAH D.** maître assistante de classe B UMMTO, merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail et merci pour votre gentillesse.*

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

À mon très cher papa,

Qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, merci d'être le père que tu es, de croire en moi, merci pour ton soutien, tous tes sacrifices.

À ma très chère maman,

Qui m'a toujours encouragé, merci pour ton amour, ton affection et ta bienveillance.

Ces quelques lignes ne suffisent pas à faire une belle phrase digne de vous, je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serais demain.

À mes deux chers frères

Mourad et Djafar que j'aime tant.

À ma petite sœur adorée

Thanina.

À ma famille

Mes grands-parents, mes oncles, mes tentes, tous mes cousins et cousines, merci pour votre soutien.

À mon camarade Hakim RABIA,

Merci pour le temps que tu m'as consacré et l'aide que tu m'as apporté, merci pour tes conseils et ta gentillesse.

À mes très chers amis

Avec lesquels j'ai pu partager des moments de bonheur uniques Kahina, Mina, Céline, Radia, Ferroudja, Amine, Lydia, un grand merci à vous.

À toute la promotion MII BPR (2019-2020).

À tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail

Liste des figures et planches

Figure 1 : Représentation schématique de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas et <i>al.</i> , 1996).....	2
Figure 2 : Vascularisation et innervation du testicule (Bailleul et Mauroy, 1991).....	4
Figure 3 : Anatomie de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).....	5
Figure 4 : Coupe longitudinale du testicule montrant les différentes structures du testicule (Müller et Clos, 1997).....	8
Figure 5 : Portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).....	9
Figure 6 : Représentation des différentes jonctions spécialisées de l'épithélium séminifère (Mruk et Cheng, 2004).	10
Figure 7 : Schéma de la structure de spermatozoïdes des mammifères (Le Moigne et Fourcier, 2009).....	12
Figure 8 : Schéma représentatif de l'épididyme, montrant les différents segments (Breton et Da Silva, 2012).....	14
Figure 9 : Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009).	14
Figure 10 : Différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).	18
Figure 11 : Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours (Prud'hon, 1973 cité par Lebas, 2009).	19
Figure 12 : Différentes étapes de la vie sexuelle du mâle (Boussit, 1989).....	19
Figure 13 : Cycle spermato-génique chez le lapin (Charles PAX, 2017).	22
Figure 14 : Étapes de la spermiogenèse (Lévêque, 2003).	23
Figure 15 : Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).	24
Figure 16 : Durée du transit (en jours) des spermatozoïdes dans la tête (noir), le corps (clair) et la queue (gris) de l'épididyme chez différentes espèces (Robaire et Hermo, 1988).....	27
Figure 17 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).	28
Figure 18 : Influence d'un séjour de 8h à 34°C, pratiqué 1 journée ou 5 jours consécutifs en semaine zéro, sur le pourcentage de spz morts déterminé au cours des 8 semaines suivantes (Kasa et Thwaites, 1992).	31

Figure 19 : Pourcentage de spermatozoïdes vivants dans les éjaculats de lapins entretenus sous un éclairage de 8h ou de 16h de lumière de jour (Theau clément et <i>al.</i> , 1994).	32
Figure 20 : Lapins de la souche améliorée âgés de 3 mois issus d'un élevage cunicole de Tizirt, wilaya de Tizi-Ouzou.	36
Figure 21 : Lapins dans des cages spéciales.	38
Figure 22 : Pesée des lapins et administration des deux huiles essentielles aux doses (100 et 200µl/Kg).	39
Figure 23 : Sacrifice des lapins.	39
Figure 24 : Épидidyme du lapin lors du sacrifice et détermination du poids et volume des épидидymes.	40
Figure 25 : Série des bains de déshydratation des gonades.	41
Figure 26 : Organes placés dans des moules de Paraffine et blocs de paraffine obtenue après inclusion.	42
Figure 27 : Dispositif de la coupe, microtome.	42
Figure 28 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par les deux huiles essentielles Romarin à verbenone et Sauge officinale à deux doses différentes (100-200µl/Kg).	45
Figure 29 : Poids des épидидymes droits et gauches en fonction de la dose des deux huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.	47
Figure 30 : Poids épидидymaire total en fonction de la dose des deux huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.	48
Figure 31 : Poids relatif des épидидymes en fonction de la dose des huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.	49
Figure 32 : Volumes épидидymaires totaux des lapins âgés de 3 mois en fonction des doses des huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.	50
Figure 33 : Coupe histologique de l'épидидyme d'un lapin âgé de 3 mois après coloration avec le trichrome de Masson.	52
 Planche 1: Coupe histologique de l'épидидyme d'un lapin pré pubère traité par l'huile Sauge officinale après coloration avec le trichrome de Masson.	53
Planche 2 : Coupe histologique de l'épидидyme d'un lapin pré pubère traité par l'huile essentielle Romarin à verbénone après coloration avec le trichrome de Masson.	54

SOMMAIRE

Liste des figures et planche

Introduction

CHAPITRE I : Rappels bibliographiques

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle	2
1.1. Anatomie du testicule.....	3
1.1.1. Caractéristiques et position des testicules	3
1.1.2. Vascularisation et innervation des testicules.....	3
1.2. Anatomie de l'épididyme.....	4
1.3. Anatomie du canal déférent	5
1.4. Anatomie du canal efférent	5
1.5. Anatomie du canal éjaculateur	6
1.6. Anatomie de l'urètre	6
1.7. Anatomie des glandes annexes	6
1.7.1. Vésicule séminale.....	6
1.7.2. Glande vésiculaire (Pro prostate ou Prostate crâniale).....	6
1.7.3. Prostate	6
1.7.4. Glandes para prostatiques.....	7
1.7.5. Glandes de Cowper (glande bulbo-urétrale)	7
1.8. Pénis	7
2. Histologie de l'appareil reproducteur mâle.....	7
2.1. Histologie du testicule	7
2.1.1. Tubes séminifères.....	8
2.1.1.1. Cellules de Sertoli	9
2.2. Histologie de l'épididyme.....	13
2.2.1. Cellules principales	15
2.2.2. Cellules basales	15
2.2.3. Cellules en Halo	15
2.2.4. Cellules claires	15
2.2.5. Cellules apicales.....	16

2.2.6. Cellules étroites	16
--------------------------------	----

CHAPITRE II: Physiologie de la reproduction

1. Développement des gonades et puberté	17
2. Développement pondéral	18
3. Maturation sexuelle	19
3.1. Phase infantile	20
3.2. Phase pré pubertaire	20
3.3. Puberté	20
3.4. Maturité sexuelle	21
4. Développement comportemental	21
5. Développement hormonal.....	21
6. Fonctions physiologiques du testicule	21
6.1. Spermatogenèse	22
6.2. Stéroïdogénèse	24
7. Fonctions physiologiques de l'épididyme.....	25
7.1. Maturation des spermatozoïdes.....	25
7.2. Acquisition de la mobilité	25
7.3. Modification de la membrane des spermatozoïdes	25
7.4. Protection des spermatozoïdes	26
7.5. Stockage des spermatozoïdes.....	26
7.6. Transport des spermatozoïdes.....	26
8. Mode de sécrétion de l'épididyme	27
8.1. Sécrétion mérocrine	27
8.2. Sécrétion apocrine.....	28
9. Régulation hormonale de la fonction de la reproduction.....	28
9.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique	28
9.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule	29
9.3. Régulation intragonadique des fonctions testiculaires.....	29
9.4. Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire	29
10. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins	30

10.1. Effet de température.....	30
10.2. Effet de l'hygrométrie	31
10.3. Effet saison.....	31
10.4. Effet d'éclairement et photopériode.....	32
10.5. Effet de l'alimentation	33
10.6. Effet de l'âge	33
11. Autres facteurs	34

CHAPITRE III:Matériels et méthodes

1. Matériel biologique	35
1.1. Modèle expérimental.....	35
1.2. Huiles essentielles utilisées	36
1.2.1. Romarin à verbénone (Romarinusofficinalis)	36
1.2.2. Sauge officinale (Salvia officinalis)	36
1.2.3. Propriétés physico-chimiques	37
2. Autres matériels	37
3. Expérimentation.....	37
3.1. Alimentation et abreuvement	37
3.2. Constitution des lots.....	38
3.3. Pesée et administration des huiles essentielles	38
3.4. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes	39
4. Étude histologique.....	40
4.1. Fixation	40
4.2. Déshydratation et éclaircissement.....	41
4.3. Imprégnation	41
4.4. Inclusion.....	41
4.5. Confection des coupes et étalement	42
4.6. Déparaffinage et hydratation.....	43
4.7. Coloration topographique	43
4.8. Montage	43
4.9. Observation des lames	43
5. Étude statistique.....	43

CHAPITRE IV: Résultats et discussion

1. Résultats de l'étude macroscopique	45
1.1. Évolution du poids vif des animaux.....	45
1.2. Poids épидидymaire.....	46
1.2.1. Poids épидидymaires droits et gauches	46
1.2.2. Poids épидидymaire total	47
1.2.3. Poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel.....	49
1.2.4. Volume épидидymaire total.....	50
2. Résultats de l'étude microscopique	52
2.1. Épидидyme des lapins témoins.....	52
2.3. Épидидymes des lapins traités par le Romarin à verbénone	53
3. Discussion des résultats	54
Conclusion	56
Références bibliographiques	57
Résumé	

Le lapin peut être utilisé en tant qu'animal de laboratoire destiné à la recherche médicale et à l'application biotechnologique puisqu'il offre beaucoup d'avantages notamment dans le domaine de la reproduction, en effet, il est caractérisé par un court intervalle entre les générations, une bonne productivité, une facilité d'élevage et une prolificité importante (Joly et Theau Clément, 2000).

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de l'huile essentielle dans des secteurs très divers. Cependant, plusieurs plantes utilisées ont été signalées comme ayant un effet sur les fonctions reproductrices mâles chez les animaux et les humains.

Les huiles essentielles connues des civilisations anciennes et aujourd'hui scientifiquement reconnues, sont des extraits purs provenant d'une sécrétion naturelle élaborée par certaines plantes aromatiques et présentent des effets pharmacologiques, psychologiques et physiologiques.

Selon Franchomme (1990), ils existent des huiles essentielles présentant des propriétés dites oestrogène-like qui sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en la perturbant. Parmi ces huiles essentielles on retrouve celle de Romarin à verbénone et de la Sauge officinale.

La fertilité masculine est sous la dépendance de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire et elle est marquée par une différenciation gonadique, une descente des testicules, un début de la puberté, la prolifération et la maturité des cellules testiculaires (Vigueras-Villasenor et *al.*, 2003).

L'épididyme qui est un long tubule pelotonné reliant le testicule au canal déférent joue un rôle très important dans la fertilité des mâles en assurant la maturation des spermatozoïdes (Kirchloff, 1999).

Le taux de fertilité des lapins blancs algériens est faible par rapport à celui des autres populations de lapins d'autres pays.

Dans ce cadre, l'objectif de notre étude porte sur l'effet des deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids et volume des épидидymes) et sur les structures histologiques de l'épididyme du lapin mâle pré pubère de la souche synthétique, une alternative qui nous permettra d'aboutir à une augmentation de la fertilité de ces animaux, ainsi qu'une meilleure productivité du lapin.

De ce fait, notre travail est subdivisé en quatre chapitres dont le premier abordera les différentes connaissances bibliographiques sur l'appareil reproducteur mâle, le deuxième chapitre qui traitera la physiologie de la reproduction, le troisième chapitre exposera les matériels et méthodes utilisés et le quatrième chapitre exposera les résultats obtenus suivis de leur discussion. En fin, on termine ce travail par une conclusion et un ensemble de perspectives.

Chapitre I
Rappels bibliographiques

L'organisation générale de l'appareil génital du lapin mâle est voisine à celle des autres mammifères, sauf pour la capacité supplémentaire de pouvoir rétracter les testicules dans l'abdomen et quelques différences concernant la taille, le poids et la forme des organes (Hamon et *al.*, 1999).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

L'appareil génital du lapin mâle est situé postérieurement et s'extériorise par des bourses peu marquées par rapport aux autres mammifères (Boussit, 1989).

Il comprend deux gonades (testicules), un tractus génital formé par les voies spermatiques intra et extra testiculaires (tubes droits et *rête testis*, canaux efférents, épидидyme, canal déférent, canal éjaculateur), des glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes de Cowper), et un tractus uro-génital représenté par l'urètre (Figure 1) (Friry-Santini, 2007).

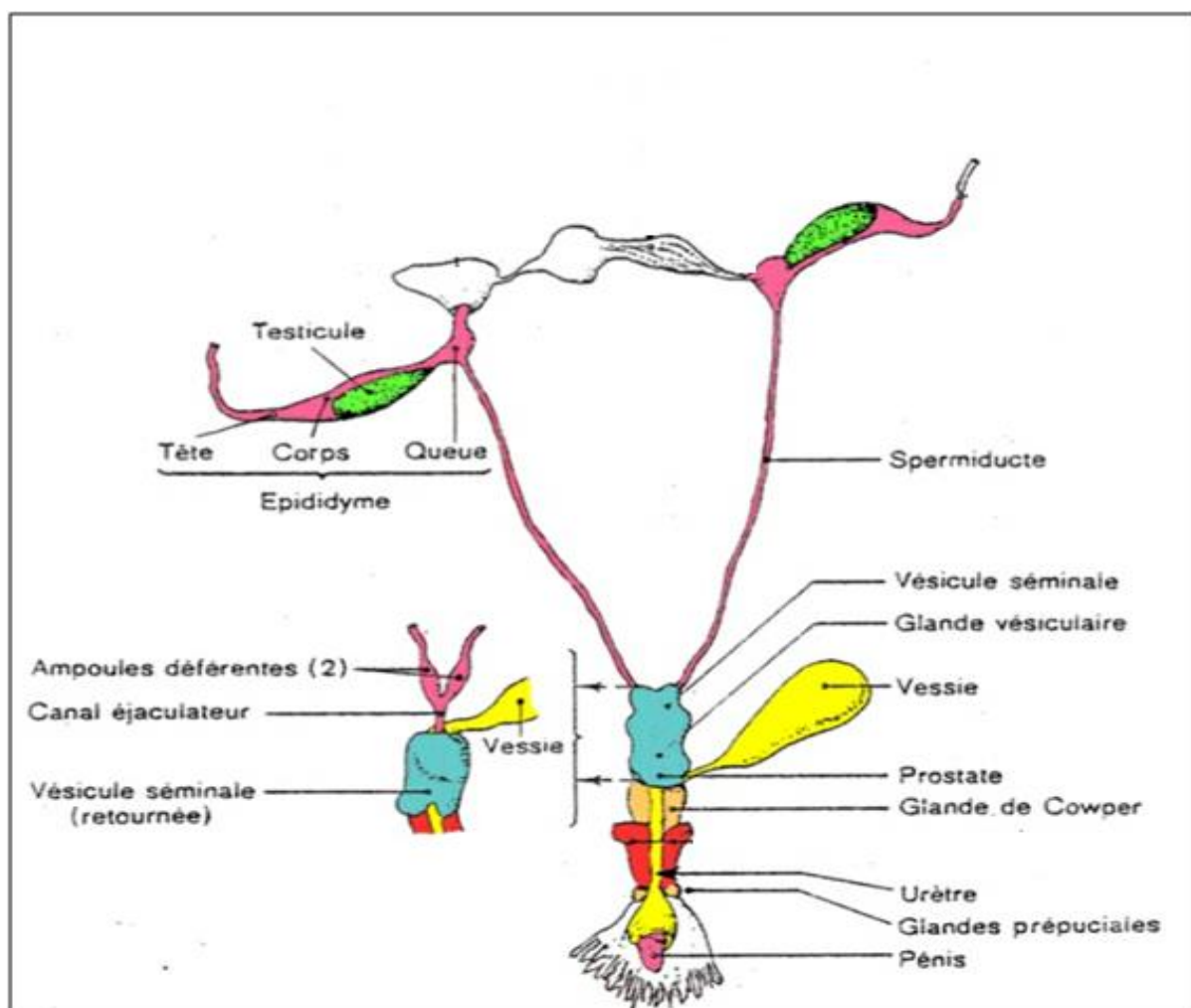


Figure 1 : Représentation schématique de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas et *al.*, 1996).

1.1. Anatomie du testicule

Les testicules sont des organes dotés d'une double structure, un compartiment tubulaire (tubes séminifères) et un compartiment interstitiel assurant deux fonctions essentielles qui sont la formation des gamètes mâles ou spermatozoïdes, assimilée à une fonction exocrine, et la synthèse et sécrétion d'hormones stéroïdes (androgènes, essentiellement la testostérone), fonction endocrine (Muller et Clos, 1997).

1.1.1. Caractéristiques et position des testicules

Les testicules sont des organes pairs, pleins, ovales et allongés, amincis aux extrémités, de couleur rosée, de consistance ferme et élastique, situés de part et d'autre de la ligne inguinale et logés dans le scrotum à l'extérieur de la cavité abdominale. Cette situation leur permet de se maintenir à une température inférieure de 2 à 3 degrés de la température corporelle, une température de 34 à 35°C essentielle pour une spermatogenèse normale (Barone, 1984 ; Van Nyugen, 2007).

Les testicules d'un lapin de 4,5 Kg mesurent 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et pèsent de 1,5 à 2 g. Ils sont facilement extériorisables par pression antéropostérieure sur l'abdomen lors du sexage de l'animal (Solau Poissonet, 2004).

Le lapin est alternativement exorchide lorsque les testicules montent dans la cavité abdominale en raison de la fermeture du canal inguinal sous l'effet de la frayeur ou lors de combats avec d'autres mâles, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster (Boussit, 1989 ; Barone, 2001).

L'organisation interne du testicule est semblable à celle des autres mammifères. Les testicules ainsi que leurs premières voies d'excrétion (épididyme et début du conduit déférent) et ses vaisseaux sont protégés et soutenus par les enveloppes testiculaires.

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

1.1.2. Vascularisation et innervation des testicules

Le système testiculaire est vascularisé et drainé par un complexe d'artères et de veines (Figure 2) qui assurent l'approvisionnement sanguin (les artères testiculaires, les veines testiculaires et épididymaires).

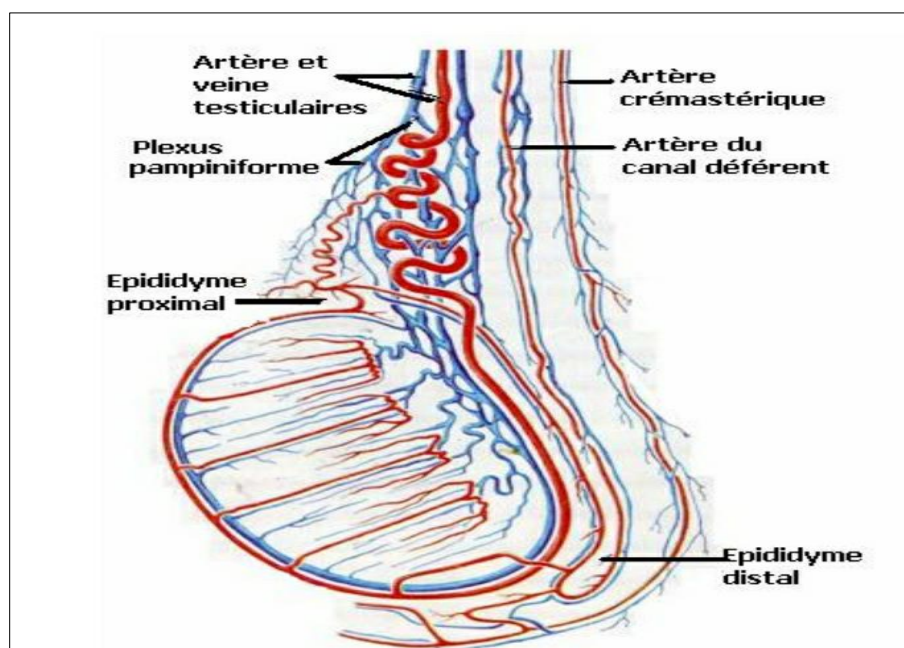


Figure 2 : Vascularisation et innervation du testicule
(Bailleul et Mauroy, 1991).

La vascularisation veineuse quant à elle, s'organise en trois groupes qui sont le plexus pampiniforme qui constitue la veine testiculaire, la veine déférentielle qui naît également du carrefour veineux et la veine crémastérienne qui est branchée sur le réseau du testicule et de l'épididyme au niveau d'un carrefour veineux situé au pôle caudal du testicule (Saadaoui, 2017).

L'innervation du complexe testiculaire est étroitement liée au système vasculaire, elle provient du plexus mésentérique caudal et dépend de deux plexus nerveux (le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus déférentiel qui est sympathique) (Jardin et De Fourmenstrau, 1984).

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

1.2. Anatomie de l'épididyme

Les spermatozoïdes quittent les canalicules efférents pour être dirigés dans l'épididyme où ils subissent leur maturation (Figure 3) (Hamilton, 1975 ; Robaire et Hermo, 1988).

L'épididyme du lapin est situé au bord médian du testicule avec lequel est lié, c'est un canal extrêmement replié sur lui-même à l'intérieur d'une tunique conjonctive qui lui confère une forme globale et allongée en croissant d'un pôle à l'autre du côté dorsal du testicule, sa longueur diffère selon les espèces et est de 1,5 à 3cm chez le lapin (Barone, 1978).

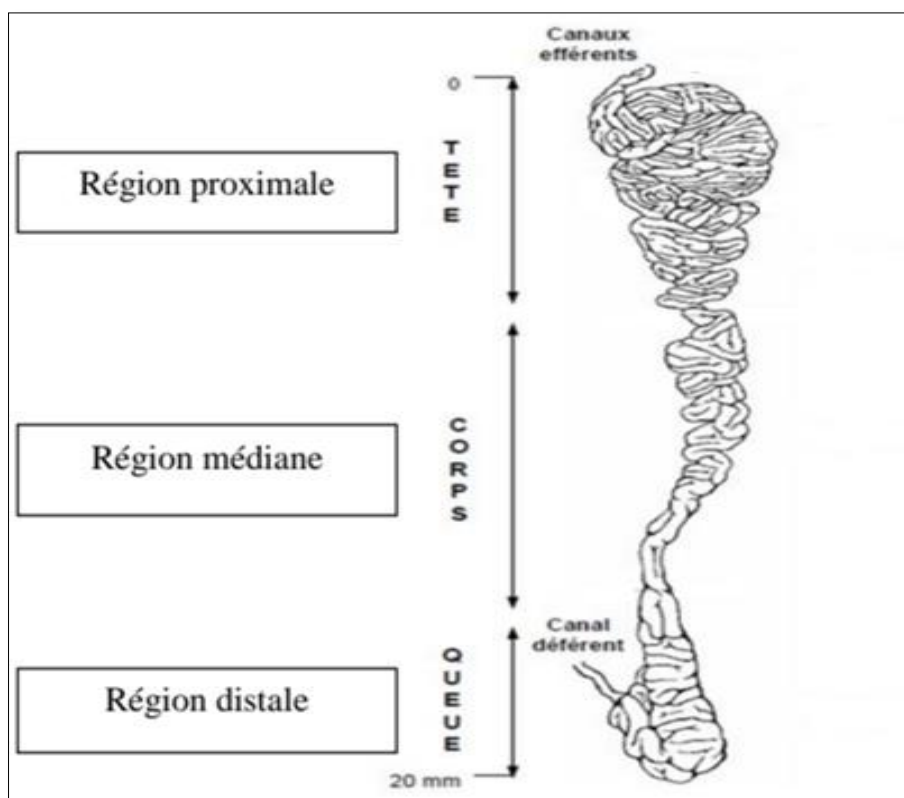


Figure 3 : Anatomie de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).

Selon Barone (1978), l'épididyme forme des lobules séparés par des travées conjonctives ou *septa* et comporte trois parties, une tête (*caput* ou région proximale) volumineuse qui coiffe largement l'extrémité du testicule dans laquelle pénètrent les cônes efférents, un corps (*corpus* ou région médiane) représentant la portion moyenne qui est épaisse chez le lapin ,très pelotonnée, constituée essentiellement par le canal épидидymaire, une queue (*cauda* ou région distale) bien détachée formant un appendice globuleux et mobile, suivi par le canal déférent.

1.3. Anatomie du canal déférent

Le conduit déférent (spermiducte) est un prolongement de l'épididyme, il s'élargit à son extrémité pour former une ampoule (Setchell et Brooks, 1988).

1.4. Anatomie du canal efférent

Les canaux efférents sont situés immédiatement après le *rête testis* et permettent aux spermatozoïdes de se rendre jusqu'à l'épididyme et sont responsables de 91% des fluides réabsorbés au moment où les spermatozoïdes quittent les testicules (Nixon et *al.*, 2002).

1.5. Anatomie du canal éjaculateur

Chez les mammifères, le canal éjaculateur est un canal court, qui se situe derrière la vessie et se prolonge du canal déférent après l'abouchement des vésicules séminales et traverse la prostate pour s'ouvrir dans l'urètre. Ce canal éjecte les spermatozoïdes dans l'urètre prostatique juste avant l'éjaculation (Tortora et *al.*, 1995).

1.6. Anatomie de l'urètre

D'après Marieb (1999) et Barone (2001), l'urètre est la portion terminale de la voie génitale mâle qui part de la vessie et tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité, c'est un conduit long de 12 à 13 cm, dont 8 à 9 seulement pour la partie pénienne, il sert à l'excrétion de l'urine et du sperme.

1.7. Anatomie des glandes annexes

L'ensemble des sécrétions des glandes annexes constitue le liquide spermatique lequel mélangé aux spermatozoïdes constitue le sperme. Plusieurs types de glandes sont associées au tractus génital mâle à savoir la vésicule séminale, la glande vésiculaire, la prostate, les glandes para prostatiques et les glandes de Cowper (Tortora et *al.*, 1995).

1.7.1. Vésicule séminale

Ce sont deux petits organes, d'environ 2,5 cm, glandulaires, bosselés, avec un aspect ajouré, annexés aux canaux déférents au niveau de leur portion terminale, sa partie caudale fusionne avec les canaux déférents pour former un canal éjaculateur impair qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre. Ces glandes élaborent un liquide clair, gélatineux, épais et blanc, le plasma séminal constituant une partie du sperme (Barone, 1984 ; Abraham et Kiersznbaum, 2002 ; Welsch, 2002).

1.7.2. Glande vésiculaire (Pro prostate ou Prostate crâniale)

La glande vésiculaire est de forme ovale, relativement volumineuse, bilobée avec une couleur blanchâtre liée à l'accumulation des sécrétions granulaires blanches. Sur la face dorsale, elle s'ouvre dans l'urètre par deux canaux excréteurs (Holtz et Foot, 1978).

1.7.3. Prostate

La prostate est un organe impair et médian de la taille et de la forme d'une petite châtaigne, sa position est antérieure à la vessie et aux vésicules séminales et s'ouvre dans l'urètre. Elle est formée de plusieurs glandes tubulo-alvéolaires qui sécrète environ 1/3 du volume de sperme, cette sécrétion est légèrement acide et contenant divers ions (Setchell et Brooks, 1988).

1.7.4. Glandes para prostatiques

Selon Holtz et Foot (1978), tous les lapins ont au moins une paire de glandes para prostatiques qui sont de petite taille et de forme arrondie, situées ventralement à la prostate et de part et d'autre de l'urètre où elles se débouchent par un nombre variable de petits conduits (Barone, 2001).

1.7.5. Glandes de Cowper (glande bulbo-urétrale)

Les glandes de Cowper entourées chacune par un corpuscule conjonctif sont des formations sphériques, bilobées, placées postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elles s'ouvrent par au moins 4 canaux (Sabbagh, 1983 ; Roger, 2002). Ces glandes sécrètent un épais mucus translucide dans la partie spongieuse de l'urètre pour neutraliser les traces d'urines présentes dans l'urètre avant l'éjaculat (Setchell, 1998).

1.8. Pénis

Le pénis est l'organe mâle de copulation, de miction et de transfert de sperme chez les mammifères, il est érectile et dépourvu de gland prolongeant les voies génitales mâles et qui rétrofléchi chez le lapin. Il mesure 3 à 5 cm et se loge dans un repli tégumentaire, le fourreau et dirigé obliquement vers l'arrière au repos. Tandis que, pendant l'érection, il prend une position horizontale dirigé vers l'avant (Boussit, 1989).

2. Histologie de l'appareil reproducteur mâle

2.1. Histologie du testicule

Les testicules sont partiellement recouverts d'une membrane séreuse appelée tunique vaginale sous laquelle se retrouve la capsule fibreuse du testicule qui est l'albuginée s'étendant vers l'intérieur et forme des cloisons qui divisent chaque testicule en une série de compartiments internes, les lobules. Chaque lobule contient de 1 à 3 tubes étroitement enroulés, les tubes séminifères, qui produisent les spermatozoïdes (Figure 4) (Tortora et Grabowski, 1995).

Selon Thibault et Levasseur (2001), le testicule comprend deux compartiments cellulaires distincts issus de la partie interne de l'ébauche gonadique qui sont le compartiment germinale composé de cellules germinales et de cellules somatiques appelées cellules de Sertoli et le compartiment interstitiel composé principalement de cellules endocrines dites cellules de Leydig.

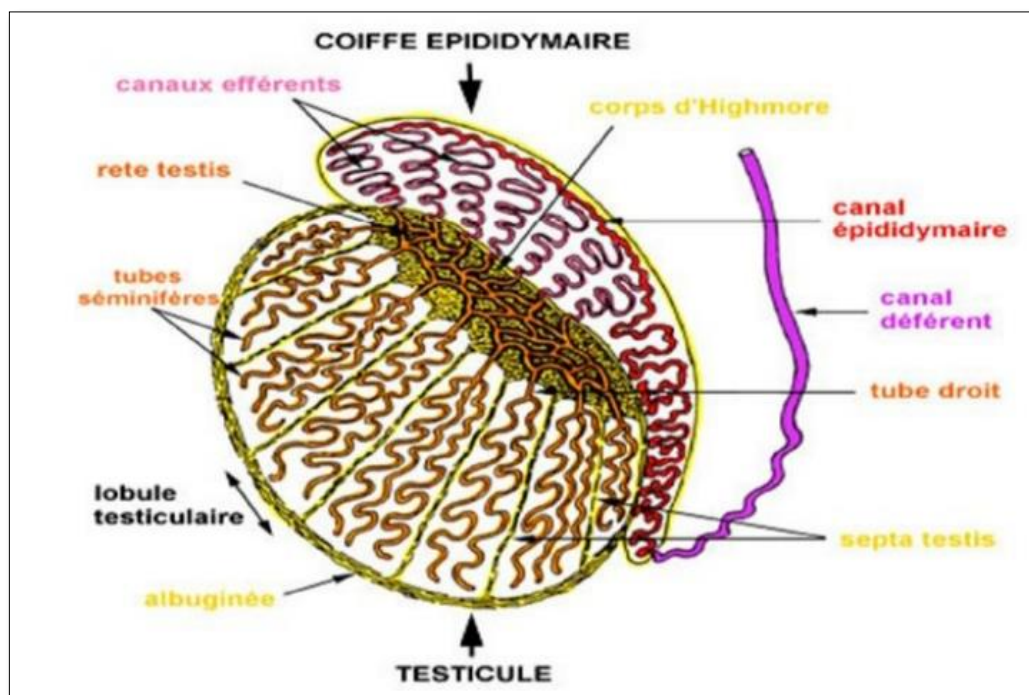


Figure 4 : Coupe longitudinale du testicule montrant les différentes structures du testicule (Müller et Clos, 1997).

2.1.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère est l'unité fonctionnelle du testicule, très long et flexueux (30 Cm à 1m de longueur pour, un diamètre de 300 à 400 μm chez le lapin), constitué par les cellules de soutien (les cellules de Sertoli) formant l'épithélium séminifère qui repose sur une lame basale, d'une lumière bordée par cette épithélium et essentiellement par les cellules germinales à des stades de développement variés (spermatogonies, spermatocytes et spermatides et spermatozoïdes) (Figure 5) (Martine Albert *et al.*, 2009; Worbel, 1990).

Chaque tube séminifère est limité par une paroi propre, la gaine péritubulaire et entouré d'une fine couche de cellules contractiles appelées cellules myoïdes péritubulaires qui participent à la propulsion et l'évacuation des spermatozoïdes immobiles dans le testicule (Dadoune et Siffroi, 2000).

Les tubes séminifères se prolongent par des petits tubes courts et rectilignes appelés tubes droits qui pénètrent ensuite dans le corps d'Highmore et forment un réseau de canalicules, le *rete testis* (Friry-Santini, 2007 ; Maerkawa *et al.*, 1996).

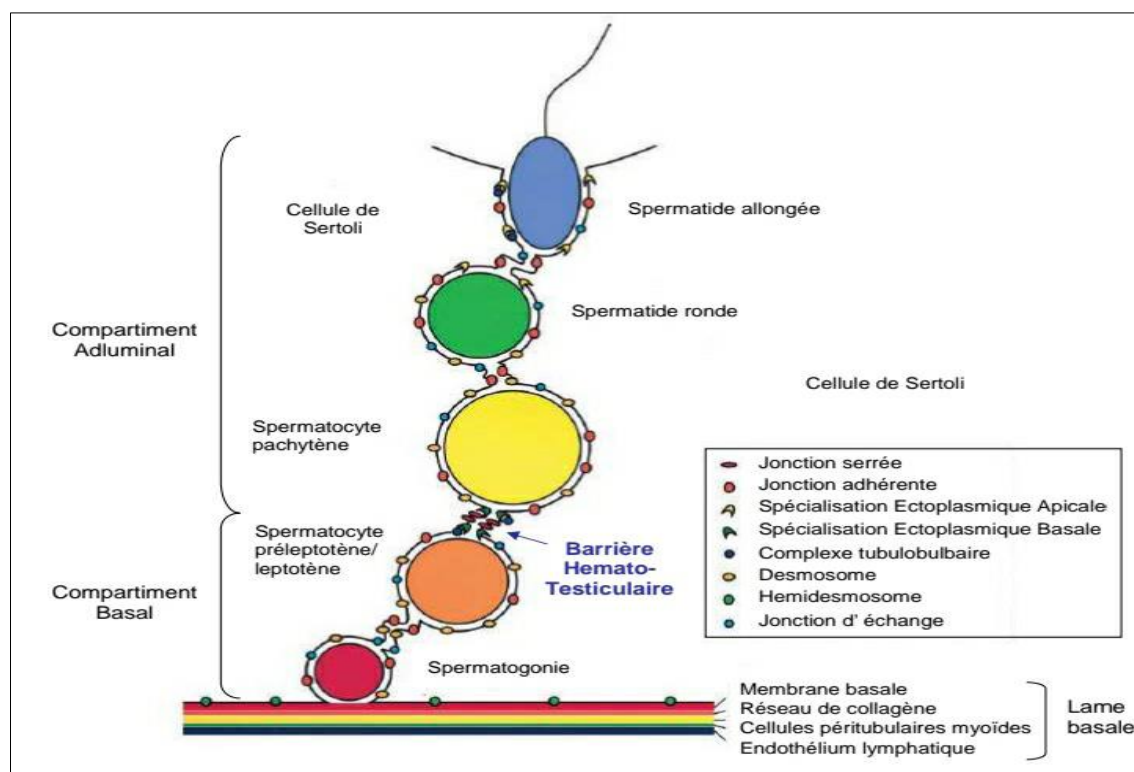


Figure 6 : Représentation des différentes jonctions spécialisées de l'épithélium séminifère (Mruk et Cheng, 2004).

2.1.1.2. Cellules de la lignée germinale

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère et s'étendent entre la membrane basale et la lumière du tube séminifère, elles représentent les différentes étapes de la spermatogenèse.

Quatre types de cellules germinales sont issues de la spermatogenèse à savoir les spermatogonies (Sp), les spermatozoïdes de premier ordre ou spermatozoïdes I, les spermatozoïdes de deuxième ordre ou spermatozoïdes II, les spermatozoïdes et les spermatozoïdes (Vacheret, 1999).

2.1.1.2.1. Spermatogonies et spermatozoïdes

Les spermatogonies se trouvent en contact directe avec la lame basale et sont reconnaissables grâce à l'état de condensation de leur chromatine.

Vacheret (1999) rappelle que les spermatogonies sont de petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 μm de diamètre dont on distingue trois sortes de spermatogonies selon l'aspect de leur noyau, les spermatogonies Ad (dark), cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense, avec nucléole périphérique et des vacuoles nucléaires qui se divisent pour donner les spermatogonies Ap qui sont des cellules de renouvellement à chromatine claire, avec nucléoles centraux et sans

vacuoles nucléaires et les spermatogonies B qui sont des cellules filles constituées d'un noyau ovalaire clair à chromatine mottée et un nucléole bien visible.

Les spermatocytes 1 sont des cellules diploïdes, arrondies, volumineuses, à cytoplasme est abondant et à noyau volumineux souvent en méiose contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments.

2.1.1.2.2. Spermatides

Les spermatides sont des cellules très nombreuses, ovoïdes, de petite taille de 6 à 7 μm de diamètre, à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001), elles se localisent à proximité de la lumière des tubes séminifères (Junqueira et Carneiro, 2007). Ces cellules vont subir une différenciation durant laquelle elles vont devenir plus petites et effilées correspondant aux spermatozoïdes, ce processus est appelé spermiogenèse (Ramé et *al.*, 2007).

2.1.1.2.3. Spermatozoïdes

Les spermatozoïdes, résultat final de la spermatogenèse, disposés en bouquet à l'apex des cellules de Sertoli, sont des cellules très petites dotées d'une motilité flagellaire et d'une forme filiforme constitués de trois parties distinctes la tête, la pièce intermédiaire et flagelle (queue) (Figure 7). Le spermatozoïde mûr est une cellule allongée de 55 à 57 μm de diamètre chez le lapin (Robert et Vincent 1995).

Chez le lapin la tête est piriforme et rétrécie caudalement, où elle mesure environ 6,5 μm de longueur sur 4 μm de largeur, elle constitue la partie essentielle car elle renferme une masse homogène de chromatine représentant le noyau, coiffée à sa partie antérieure par l'acrosome qui est aplati et pourvu de glycoprotéines et d'enzymes utilisées pour la pénétration de la membrane de l'ovocyte lors de la fécondation.

La pièce intermédiaire longue de 7 à 8 μm , c'est une partie cytoplasmique, rétrécie, elle représente le segment qui unit la tête à la queue. Elle renferme la majorité des mitochondries qui sont le siège de la production énergétique nécessaire au mouvement.

La queue ou flagelle assurant la mobilité du spermatozoïde, forme la quasi-totalité de la cellule, présente une pièce principale de 45 μm de diamètre constitué de neuf faisceaux de fibres denses, ainsi que d'une gaine protéique fibreuse périphérique et une pièce terminale de 1 à 2 μm de diamètre qui comporte le filament axial (Barone, 2001 ; Wargo et Smith, 2003 ; Turner, 2003).

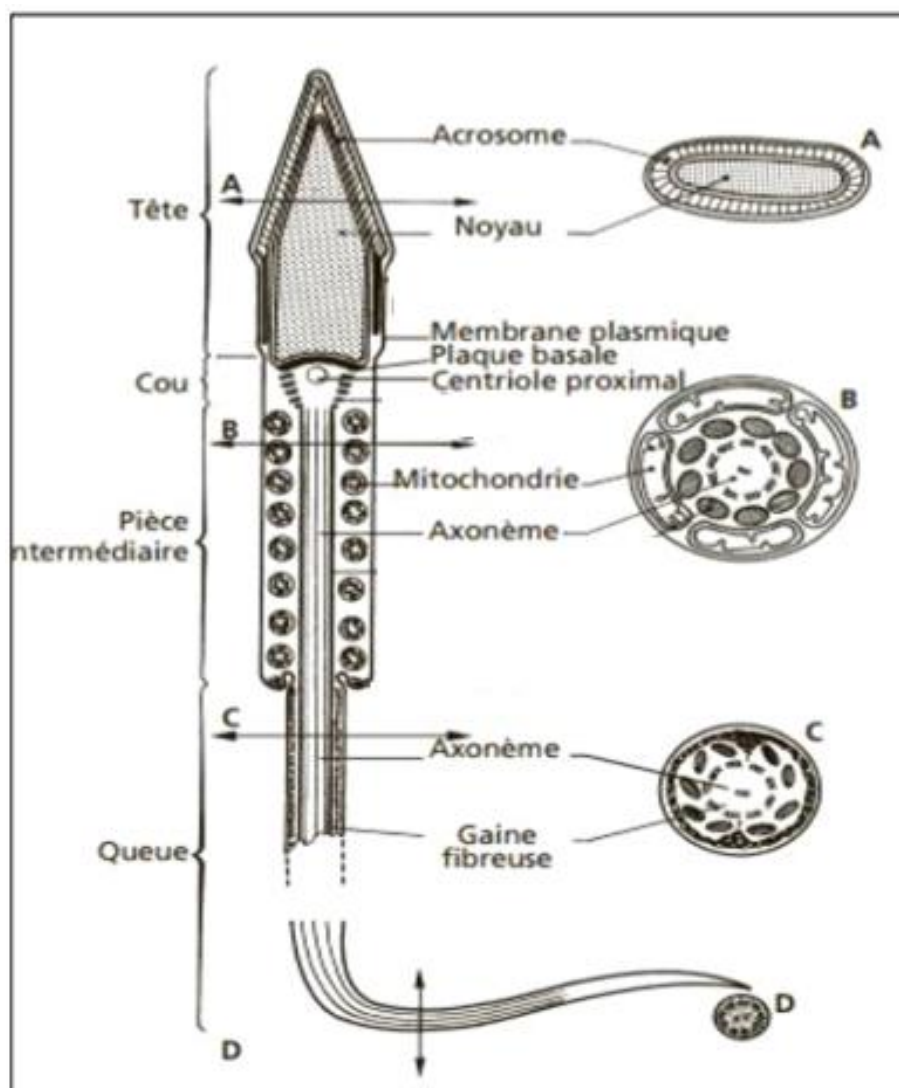


Figure 7 : Schéma de la structure de spermatozoïdes des mammifères (Le Moigne et Fourcier, 2009).

La queue ou flagelle assurant la mobilité du spermatozoïde, forme la quasi-totalité de la cellule, présente une pièce principale de 45 μm de diamètre constitué de neuf faisceaux de fibres denses, ainsi que d'une gaine protéique fibreuse périphérique et une pièce terminale de 1 à 2 μm de diamètre qui comporte le filament axial (Barone, 2001 ; Wargo et Smith, 2003 ; Turner, 2003).

2.1.1.3. Tissu interstitiel

Dans les espaces intertubulaires, le tissu interstitiel qui héberge les cellules de Leydig productrices d'hormones stéroïdiennes, apparaît comme un tissu conjonctif lâche qui contient des vaisseaux lymphatiques plus au moins développés qui permettent le drainage lymphatique du testicule et des capillaires sanguins propices à la circulation des hormones périphériques et testiculaires, des fibroblastes, des macrophages, des leucocytes, des mastocytes et de nombreux figurés de sang (Jégou et al., 2014).

2.1.1.4. Liquide des compartiments intra testiculaires

C'est un liquide riche principalement en potassium, en sucre, en minéraux, en magnésium, en phosphate, en calcium, en chlore, en hormones, et en neurotransmetteurs, très riche en Androgène-Binding Protein (ABP) et pauvre en autres protéines. Il est composé de 90% d'eau et a pour origine le plasma sanguin (Marieb, 2006).

Les cellules interstitielles et les tubes séminifères logés dans les espaces péri tubulaires baignent dans le liquide interstitiel qui participe aux fonctions endocrines et paracrines du testicule (Hazard et Perlemuter, 2000).

2.1.1.5. Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig, cellules majoritaires de l'interstitium chez le lapin, sont de forme polygonale de 10 à 15 μm de diamètre, isolées ou groupées en amas autour des capillaires sanguins et entourées par une lame basale discontinue, elles contiennent un noyau ovoïde dont la chromatine est périphérique, un volumineux nucléole, un cytoplasme dense riche en citernes de REL, des mitochondries peu nombreuses de taille variable garnies de crêtes tubulaires et d'enclaves lipidiques abondantes dans le cytoplasme des cellules matures. De nombreuses jonctions, de type Gap, desmosome et plus rarement des jonctions septées ont été mises en évidence au niveau de la membrane plasmique (Dadoune et Demoulin, 2001).

2.2. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend un épithélium pseudo stratifié entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses qui présentent des contractions péristaltiques régulières contrôlées par des fibres nerveuses noradrénergiques et cholinergiques qui permettent le transit des spermatozoïdes et du tissu conjonctif, contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins (Figure 8) (Robaire et Hermo, 1988 ; Setchell et *al.*, 1994).

La lumière bordée par cet épithélium, rejoint le système éjaculateur et permet le transit des spermatozoïdes qui baignent dans un milieu de nature très complexe « le fluide épидидymaire ». Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules. Cependant en raison des activités de synthèse, de sécrétion, et de réabsorption des cellules épithéliales, la composition de ce fluide varie tout le long du canal (Adamali et *al.*, 1999ab ; Hermo et Robaire, 2002).

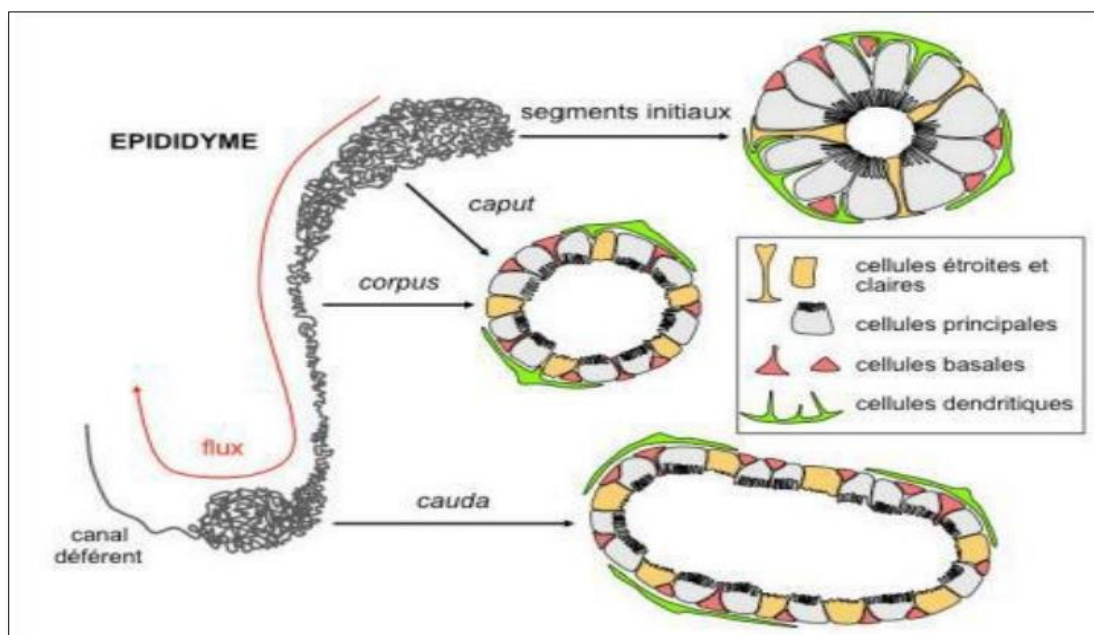


Figure 8 : Schéma représentatif de l'épididyme, montrant les différents segments (Breton et Da Silva, 2012).

Six types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épididymaire ; les cellules basales, étroites, claires, en halo, principales et apicales qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Figure 9) (Robaire et *al.*, 2006 ; Cornwall, 2009 ; Shum et *al.*, 2011).

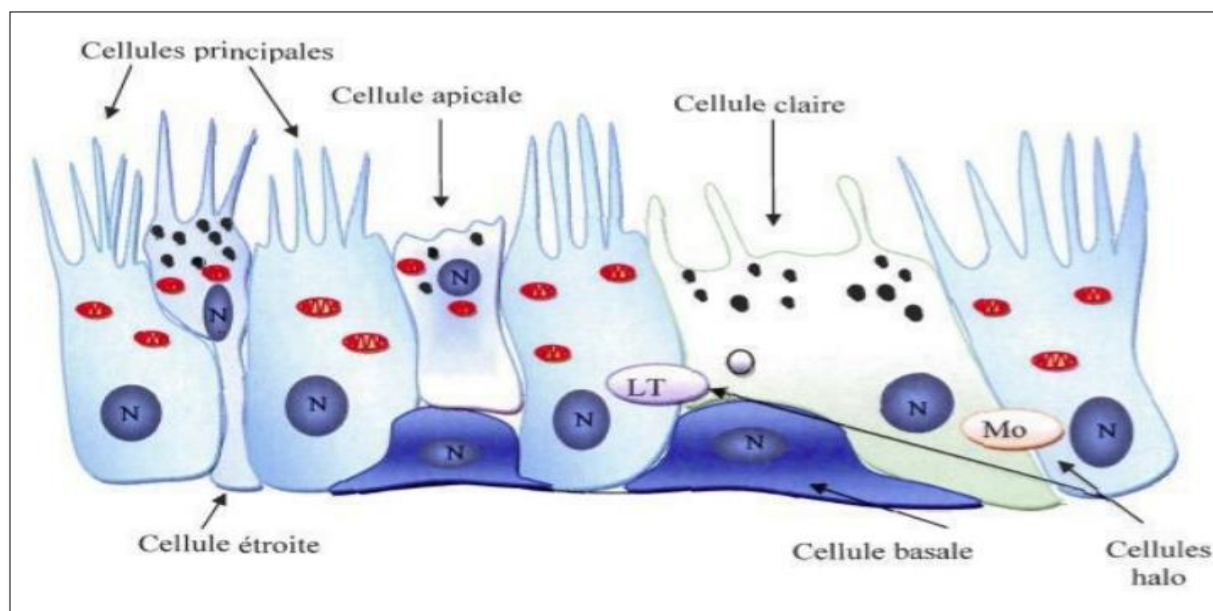


Figure 9 : Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009).

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

2.2.1. Cellules principales

Les cellules principales appelées cellules stériocillées, représentent 65 à 80 % des cellules épithéliales épididymaires mais présentent des différences de structure et de fonction selon la région épididymaire, sont larges et prismatiques (Hermo et Robaire, 2002) et présentent un noyau basal, des stériocils qui diminuent en longueur entre la tête et la queue épididymaire, de plus, la hauteur des cellules diminue alors que leur largeur augmente tout au long du canal. Elles sont très actives quant au transport et à la sécrétion de petites molécules organiques, à la synthèse et à la sécrétion de protéines et à l'absorption du fluide et de particules. Ces cellules sont reliées entre elles et jointes aux cellules avoisinantes par des jonctions serrées et des desmosomes (Robaire et Viger, 1995).

2.2.2. Cellules basales

Les cellules basales représentent 10 à 20% de la population cellulaire épididymaire totale et sont distribuées tout au long du canal épididymaire et reposent sur la membrane basale de l'épithélium (Girouard, 2009). Elles sont petites à la fois rondes et allongées et ont une apparence dite hémisphérique, leur noyau est irrégulier et leur cytoplasme pauvre en organites (Soranzo et *al.*, 1982).

Leur rôle est la détoxification et la protection immunitaire des spermatozoïdes par élimination de radicaux libres en participant à la formation de la barrière hémato-testiculaire (Veri et *al.*, 1993 ; Cooper, 1998 ; Selier et *al.*, 2000).

2.2.3. Cellules en Halo

Les cellules en Halo rondes et de petite taille ont un bord étroit, un cytoplasme clair riche en granules denses et un noyau dense. Elles sont retrouvées tout au long du canal épididymaire et décrites comme des cellules d'origine immunitaire et identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des macrophages qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal (Hoffer et *al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999). Elles s'insèrent généralement entre deux cellules principales adjacentes tout près de la lame basale et contribuent aussi à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Robaire et Hinton, 2015 ; Hoffer et *al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

2.2.4. Cellules claires

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

En terme de proportion, elles augmentent en nombre de manière croissante le long de l'épididyme, le rôle de ces cellules est d'acidifier le milieu extracellulaire afin de garder les spermatozoïdes matures immobiles durant leur transit épидидymaire et d'endocyter certaines particules du fluide épидидymaire à l'aide de leurs microvillosités, comme par exemple, la gouttelette cytoplasmique qui se détache lors de la maturation spermatique (Brown et Breton, 2000 ; Maxson et Grinstein, 2014 ; Hermo et *al.*, 1988).

2.2.5. Cellules apicales

Les cellules apicales responsables de l'acidification du fluide épидидymaire, occupent la position apicale au sein de l'épithélium épидидymaire et ne traversent pas toujours l'épithélium, ainsi, il semble que certaines n'entrent pas en contact avec la lame basale, elles sont présentes le long de l'épididyme mais leur nombre diminue en allant vers la queue du tubule. Elles présentent un noyau sphérique en position apicale et des microvillosités courtes et peu nombreuses, un cytoplasme dense très riche en mitochondrie et en lysosome (Martinez Garcia et *al.*, 1995 ; Robaire et *al.*, 2006 ; Cooper, 1998).

2.2.6. Cellules étroites

Les cellules étroites, peu nombreuses se retrouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme et sont situées en position apicale de l'épithélium mais envoient des prolongements cytoplasmiques très étroits vers la lame basale.

Elles sont pourvues d'un noyau allongé en position apicale, d'un cytoplasme riche en vacuoles, en mitochondries et en lysosomes, leur membrane apicale émet des villosités courtes, épaisses et irrégulières. Leur fonction est l'endocytose du contenu luminal et son acidification (Hermo et *al.*, 2000 ; Robaire et Hinton, 2014).

Chapitre II
Physiologie de la reproduction

La fonction de reproduction repose sur des interactions coordonnées entre les différentes composantes cellulaires, hormonales et biochimiques du système reproducteur et du système neuroendocrinien qui comprend l'axe hypothalamo-hypophysaire (Joly et Theau-Clément, 2000).

Chez le lapin, ce processus physiologique suit la même organisation que chez les autres mammifères. En effet, la production des gamètes ou spermatogenèse s'effectue dans le testicule, tandis que la maturation des spermatozoïdes s'accomplira au niveau de l'épididyme (Alvarino, 2000).

1. Développement des gonades et puberté

La différenciation des organes sexuels mâles (Figure 10) se déroule durant la vie fœtale et dépend de l'activité endocrinienne du testicule. Les testicules secrètent activement deux hormones essentielles ; les androgènes et l'hormone antimüllérienne (AMH) qui sont les messagers de la différenciation masculine émis par le testicule (Mitchelle et Sharma, 2005).

Durant le développement embryonnaire, l'albuginée se forme aux alentours du 14^{ème} et 15^{ème} jour de gestation, quelques jours plus tard se sont les tubes séminifères qui se forment à leur tour. Entre le 10^{ème} et le 26^{ème} jour, les cellules germinales se multiplient avec production d'androgènes, régression des canaux de Muller se fait au 20^{ème} jours, début de formation de la prostate au 24^{ème} jour et établissement des canaux de Wolf.

Au 24^{ème} jour, la formation de la prostate commence, et le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis.

Après la naissance, les testicules sont dans la cavité abdominale puis descendent dans le scrotum à la puberté (Alvarino, 2000).

D'après Martinet (1976), la croissance testiculaire a une allure sigmoïdale, d'abord plus lente que celle du corps, puis subit une accélération vers 45 jours. Les glandes annexes ont une croissance de même type mais légèrement décalée dans le temps et plus tardive.

À partir de la naissance, La testostérone et la FSH et LH ont une concentration constante de la naissance au 40^{ème} jour avec une diminution de la LH à partir du 20^{ème} jour.

À partir de 40 jours, les cellules de Leydig apparaissent. Suite à une augmentation significative du taux de testostérone et de FSH et une petite augmentation de LH (Alvarino, 2000).

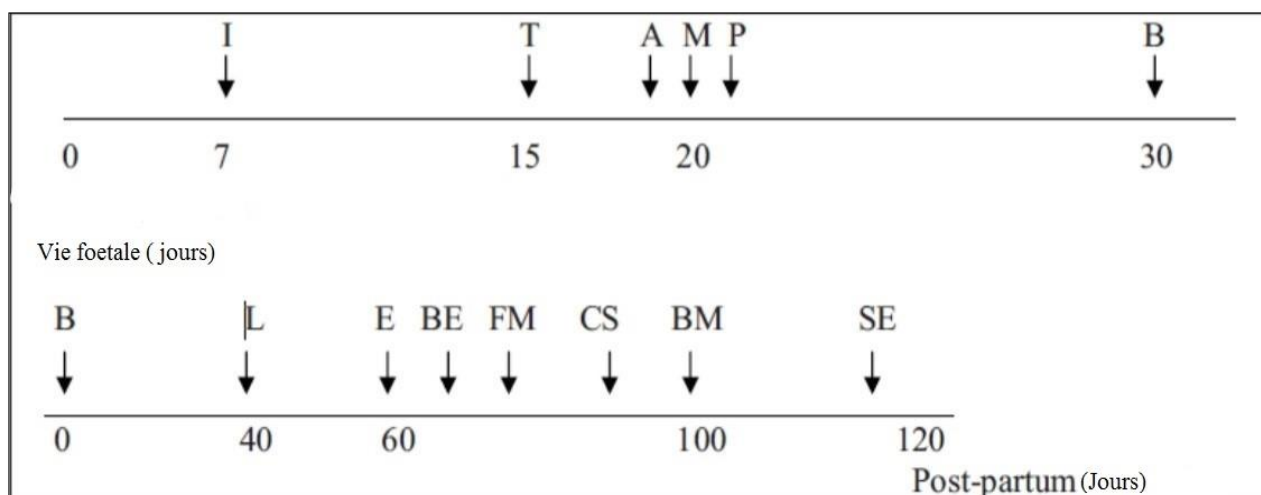


Figure 10 : Différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

I= Implantation ; T= Différenciation des testicules ; M= Dégénérescence des canaux de Müller ; N= Naissance ; CDS= Développement complet de la spermatogenèse L= Maturation des cellules de Leydig ; A= Sécrétion d'androgènes ; P= Croissance de la prostate ; S= Apparition des spermatozoïdes ; CS= Premier comportement sexuel ; SE= Apparition des premiers spz dans l'épididyme.

2. Développement pondérale

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5 mois ne présente pas de dimorphisme sexuel. Cependant, l'augmentation des poids gonadiques est corrélée avec l'augmentation du poids corporel et l'évolution du poids des testicules en fonction d'âge montre une accélération de la croissance testiculaire entre 70 et 110 jours environ (Figure 11) (Alvarino, 2000 ; Lebas, 2009).

Chez le lapin adulte en activité sexuelle, les testicules pèsent environ 6g dans chez certaines races et le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge (Herbert et *al.*, 2005).

À la naissance, les organes génitaux externes ne présentent pas de dimorphisme sexuel très marqué et la formation du scrotum débute vers le 2^{ème} mois d'âge avec descente des testicules dans le scrotum à 3 mois. 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).

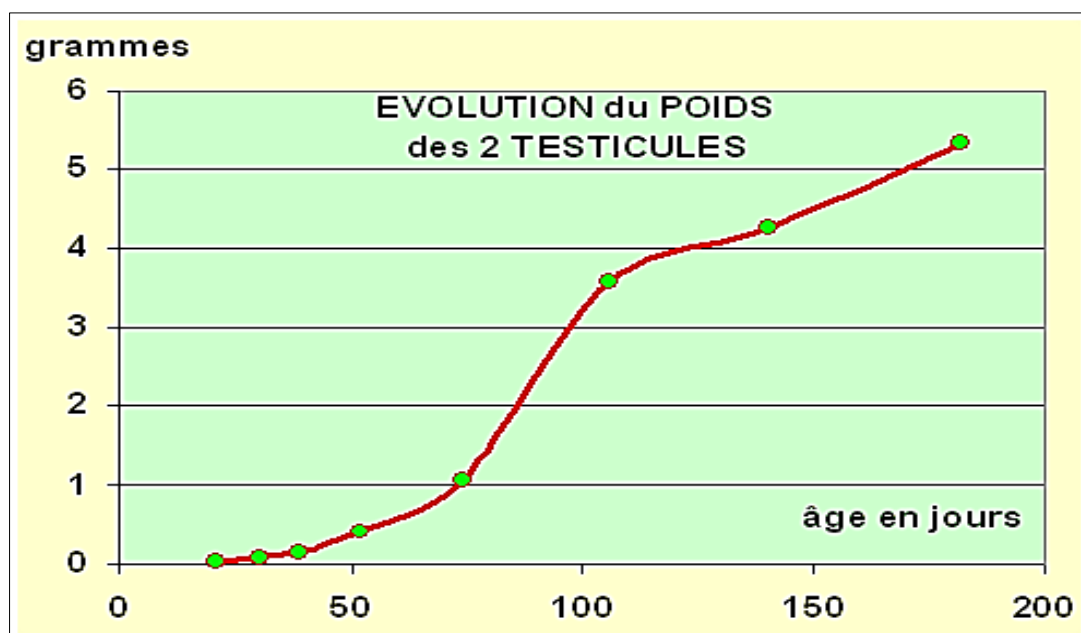


Figure 11 : Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours (Prud'hon, 1973 cité par Lebas, 2009).

3. Maturation sexuelle

La maturation sexuelle chez le lapin s'effectue en 4 phases, phase infantile, phase prépubertaire, puberté et maturité sexuelle (Figure 12).

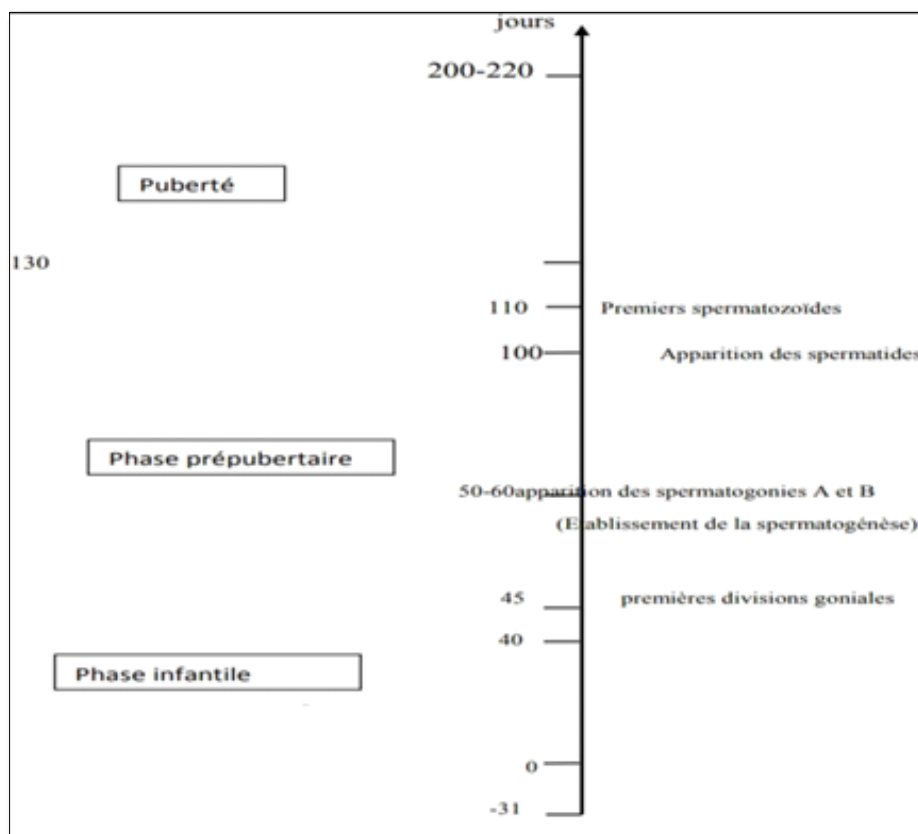


Figure 12 : Différentes étapes de la vie sexuelle du mâle (Boussit, 1989).

3.1. Phase infantile

La phase infantile s'étalant de la naissance à l'âge de 40 jours est caractérisée par une croissance lente de la vésicule séminale et de faibles concentrations plasmatiques de FSH et de testostérone (Boussit, 1989). Durant cette phase, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermatogénique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger et *al.*, 1982).

3.2. Phase pré pubertaire

La phase pré pubertaire débute vers l'âge de 40 jours et est marquée par l'accélération de la croissance testiculaire et l'élévation des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. Les premières cellules de Leydig matures apparaissent à 40 jours dont le nombre augmente très rapidement et la spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes séminifères sont actifs vers 84 jours d'âge. Entre 70 et 80 jours, le tissu interstitiel a acquis un aspect adulte (Berger et *al.*, 1982 ; Boussit, 1989 ; Lebas, 2009).

3.3. Puberté

La puberté est définie d'après Mann et Parsons (1950) par le stade à partir duquel la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent leurs sécrétions. Dans ce cas, la puberté serait atteinte à 42 jours, bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle (Skinner, 1967).

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 vers l'âge de 110 jours. Dans ces premiers éjaculats la viabilité des spermatozoïdes est faible, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds. Toutefois l'âge de puberté varie en fonction des différences génétiques entre les races, des conditions d'élevage, de l'alimentation et du climat (Lebas et *al.*, 1996).

Par ailleurs, Sebbagh (1983), rapporte que la puberté chez le lapin est le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques chimiques que l'adulte, ce stade est atteint à partir de l'âge de 24 semaines.

Elle est également définie par 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).

3.4. Maturité sexuelle

Amman et Lambiase (1967), définissent la maturité sexuelle comme le moment où la production journalière de sperme n'augmente plus ; elle est atteinte vers 30 à 32 semaines. Toutefois, un mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines mais avec un rythme moins intensif par rapport à un adulte mature sexuellement (Lebas, 2009).

Il a été démontré qu'à l'âge de 20 semaines, les mesures testiculaires et le pourcentage des tubes séminifères qui contiennent des spermatozoïdes ne représentent que 70% de leur valeur par rapport à l'âge adulte (33 semaines d'âge) et qu'entre 20^{ème} et 33^{ème} semaines l'évolution du volume de l'éjaculat et la motilité individuelle des spermatozoïdes augmentent considérablement (Garcia-Thomas et *al.*, 2009).

4. Développement comportemental

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. Ces derniers sont généralement fertiles à 146 plus ou moins 13 jours (Macedo et Miguel, 1986 cité par Alvarino, 2000 ; Quiles et Hevia, 2000)

Il existe toutefois, une variabilité individuelle importante car des mâles qui peuvent avoir des rapports fertiles dès l'âge de 3 mois et que d'autres ce n'est qu'à partir de 6 mois (Berger et *al.*, 1982).

5. Développement hormonal

De la naissance à 40 jours, de faibles concentrations de la testostérone et de la dihydrotestostérone (DHT) se retrouvent dans le testicule et le plasma. À partir de 40 jours, ces concentrations s'élèvent brusquement atteignant leur maxima entre 60 et 90 jours, puis déclinent sensiblement pour atteindre des valeurs adultes.

Dans le plasma, la testostérone est toujours l'androgène dominant à tous les stades et la DHT est présente en quantité importante avec un rapport testostérone/DHT voisin de 2. Dans le testicule, la testostérone est l'androgène majeur jusqu'à 60 jours puis ce sont les concentrations en DHT qui sont égales ou supérieures à celle de la testostérone, ce qui constitue une particularité du lapin (Berger et *al.*, 1982).

6. Fonctions physiologiques du testicule

Les testicules sont des organes dotés d'une double fonction, la fonction exocrine (spermatogenèse) assurée par les tubes séminifères et la fonction endocrine (stéroïdogénèse) assurée par les cellules de Leydig (Dadoune et Démoulin, 2001).

6.1. Spermatogenèse

La spermatogenèse (Figure 13) est le processus de production des gamètes mâles matures à partir de cellules souches au niveau du testicule, sa progression se fait d'une manière centripète et sa durée est de 38 à 41 jours (Swistra, 1965 cité par Martinet, 1973 ; Lebas, 2009).

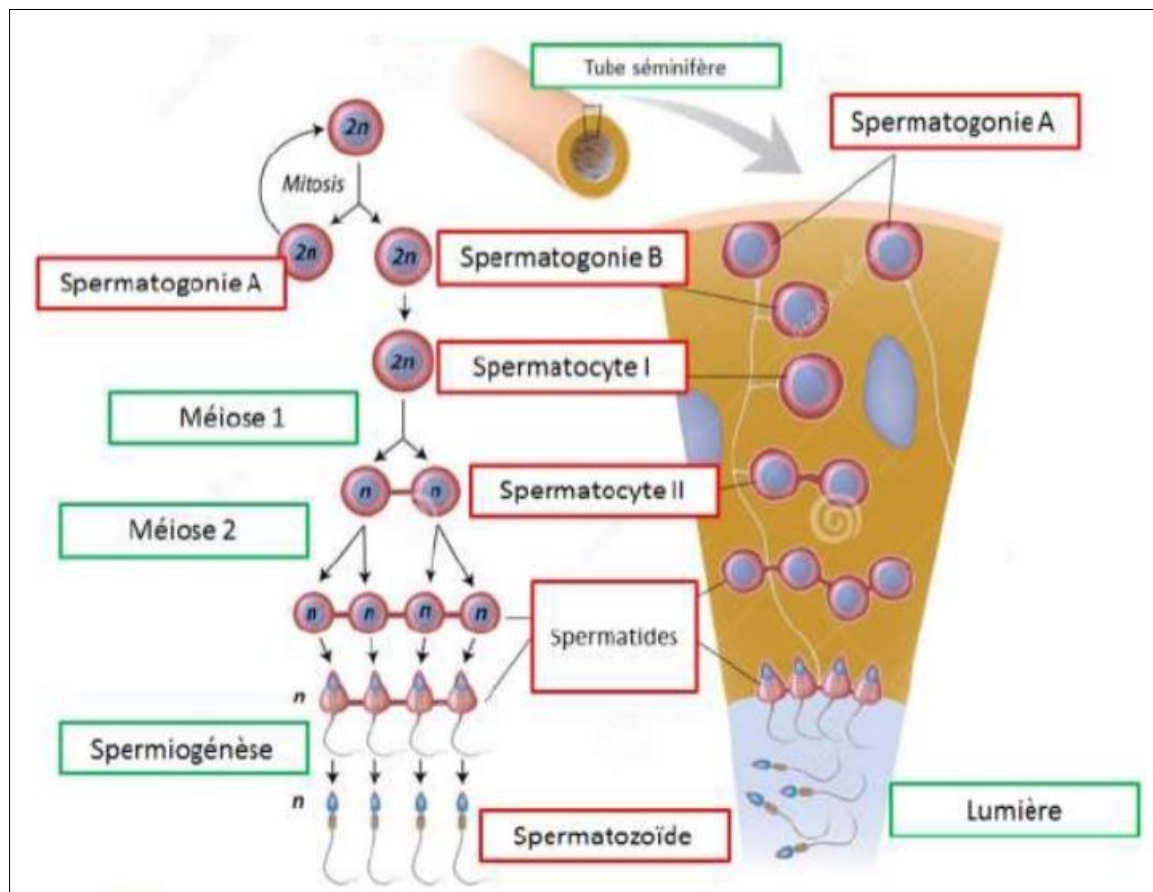


Figure 13 : Cycle spermatogénétique chez le lapin (Charles PAX, 2017).

MAY et SIMPSON (1975) mentionnent que la spermatogenèse débute vers 63 jours d'âge, alors que, Leeson et Lepson (1970) et Skinner (1967) soulignent qu'elle commence à l'âge de 84 jours et que les premiers spermatozoïdes n'apparaissent dans la tête de l'épididyme qu'à 112 jours et dans l'éjaculat jusqu'à au moins 120 jours.

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

La spermatocytogenèse est caractérisée par une phase de multiplication par mitoses qui assure le renouvellement des spermatogonies nécessaires au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches et par la différenciation des spermatogonies qui aboutit à la formation des spermatocytes primaires qui possèdent encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristique de l'espèce (44 chromosomes chez le lapin) (Martinet, 1973 ; Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001).

La deuxième étape fait intervenir le phénomène de méiose caractérisée par l'échange du matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires induisant la production des spermatocytes secondaires, ensuite deux divisions successives de la méiose produisent des spermatides haploïdes à n chromosome (Amann, 1993).

Au cours de la troisième phase qui correspond à la spermiogenèse (Figure 14) les spermatides subissent une série de modifications qui aboutissent sans autres divisions à la libération des spermatozoïdes mûrs (Barone, 2001).

Lors des divisions cellulaires susmentionnées, la division du cytoplasme n'est pas complète, les cellules filles restent attachées par des ponts cytoplasmiques permettant l'échange des molécules et des protéines indispensables au développement synchronisé de ces cellules (Abou-Haila et Tulsiani, 2000 ; Huang et Ho, 2006).

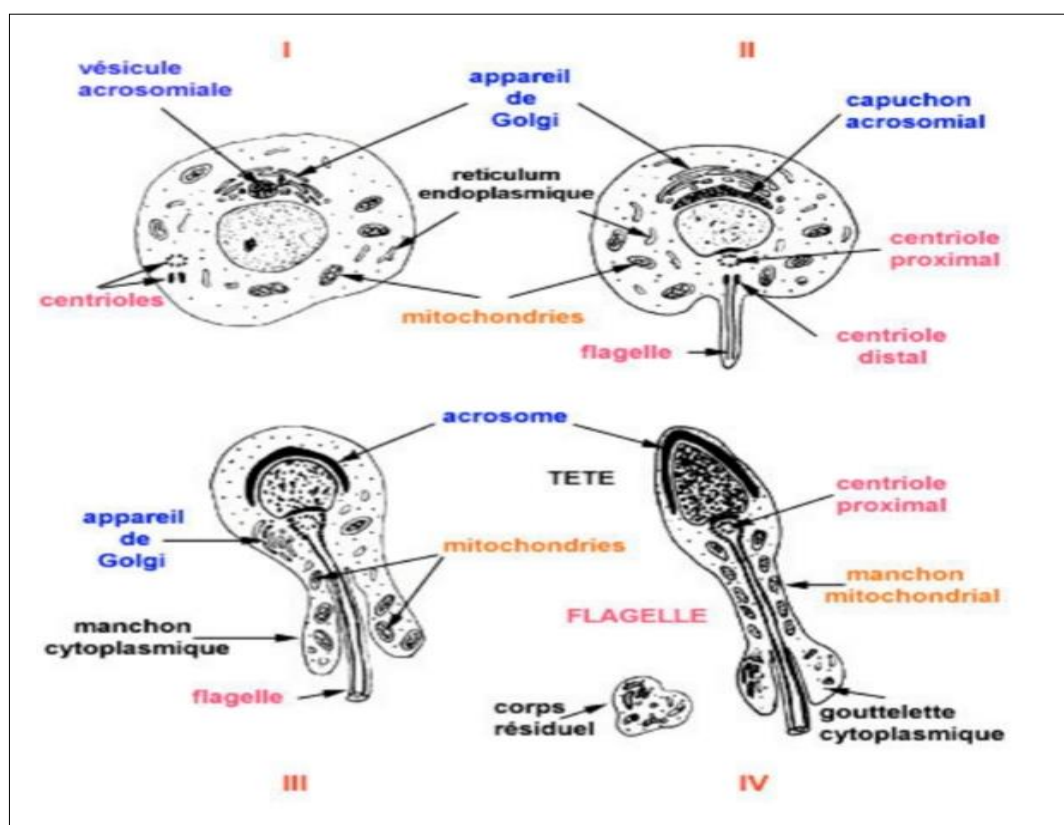


Figure 14 : Étapes de la spermiogenèse (Lévêque, 2003).

6.2. Stéroïdogénèse

Dans les gonades, au niveau des cellules de Leydig la biosynthèse des hormones sexuelles (androgènes) nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes agissant en cascade à partir d'un précurseur commun à tous les stéroïdes: le cholestérol (Figure 15) (Saez, 1994).

Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale où a lieu la première réaction enzymatique de la stéroïdogénèse est une étape clef de ce processus. Plusieurs protéines interviennent dans ce transport dont la plus importante est la protéine StAR (Clark et *al.*, 1996).

La transformation du cholestérol en testostérone nécessite 5 étapes, la première étape de la biosynthèse des androgènes permettant la conversion du cholestérol en pregnénolone grâce au cytochrome P450_{scc} ou cyp11aα situé dans la membrane interne de la mitochondrie. La pregnénolone est ensuite transportée dans le REL où elle est convertie en progestérone par la 3β-hydroxystéroïde déshydrogénase, la progestérone va être ensuite transformée en 17α-progestérone puis en androsténone, ce dernier va être converti en testostérone par la 17β-hydroxystéroïde déshydrogénase (O'Shaughnessy et Murphy, 1991).

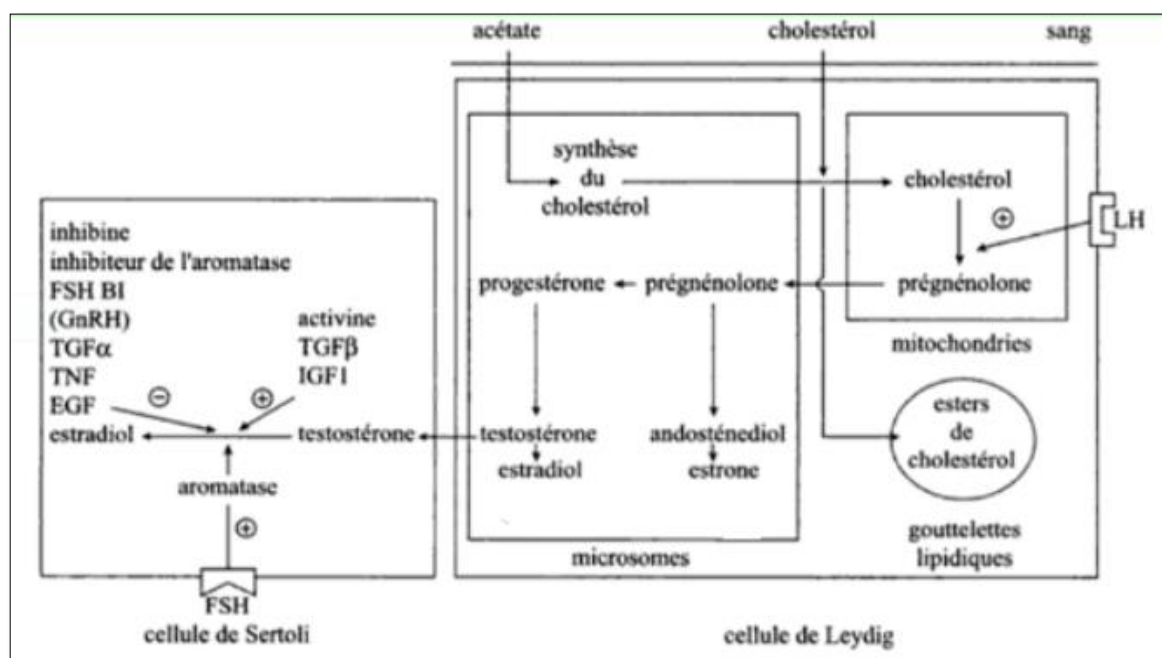


Figure 15 : Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).

7. Fonctions physiologiques de l'épididyme

L'épididyme assure plusieurs fonctions dont la maturation des spermatozoïdes, l'acquisition de leur motilité, la modification de leur membrane, leur protection, stockage et transport et enfin l'acquisition du pouvoir fécondant (Badran et Hermo, 2002).

7.1. Maturation des spermatozoïdes

Au cours de leur transit à travers l'épididyme les spermatozoïdes vont subir une maturation post testiculaire, ce processus est le résultat d'une constante interaction tout le long de l'épididyme entre les spermatozoïdes immatures et le fluide intraluminal (Robaire et Hermo, 1988 ; Turner, 1991 ; Olson et *al.*, 2002).

7.2. Acquisition de la motilité

La motilité est générée par le cytosquelette interne du spermatozoïde nommé axonème, après la spermiogenèse, le spermatozoïde ne peut se mouvoir ou du moins est très peu motile. L'environnement créé par l'épididyme va lui permettre d'acquérir sa motilité et donc son pouvoir fécondant. L'activation de la motilité du flagelle est rendue possible grâce aux changements de concentration de différents ions et de la présence de source d'énergie pour activer le mouvement (Ho et Suarez, 2001). Plusieurs métabolites, dont probablement le fructose et le glucose, permettent d'acquérir un haut niveau d'ATP dans la queue de l'épididyme pour permettre d'activer le mouvement (Mukai et Okuno, 2004). La concentration intra-spermatique en AMPc augmente aussi lors du transit épididymaire et permet d'induire la motilité (Gatti et *al.*, 2004).

7.3. Modification de la membrane des spermatozoïdes

Durant le transit épididymaire, la membrane cytoplasmique des spermatozoïdes va subir un profond changement lipidique et protéique, ce processus confère aux gamètes une mobilité vigoureuse et l'addition ou la modification de protéines essentielles à la reconnaissance de l'ovocyte (Saez et *al.*, 2011 ; Cooper, 1998).

Saez et *al.* (2011) observent sur le plan lipidique une perte de phospholipides, une augmentation de la proportion d'acides gras polyinsaturés, une perte importante de cholestérol ce qui indique une augmentation de la fluidité membranaire.

Pour les protéines, elles peuvent être éliminées ou associées à la membrane, redistribuées ou modifiées. Parmi ces modifications générées par les enzymes du fluide, la glycosylation de certaines protéines membranaires, phosphorylation par des protéines kinases et l'endocytose des glycoprotéines sécrétées par les cellules de l'épididyme (Tulsiani et *al.*, 1993 ; Nath et Majumber, 1999 ; Lîu et *al.*, 2000 ; Dacheux et *al.*, 2003, 2009).

Le gain de maturité ne s'effectue pas seulement au niveau des protéines membranaires qui composent le spermatozoïde, ce dernier subit aussi une transformation au niveau de sa structure externe et interne. En effet, lors de sa maturation la dimension et l'apparence de l'acrosome vont changer tout au long, tout comme la taille de son noyau. De plus, la structure du spermatozoïde va être modifiée par la descente de la gouttelette cytoplasmique. Finalement, le spermatozoïde va acquérir sa capacité à se mouvoir grâce aux changements de concentration de différentes composantes comme les ions, l'AMPc et les protéines qui vont interagir avec lui lors de son transit dans l'épididyme.

7.4. Protection des spermatozoïdes

Une des fonctions de l'épididyme est la protection des spermatozoïdes matures, qui sont des cibles de multiples agressions, cette protection se fait grâce à la barrière hémato-épididymaire qui les protège contre les attaques du système immunitaire et certaines protéines sécrétées par l'épithélium épididymaire qui ont une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs (Pollanen et cooper, 1994 ; Cornwall et Hsia, 2003).

7.5. Stockage des spermatozoïdes

La queue de l'épididyme est le lieu de stockage des spermatozoïdes qui varie selon l'activité sexuelle et la durée de la photopériode (Alvarino, 1993).

Dans l'intervalle des éjaculations, les spermatozoïdes sont stockés dans la queue de l'épididyme où ils baignent dans un liquide qui permettra de les conserver, et qui servira de réservoir durant l'attente de prochaines éjaculations (Hinton et Palladino, 1995 ; Barone, 2001).

Chez le lapin le taux de fécondation est seulement de 1 à 2% avec des spermatozoïdes prélevés dans la tête de l'épididyme, alors qu'il atteint 95 à 98% avec ceux prélevés dans la queue de l'organe (Barone, 2001).

7.6. Transport des spermatozoïdes

Le transport des spermatozoïdes le long de la lumière épididymaire est assuré par la pression hydrostatique, les contractions musculaires et l'activité ciliaire des parois du tubule (Beford, 1975 ; Robaire et Hermo, 1988).

Selon Alvarino (1993), le transit dure 8 à 10 jours, dont 2 jours au niveau de la tête, 2 jours au niveau du corps et 5 à 6 jours dans la queue, avec une progression plus rapide dans la périphérie que dans le centre du conduit épididymaire. Ce temps de transit diminue d'environ 10 à 20% chez les animaux qui éjaculent fréquemment (Figure 16) (Baril et *al.*, 1993).

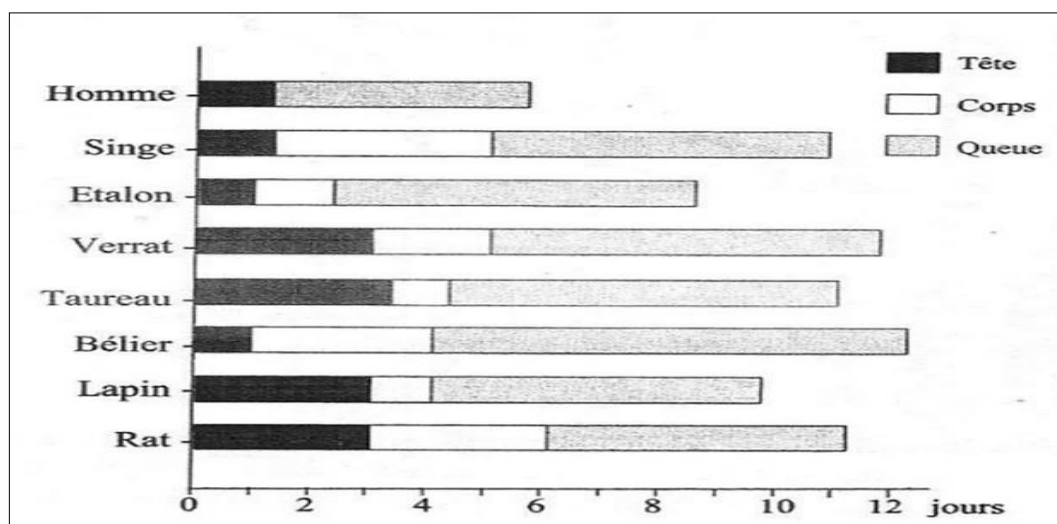


Figure 16 : Durée du transit (en jours) des spermatozoïdes dans la tête (noir), le corps (clair) et la queue (gris) de l'épididyme chez différentes espèces (Robaire et Hermo, 1988).

8. Mode de sécrétion de l'épididyme

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

8.1. Sécrétion mérocrine

La sécrétion mérocrine est le mode de sécrétion protéique le plus classique qui se produit dans la plupart des différents types cellulaires y compris les cellules principales de l'épithélium épididymaire. La séquence primaire en acide aminé de protéines sécrétées de cette façon est caractérisée par la présence d'un peptide signal à l'extrémité N-terminale ce qui permet à la protéine de s'associer au RE. L'ARNm est traduit en protéines par les ribosomes associés au REG qui vont être transportées jusqu'à l'appareil de Golgi où elles vont subir différentes modifications telles que la glycosylation et l'acétylation.

Les protéines sont ensuite transférées et emmagasinées dans des granules de sécrétion. Ces granules migrent jusqu'à la membrane plasmique de la cellule et libèrent leur contenu à l'extérieur lors de la fusion avec la membrane plasmique. Les protéines ne présentant pas d'ancrage membranaire sont libérées dans la lumière épididymaire (Girouard, 2009).

8.2. Sécrétion apocrine

La sécrétion apocrine (Figure 17) a été observée dans cellules principales de l'épididyme, le canal déférent et les différentes glandes telles que la glande mammaire et la prostate (Girouard, 2009).

La synthèse et les modifications post traductionnelles des protéines sécrétées selon le mode apocrine s'accomplissent dans le cytoplasme des cellules puisque la séquence primaire de ces protéines est dépourvue de peptide signal et les protéines ne peuvent s'associer au RE, leur synthèse a donc lieu sur les ribosomes libres (Sullivan et *al.*, 2005 ; Girouard, 2009).

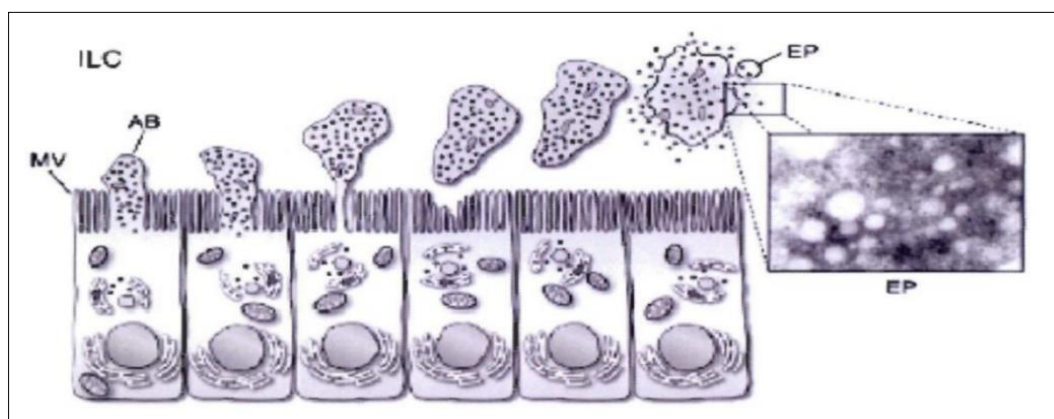


Figure 17 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).

AB : Aposomes ; EP : Epididymosome ; ILC : Compartiment intra-luminal.

9. Régulation hormonale de la fonction de la reproduction

Les deux fonctions endocrine et exocrine des testicules sont sous le contrôle d'hormones et de molécules synthétisées à différents niveaux hypothalamique, hypophysaire et testiculaire. La régulation de la spermatogenèse est sous la dépendance de l'axe hypothalamo-hypophyso gonadique.

9.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

Au niveau hypothalamique, le fonctionnement gonadique est sous la dépendance d'une hormone gonadolibérine la GnRH (gonadotropin releasing hormone) qui est un décapeptide sécrété de façon pulsatile par le noyau arqué et noyaux pré et supra optique de l'hypothalamus (Thibault et Levasseur, 2001).

La fixation de GnRH sur les récepteurs des cellules gonadotropes de l'antéhypophyse active le système de phospholipases C qui stimule la production et sécrétion des gonadotrophines, LH et FSH par l'adénohypophyse (Thibault et Levasseur, 2001 ; Bonnes et *al.*, 2005 ; Hammoud et *al.*, 1997).

La LH stimule la production et la sécrétion de testostérone et d'œstradiol par les cellules interstitielles de Leydig ainsi, la décharge pulsatile de LH est importante pour induire une concentration de testostérone 100 à 500 fois plus qu'une concentration plasmatique nécessaire pour le bon déroulement de la spermatogenèse (Nilsson et *al.*, 1986 ; Zhang et *al.*, 2004).

La FSH stimule indirectement la spermatogenèse en agissant en synergie avec la testostérone pour stimuler la sécrétion d'une protéine liant les androgènes, l'ABP par les épithélicytes de soutien qui contribue à maintenir une concentration élevée en testostérone.

9.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule

Selon l'intensité de la spermatogenèse, les cellules de Sertoli sécrètent l'inhibine B dans le sang qui exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la FSH par l'hypophyse (Ying, 1988 ; Hancock, 1992 ; Tilbrook et Clark, 2001 ; Dohle et *al.*, 2003).

La sécrétion de LH et de FSH par l'adénohypophyse est régulée par des signaux hormonaux du système nerveux central (GnRH) et du système gonadique (testostérone et Œstradiol), ainsi que par des facteurs gonadiques non stéroïdiens (inhibine, activine et follistatine).

La testostérone et l'œstradiol exercent un rétrocontrôle inhibiteur sur l'hypothalamus qui se traduit par la baisse de la sécrétion de GnRH conduisant à une réduction de la libération de FSH et LH (Matsumoto et Bremner, 1984 ; Anderson et Sharpe, 2000).

De plus, il existe une régulation faisant intervenir des facteurs non stéroïdiens (inhibine, activine et follistatine) qui contrôlent et régulent la sécrétion de FSH (Bilezikjian et *al.*, 2004 ; de Krester et *al.*, 2004).

L'activine et l'inhibine ont pour rôle la stimulation de la sécrétion de FSH par contre la follistatine inhibe sa sécrétion (de Krester et *al.*, 2002 ; Welt et *al.*, 2002).

9.3. Régulation intragonadique des fonctions testiculaires

Des études ont montré que l'inhibine inhibe la production de testostérone et que l'activine active cette dernière, ainsi, la synthèse de testostérone peut également être régulée par de nombreux facteurs locaux comme les cytokines TNF et IL-2, ainsi que par d'autres facteurs de croissance (EGF-1, TGF, IGF-1 et le FGF) qui modulent la disponibilité en cholestérol, l'expression d'enzyme de la stéroïdogenèse et l'expression de récepteur de la LH (Lin et *al.*, 1989).

9.4. Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire

Les fonctions lumenales et épithéliales de l'épididyme sont sous le contrôle d'un réseau complexe de molécules biochimiques très variées qui agissent sur l'expression des gènes cibles et par conséquent agissent sur les fonctions physiologiques de cet organe.

Selon leur proximité par rapport aux cellules cibles, on distingue premièrement les facteurs endocriniens arrivant par la voie systémique (androgène, œstrogène, PRL, hormones thyroïdiennes, ocytocine, mélatonine, activine, inhibine et follistatine), deuxièmement, les facteurs lumicrines apportés par la lumière du canal épидidymaire (endothéline, androgènes et facteurs de croissance) et enfin, les facteurs paracrine et/ou autocrines produits par les cellules avoisinantes ou les cellules elles-mêmes (Angiotensine II, ions et eau) (Holland et Orgebin-Crist, 1988).

10. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins

Chez les mammifères, la reproduction est très influencée par les paramètres de l'environnement tel que la température, l'humidité, la saison, l'éclairement et la photopériode, l'alimentation et l'âge. Ce sont essentiellement la durée de jour et la disponibilité alimentaire qui détermine la période de reproduction (Thibault et Levasseur, 2001).

10.1. Effet de température

L'influence de la température sur la fonction de reproduction est attribuée plus à un effet d'hyperthermie qu'à un effet d'hypothermie qui ne semble pas perturber le comportement sexuel des lapins (Boussit, 1989).

Sur un essai prolongé durant cinq semaines, il a été observé une réduction de la *libido* des mâles, une baisse effective du volume des éjaculats et de la concentration de ces derniers à haute température (33 °C) (Figure 18) En outre, une température élevée affecte la motilité du sperme même après des expositions courtes de 8 heures à 36 °C ou moyennes du type 14 jours à 30 °C. Toutefois, toutes ces observations ne doivent pas faire oublier que les lapins se reproduisent effectivement en climat chaud tropical ou équatorial.

La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18 °C et l'activité de la spermatogenèse est maximale au printemps et minimale à l'automne de ce fait, des températures comprises entre 13 et 26°C n'induisent aucun effet sur les caractéristiques de la semence (Lebas et *al.*, 1991).

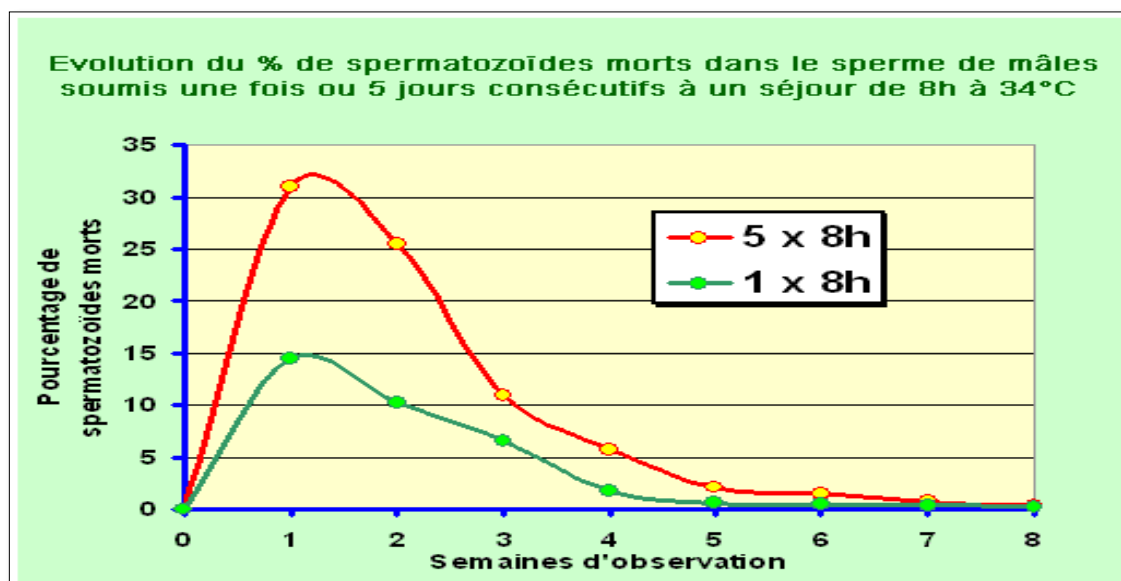


Figure 18 : Influence d'un séjour de 8h à 34°C, pratiqué 1 journée ou 5 jours consécutifs en semaine zéro, sur le pourcentage de spz morts déterminé au cours des 8 semaines suivantes (Kasa et Thwaites, 1992).

10.2. Effet de l'hygrométrie

L'humidité relative est le rapport entre le poids réel de vapeur d'eau contenu dans l'air et le poids d'eau maximum qu'il pourrait contenir. Une humidité relative maintenue entre 55 et 80% (idéalement entre 60 et 70%) est favorable pour la reproduction des lapins mâles par contre, une humidité excessive augmente la charge microbienne de l'air et provoque ainsi une sensation de froid chez l'animal et plus souvent des maladies respiratoires (Lebas, 2009).

Une humidité relative trop basse moins de 50% est néfaste car elle favorise la formation de poussière qui dessèchent les voies respiratoires ce qui induit une réduction des performances de reproduction (Finzi et *al.*, 2000).

10.3. Effet saison

Le comportement sexuel du lapin mâle est sous l'influence de nombreux facteurs ambiants, ce qui contribue à donner au facteur saison une importance capitale dans la reproduction de cette espèce (Sabbagh, 1983).

D'après Boulbina (2011), la saison de naissance influence sur l'âge d'entrée en puberté car les lapins qui sont nés en hiver entre plus précocement en puberté que ceux nés en été. Ces perturbations pourraient être expliquées par l'effet de la saison sur la sécrétion de la testostérone (Frolich, 1948 ; Brambell, 1944).

En effet le volume des éjaculats et leur concentration en spermatozoïdes sont au maximum en Mars et au minimum en Juillet. Ces variations s'accompagnent d'une réduction de la taille des testicules de Mars à Juillet de l'ordre de 60% du poids maximum et d'un accroissement testiculaire en Août. Il s'en suit une « stérilité estivale » associée à une augmentation du pH du sperme, une baisse de motilité et de concentration des spermatozoïdes, une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et une baisse de la *libido* (Hiroe et Tomizuka, 1965).

10.4. Effet d'éclairage et photopériode

Selon Boyd 1985 cité par Thau-Clément 1994 l'éclairage joue un rôle important dans la reproduction des lapins car ils ont observé une augmentation du poids testiculaire et du pourcentage de spermatozoïdes vivants après un passage de 8 heures à 16 heures et une diminution du même paramètre si l'opération est inversée (Figure 19). De plus, les caractéristiques quantitatives et qualitatives des éjaculats étaient significativement plus élevées pour le lot de 16 heures par jour, seul le volume était plus élevé pour le lot de 8 heures d'éclairage. De ce fait, 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).

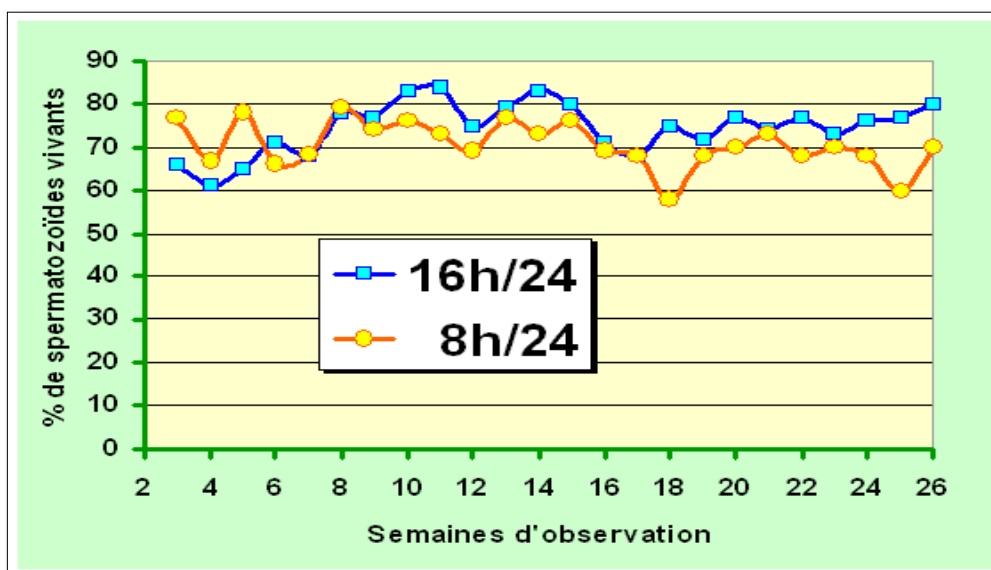


Figure 19 : Pourcentage de spermatozoïdes vivants dans les éjaculats de lapins entretenus sous un éclairage de 8h ou de 16h de lumière de jour (Theau clément et *al.*, 1994).

10.5. Effet de l'alimentation

L'alimentation doit apporter les éléments nécessaires à l'animal pour sa croissance et son activité au quotidien pendant toutes les grandes étapes de sa vie telles que la reproduction.

De manière globale, un aliment équilibré doit optimiser les performances de reproduction et de croissance ainsi que l'assurance d'une bonne santé des animaux (Parigi-Bini et *al.*, 1991).

Plusieurs travaux de recherche ont abordé des besoins nutritionnels des lapins selon le type de production (extensive, semi-intensive ou intensive) et la période (reproduction ou croissance), en effet Ouhayoun (1990), souligne que les besoins nutritionnels recommandés sont de l'ordre de 16% de protéines brutes, de 10-14% de cellulose brute, de 15% d'amidon, de 3% de matière grasse et d'un complexe minéro-vitamine.

Des études ont montré qu'un régime alimentaire limité en glucide, en protéines et en lipides réduit la *libido* et quelques traits séminaux chez le lapin mâle. Cependant, le facteur le plus important reste la qualité plutôt que la quantité du régime alimentaire (Luzi et *al.*, 1996).

Des carences en vitamines A peuvent provoquer des lésions de l'appareil génital et bloquer la spermatogenèse, tandis que l'absence de vitamines E dans la ration entraîne l'atrophie des testicules et la formation d'œdème interstitiel (Chevrel et Cormier, 1948).

La composition des aliments pendant la période d'élevage a un effet direct sur les performances des animaux d'élevage car une alimentation basée uniquement sur les fourrages grossiers est insuffisante pour la couverture des besoins de production chez le lapin (Coudert et Lebas, 1989 ; Berchiche et Zerrouki, 2000).

10.6. Effet de l'âge

L'âge des mâles influence considérablement sur le pH, la concentration et le nombre des 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).

Villagran et *al.* (2003) rapporte un effet de l'âge sur l'ardeur des mâles en effectuant des séries de sollicitation de 4 minutes au chevauchement de mâles jeunes et adultes jusqu'à leur épuisement. Ils notent que les jeunes mâles âgés de 6-12 semaines chevauchent et éjaculent 9 à 10 fois avant l'épuisement sexuel alors que les adultes âgés de 14 à 20 mois n'ont que 6 à 8 fois avant refus.

11. Autres facteurs

D'autres facteurs peuvent influencer positivement ou négativement la reproduction des lapins mâles comme les huiles essentielles. En effet des études ont montré que l'huile essentielle de *Nigella sativa* affecte positivement la fertilité des rats mâles, tandis que, l'extrait des feuilles de *Andrographispaniculata* l'affecte négativement.

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.

L'objectif de ce présent travail est de déterminer l'effet des deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale sur le poids corporel et gonadique et sur la structure de l'épididyme du lapin mâle prépubère de la souche synthétique, et ce à travers une étude histologique de sa structure en relation avec les poids vifs et le poids de l'épididyme.

1. Matériel biologique

1.1. Modèle expérimental

Cette étude a été réalisée durant le mois de Mai 2018 au niveau de l'unité d'ITMAS (Institut Technologique Moyen Agricole Spécialisé) située dans la région de Boukhalfa à 5 Km du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou sur des lapins mâles âgés de 3 mois de la souche synthétique (Figure 20) provenant d'un élevage cunicole privé de la région de Tizirt, wilaya de Tizi-ouzou.

Le type amélioré, a été initié dans l'institut technique des élevages Baba-Ali, Alger (ITELV) à partir de 2003 en collaboration avec l'INRA de Toulouse (Gacem et *al.*, 2010).

Cette souche est caractérisée par une prolificité importante, un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population locale algérienne (Lebas et *al.*, 2010 ; Gacem et *al.*, 2009).

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

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



Figure 20 : Lapins de la souche améliorée âgés de 3 mois issus d'un élevage cunicole de Tizirt, wilaya de Tizi-Ouzou.

1.2. Huiles essentielles utilisées

Selon la pharmacopée européenne l'huile essentielle est un produit de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie par expression à froid ou par distillation à la vapeur d'eau.

C'est un produit odoriférant, volatile, de consistance huileuse et de couleur variable selon la plante dont elle est extraite. Elle est sécrétée par des cellules spécialisées se trouvant aussi bien dans les feuilles, les fleurs, le bois, les racines et les graines comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Csesk et Kanfman, 1999 ; Lardry et Haberkorn, 2007 ; Festy, 2015).

1.2.1. Romarin à verbénone (*Romarinus officinalis*)

D'après Aubineau et *al.* (2002), le romarin est une herbe aromatique appartenant à la famille des lamiacées. C'est un sous-arbrisseau originaire du bassin méditerranéen, mesurant 50 cm de hauteur qui apprécie les sols bien drainés et ensoleillés.

1.2.2. Sauge officinale (*Salvia officinalis*)

Sauge officinale (*Salvia officinalis*) de la famille des labiées est un sous arbrisseau annuel et biennuel d'origine méditerranéenne, aussi appelée sauge de Grèce, herbe sacrée, thé d'Europe est une plante guérisseuse par excellence. Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde contre une trentaine environ en Algérie (Maksinovic et *al.*, 2007).

1.2.3. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles, les principales caractéristiques sont

- Liquides à température ambiante (Bonnafous, 2013).
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes (Bonnafous, 2013).
- Volatiles et très rarement colorées (Lakhdar, 2015).
- Présentent une densité généralement inférieure à celle de l'eau, et un indice de réfraction élevé (Lakhdar, 2015).
- Liposolubles et solubles dans les solvants organiques et les huiles végétales, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (elles sont hydrophobes) (AFSSAPS, 2008).
- Très altérables et sensibles à l'oxydation (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).
- Elles ont un fort pouvoir de pénétration (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).
- Elles sont inflammables et ne contiennent aucun corps gras (Bonnafous, 2013).

2. Autres matériels

Cette expérimentation a nécessité l'utilisation d'autres matériels tel que les béchers, tubes secs, eppendorf, cassettes, éprouvettes, pipettes graduées, bavettes, papiers filtres, des gants, ciseaux, scotch, étiquettes, spatules, balance à précision, centrifugeuse, étuve.

3. Expérimentation

Les animaux sont sélectionnés et placés individuellement dans des cages d'engraissement aménagées pour l'élevage cunicole (Figure 21). Ils sont tous exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité qui sont celles de l'environnement ambiant.

3.1. Alimentation et abreuvement

Durant toute la période les animaux ont été alimentés et abreuvés *ad libitum*, ils sont nourris avec un aliment sec granulé fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail)

L'abreuvement est assuré par un système de tétine, chaque rangée de batterie est séparée des autres. L'approvisionnement en eau se fait par une conduite étatique et un puits d'eau de source situé près de l'unité d'élevage.



Figure 21 : Lapins dans des cages spéciales.

Avant de commencer l'expérimentation, les animaux ont été laissés une semaine d'adaptation dans le nouveau milieu afin d'éviter l'effet du stress.

L'expérimentation a commencé quand les lapins ont atteint l'âge de 3 mois, puis il a été réalisé des pesées tous les quinze jours durant toute la durée de l'expérimentation.

3.2. Constitution des lots

Au total 15 lapins ont été utilisés durant cette étude, et sont répartis en 5 lots différents, un lot témoin, deux lots de lapins âgés de 3 mois pour l'administration des deux doses (100-200 μ l/kg) de l'huile essentielle romarin à verbénone et deux lots pour l'administration des deux doses (100-200 μ l/Kg) de l'huile essentielle Sauge officinale.

Parallèlement aux pesées des lapins, trois sont choisis au hasard et ont été sacrifiés (tous les 15 jours) pour le prélèvement des organes génitaux.

3.3. Pesée et administration des huiles essentielles

Les lapins ont été pesés puis traités (Figure 22) une seule fois par les deux huiles essentielles Romarin à vebénone et Sauge officinale mélangées dans 0.5 ml d'eau puis administrées par voie orale à deux doses différentes 100 μ l/kg pour les lapins de la première dose et 200 μ l/kg pour les lapins de la deuxième dose.



Figure 22 : Pesée des lapins et administration des deux huiles essentielles aux doses (100 et 200 μ l/Kg).

3.4. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

Les animaux ont été sacrifiés (Figure 23) par décapitation, juste après le sacrifice les animaux sont disséqués, dégraissés (Figure 24) et les organes du système génital sont prélevés à savoir les épидидymes, puis pesés à l'aide d'une balance de précision (0,01g) et le volume déterminé par la méthode de la mesure du volume d'eau déplacé à l'immersion de l'organe dans une éprouvette graduée contenant un volume d'eau initialement connu.



Figure 23 : Sacrifice des lapins.

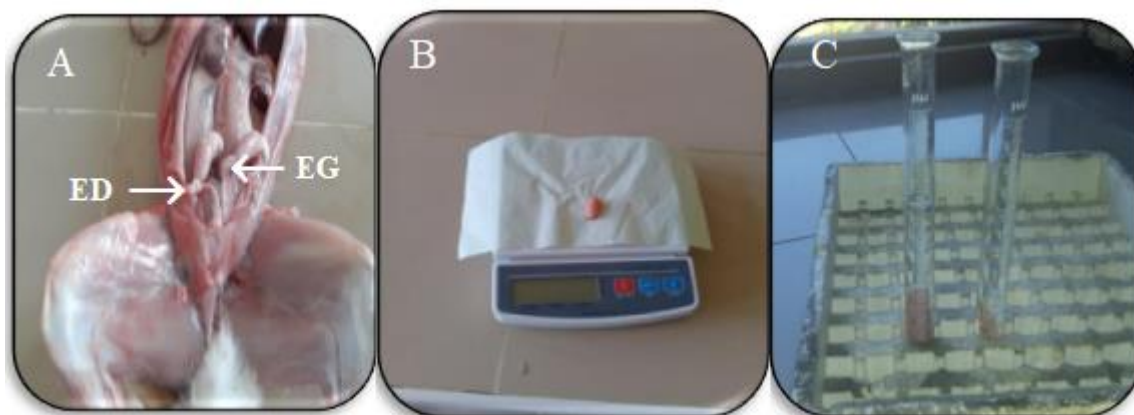


Figure 24 : Épididyme du lapin lors du sacrifice et détermination du poids et volume des épididymes.

A : prélèvement des épididymes ; **B :** Pesée des épididymes avec une balance à 0,01g ; **C :** éprouvette utilisée pour mesurer le volume ; **ED :** épididyme droit ; **EG :** épididyme gauche.

4. Étude histologique

L'étude histologique a pour objectif de décrire la structure histologique de l'épididyme, elle se déroule en plusieurs étapes successives et obligatoires afin de réaliser des coupes fines de l'échantillon étudié, prêtes à recevoir la coloration histologique d'intérêt. La procédure utilisée est inspirée de celle mise au point par Martoja (1967)

Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes

4.1. Fixation

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes et permettant de réaliser des manipulations avec un minimum de dommage pour les structures cellulaires. Elle a pour but la conservation et l'immobilisation des structures cellulaires en place et leur durcissement.

La fixation doit se faire immédiatement après le prélèvement par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. La solution du Bouin Hollande est utilisée comme fixateur qui est une solution préparée au laboratoire sur la base d'un mélange de formol et d'acide picrique. Les organes sont plongés, séparément, dans des cassettes étiquetées, pendant 7 jours.

En effet, la fixation d'un organe permet :

- De conserver dans un état aussi proche possible de l'état vivant,
- De s'opposer à ses raccourcissements et ses détorsions,
- De protéger les cellules de l'attaque bactérienne.

- D'empêcher la destruction des constituants cellulaires sous l'action d'enzymes en les rendant insolubles.

4.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation a pour but d'évacuer toute l'eau contenue dans l'organe et préparer la pièce à l'inclusion dans la paraffine. Elle se fait en passant l'organe dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 80°, 90°, 100°) (Figure 25) pendant 40 minutes chacun, ce qui permet d'éviter la désorganisation des structures puis le transférer dans des bains de Xylène pendant 40 minutes pour l'éclaircissement.

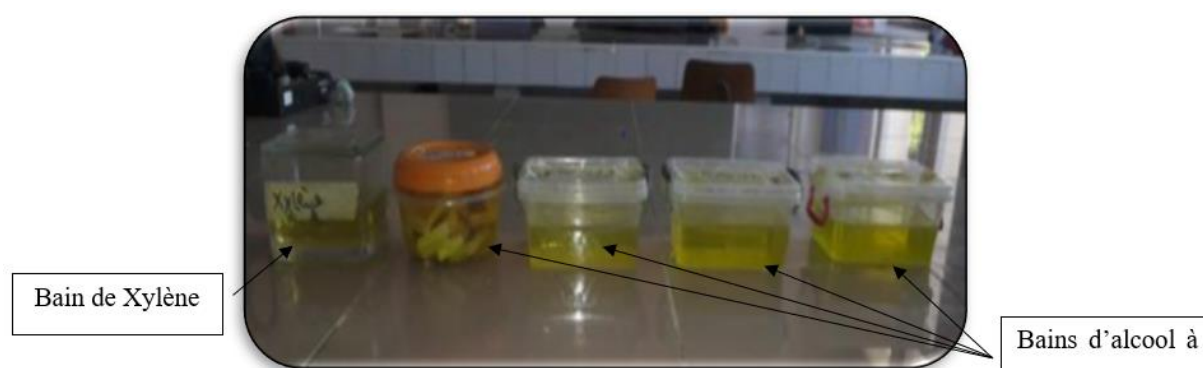


Figure 25 : Série des bains de déshydratation des gonades.

4.3. Imprégnation

La déshydratation et l'imprégnation sont réalisées grâce à un appareil de circulation de type Leica après la programmation de l'appareil et l'insertion des organes dans des cassettes étiquetées.

L'imprégnation se fait à chaud immédiatement après les bains de toluène, dans 3 bains successifs de 2 heures chacun pour éliminer les traces d'alcool, les organes sont ensuite inclus dans la paraffine.

4.4. Inclusion

Elle se fait grâce à un appareil d'enrobage de type Leica qui contient de la paraffine fondue à 60°C. Une fois la circulation finie les cassettes sont retirées et placées dans une chambre de cet appareil.

Sur des moules spécifiques à différentes formes et adaptés aux dimensions de l'organe, la paraffine est versée et l'organe est placé, lorsque les bordures de la paraffine commencent à durcir on place la partie marquée de sa cassette après l'avoir coupée en deux sur le moule et on coule la paraffine fondue jusqu'à son débordement (la cassette doit être immergée dans la paraffine), puis ils sont disposés sur la plaque refroidissante de l'appareil et après leurs durcissement ils sont démoulés facilement. Les blocs peuvent être ainsi conservés sans dommage (Figure 26).



Figure 26 : Organes placés dans des moules de Paraffine et blocs de paraffine obtenue après inclusion.

4.5. Confection des coupes et étalement

La confection des coupes a été réalisée à l'aide d'un microtome de type Leica (Figure 27) qui comporte un porte rasoir spécial permettant d'utiliser des lames minces jetables, et un porte cassette permettant de placer les blocs d'organes sur les cassettes. Des coupes de 5 μ m d'épaisseur sont ainsi réalisées et récoltées sous forme de ruban à l'aide d'un pinceau.

Sur des lames nettoyées avec de l'alcool séchées et gravées, un film du liquide d'étalement est déposée (l'eau gélifiée de MASSON à 1%) et les coupes sont étalées par des petits rubans (de 3 à 4 coupes) puis la lame est portée sur une plaque chauffante pour un meilleur étalement des coupes.

La lame est retirée de la platine et débarrassée de l'excès du liquide de collage, séchée avec du papier absorbant sans pression et placées dans l'étuve à 37°C pendant 48 heures.



Figure 27 : Dispositif de la coupe, microtome.

4.6. Déparaffinage et hydratation

Les colorants usuels en histologie sont généralement aqueux. Avant d'entamer la coloration d'une lame il est nécessaire de la replacer en milieu aqueux.

La première étape constitue le déparaffinage par du toluène, deux bains de 5 à 10 minutes chacun sont nécessaires pour éliminer totalement la paraffine avant de passer à l'hydratation par des bains d'alcool éthylique à degré décroissant (100°, 90°, 80°, 70°, 50°) jusqu'au bain d'eau distillée.

4.7. Coloration topographique

La coloration topographique choisie est le Trichrome de Masson qui possède plusieurs avantages tels que la résistance au lavage, la rapidité d'exécution et les teintes obtenues de manière quasi-automatique.

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.

4.8. Montage

Le montage consiste à fixer à l'aide d'une goutte de l'Eukitt une lamelle de verre sur l'échantillon histologique ce qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle puis effectuer une légère pression sur la lamelle pour chasser les bulles d'air.

4.9. Observation des lames

Les lames obtenues par la technique histologique sont observées au microscope photonique équipé d'une caméra numérique qui permet de réaliser des photographies dans le but de rechercher toute modification histologique des structures étudiées.

5. Étude statistique

Les variables (poids vif, poids et volumes des épидидymes) obtenus dans 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, elle est suivie par la valeur de l'erreur standard à la moyenne « ESM ».

La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisé 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 = ns.

Chapitre IV
Résultats et discussion

Les résultats rapportés dans ce travail concernent la croissance pondérale, le poids et volume épидидymaire des lapins de la souche synthétique âgés de 3 mois avant et après administration des deux huiles essentielles Sauge officinale et Romarin à verbénone ainsi que l'étude histologique des structures épидидymaires.

1. Résultats de l'étude macroscopique

Les lapins ont été pesés avant (J0) et après (J7) administration des huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale ce qui a permis de suivre leur croissance pondérale.

1.1. Poids vif des animaux

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

Le développement du poids corporel des lapins âgés de 3 mois avant et après administration des deux huiles essentielles Sauge officinale et Romarin à verbénone à deux doses différentes (100-200 μ l/Kg) est représenté dans le graphe (Figure 28).

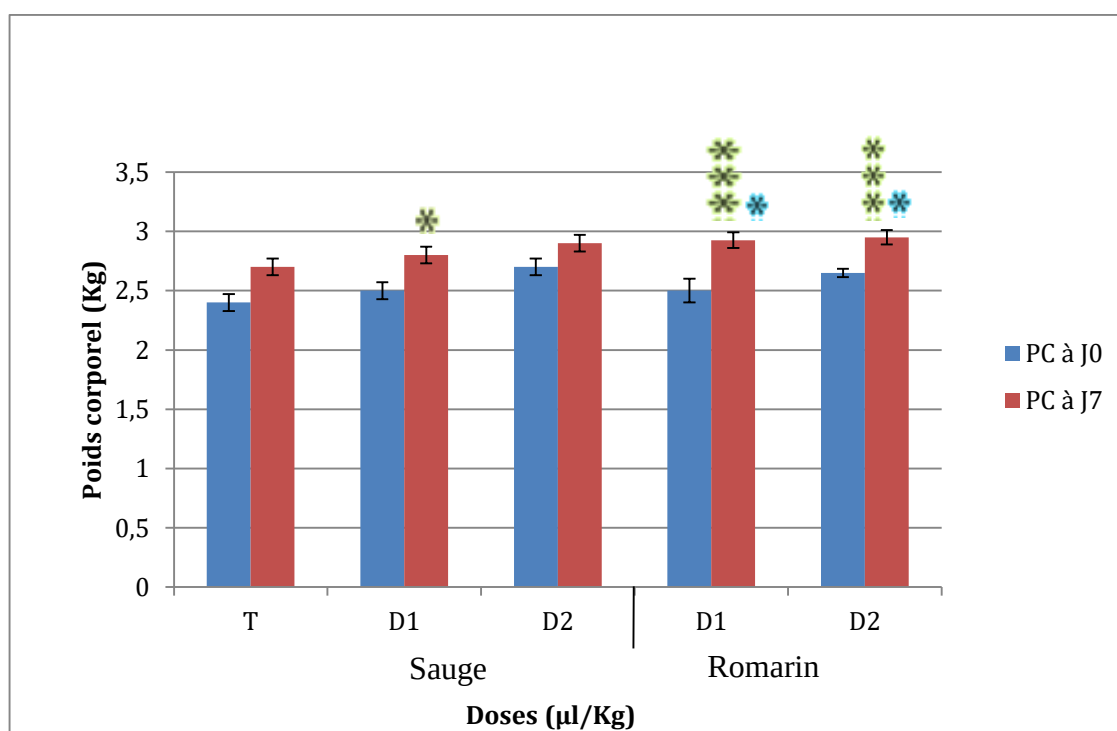


Figure 28 : Poids corporel des lapins âgés de 3 mois traités par les deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale à deux doses différentes (100-200 μ l/Kg).

T : témoin ; D1 : dose 1 (100 μ l/Kg) ; D2 : dose 2 (200 μ l/Kg) ; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement.

(*) : Comparaison entre J0 et J7.

(**) : Comparaison entre témoins et traités.

L'huile essentielle Romarin à verbénone 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 0,1Kg chez les témoins, de 0,1 Kg chez le lot traité par la dose 1 et enfin de 0,3 Kg chez le lot traité par la dose2, dont l'écart est plus grand à la dose 2, avec une différence peu significative ($P<0,05$) entre les lapins traités par la dose 1 et 2 à J0 et J7.

Après l'administration de l'huile essentielle Sauge officinale, la valeur moyenne du poids corporels des lapins mâles prépubères a révélé une augmentation entre J0 et J7. En effet le poids corporel a augmenté avec un écart de 0,1Kg chez les témoins, tandis que cet écart est de 0,1Kg chez les lapins traités par la D1et de 0 ,25 Kg chez ceux traités par la D2 qui est le plus important, dont la valeur est peu significative ($P<0,01$) entre les animaux traités par la dose 1 et 2 à J0 et J7.

En effet, le poids corporel des lapins témoins est de $2,7 \pm 0,07$ Kg, de $2,8 \pm 0,07$ Kg pour le lot de la première dose du Romarin et de $2,9 \pm 0,07$ Kg pour le lot de la dose 2 de la même huile.

1.2. Poids épидидymaire

Le poids épидидymaire en gramme est exprimé par la valeur moyenne $\pm$ l'erreur standard liée à la moyenne (ESM) et en valeurs relatives à 100 g de poids corporel.

1.2.1. Poids épидидymaires droits et gauches

Le poids des épидидymes droits et gauche des lapins pré pubères traités par les deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale est représenté dans la (Figure 29).

Chez tous les lots, la valeur du poids épидидymaire gauche est plus importante que celle de l'épididyme droit. Néanmoins l'écart entre eux est plus important chez le lot traité par la dose 2 de Romarin à verbénone qui est de 0,02g.

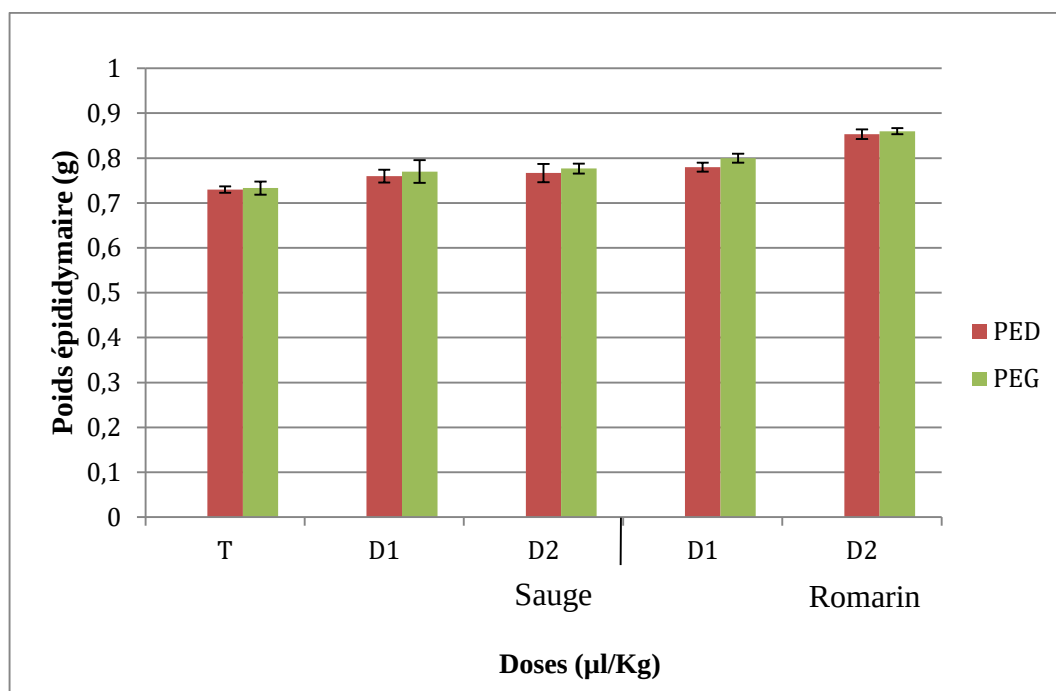


Figure 29 : Poids des épидидymes droits et gauches en fonction de la dose des deux huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sage officinale.

EG : Épидидyme gauche ; ED : Épидидyme droit ; T : témoin ; D1 : dose 1 (100 μ l/kg) ; D2 : dose2 (200 μ l/kg).

1.2.2. Poids épидидymaire total

Le poids épидидymaire total des lapins pré pubères traités par les deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sage officinale est représenté dans la (Figure 30).

Les valeurs moyennes du poids épидидymaire total des lapins traités par l'huile essentielle Sage officinale à deux doses (100 μ l/kg et 200 μ l/kg) sont supérieures à celles des lapins témoins dont la valeur est de $1,463 \pm 0,021$ g. Cependant les animaux traités par la D2 ont une valeur plus élevée par rapport à ceux traités par la D1, ces valeurs sont respectivement de $1,58 \pm 0,02$ g et de $1,53 \pm 0,039$ g. Ces variations sont peu significatives ($P < 0,05$) entre les poids épидидymaires totaux des lapins témoins et ceux traités par la dose 2 de la Sage officinale.

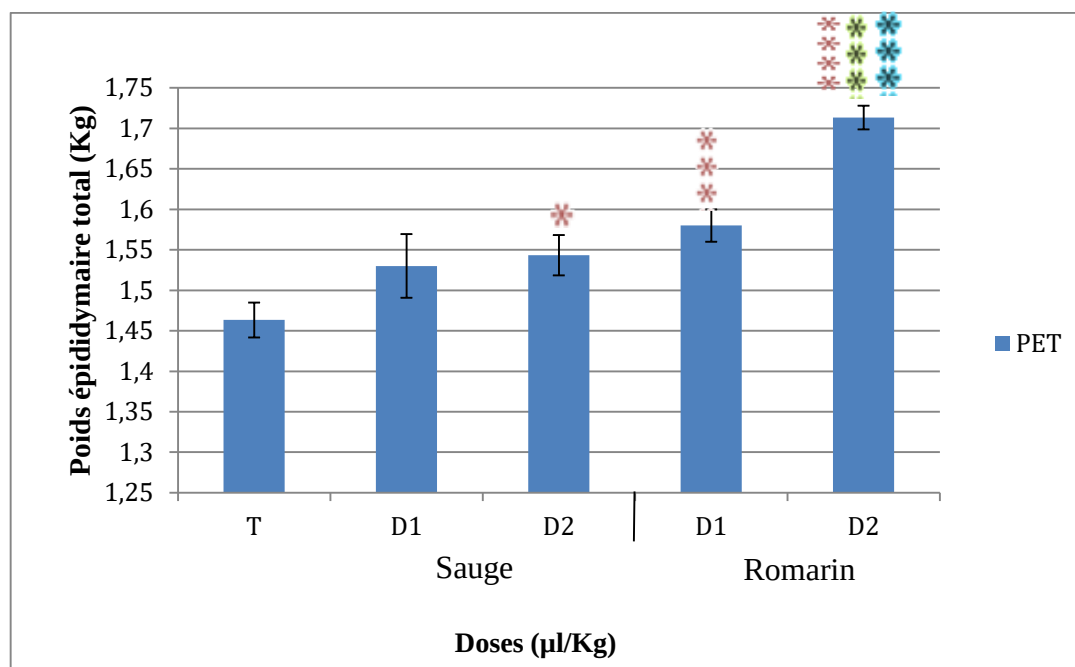


Figure 30 : Poids épидидymaire total en fonction de la dose des deux huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.

T : témoin ; **D1 :** dose 1(100µl/kg) ; **D2 :** dose 2 (200µ/kg).

(*) : Comparaison entre témoins et traités.

(*) : Comparaison entre huiles.

(*) : Comparaison entre doses de la même huile.

La valeur moyenne du poids épидидymaire total des lapins traités par la D1 et D2 du Romarin à verbénone est plus importante que celle des témoins dont la valeur est $1,463 \pm 0,021g$.

Cependant les animaux traités par la D2 ont une valeur plus élevée par rapport à ceux traités par la D1 dont les valeurs sont respectivement de $1,54 \pm 0,024g$ et de $1,713 \pm 0,014$ avec des différences très significatives ($P < 0,01$) entre T et D1, une différence hautement significative ($P < 0,001$) entre T et D2 et une valeur très significative ($P < 0,01$) entre la dose 1 et la dose 2.

De plus, en comparant les résultats des deux huiles, on constate qu'il y'a une différence très significative ($P < 0,01$) entre les doses 2 des deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale.

1.2.3. Poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel

Les valeurs moyennes du poids relatif à 100g de poids corporel des épидидymes des lapins de 3 mois d'âges en fonction de la dose des deux huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale est représentée dans la (Figure 31).

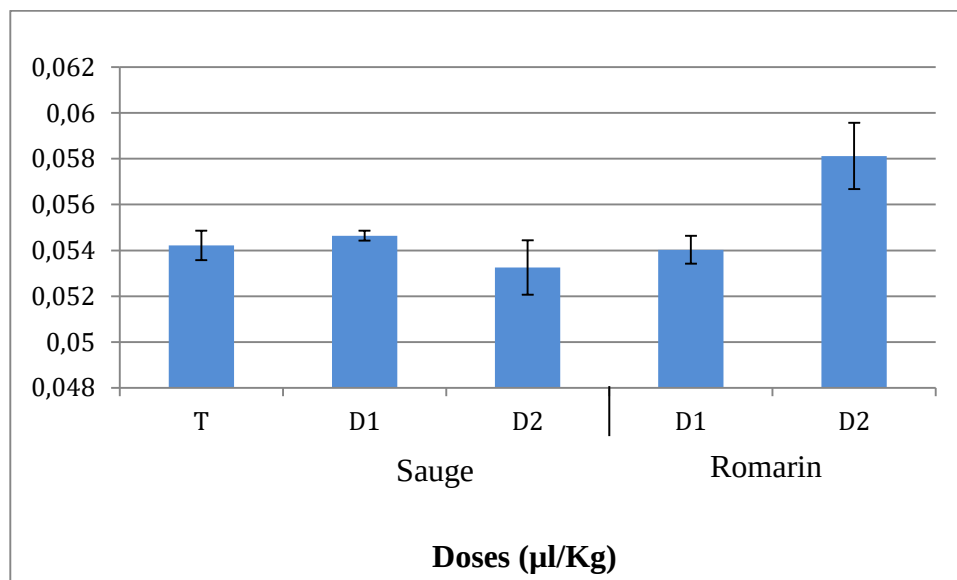


Figure 31 : Poids relatif des épидидymes en fonction de la dose des huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.

T : témoin ; **D1 :** dose 1 (100µl/kg) ; **D2 :** dose 2 (200µ/kg).

La valeur moyenne du poids épидидymaire relatif à 100 g du poids corporel est plus élevée chez les lapins traités par la Sauge officinale par rapport aux témoins, d'où la valeur du poids relatif augmente d'un écart de 0,001 entre les lapins témoins et ceux traité par la dose 1, tandis que cet écart est de 0,004 entre les témoins et les traités par la dose 2. Cette augmentation est peu significative ($P < 0,01$) entre témoin et D1 et très significative entre témoin et dose 2.

Les valeurs du poids relatif des lapins traités par la dose 2 de l'huile essentielle Romarin à verbénone sont supérieures à celles des traités par la dose 1 de la même huile qui est à son tour supérieure au témoin, avec un de écart de 0,001 entre les lapins témoins et ceux traité par la D1 et de 0,004 entre les lapins témoins et ceux traités par la dose 2, 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

La comparaison entre témoin-dose, montre une différence peu significative ($P < 0,05$) entre les lapins témoins et ceux traités par la dose 1 de la Sauge officinale et une différence très significative ($P < 0,01$) entre les lapins témoins et ceux traités par la dose 2 de la même

huile. Ainsi qu'une différence très significative ($P < 0,01$) entre les animaux témoins et ceux traités par la dose 1 et 2 de l'huile essentielles Romarin.

De plus, les résultats de la comparaison entre les deux doses de la même huile montrent qu'il y'a une différence très significative ($P < 0,01$) entre les animaux traités par la dose 1 et dose 2 de l'huile essentielle Romarin à verbénone et une différence significative ($P < 0,02$) entre les lapins traités par la dose 1 et dose 2 de l'huile Sauge officinale.

1.2.4. Volume épидидymaire total

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

Le volume épидидymaire total des lapins pré pubères en fonction de la dose administrée des deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale est représenté dans la (Figure 32).

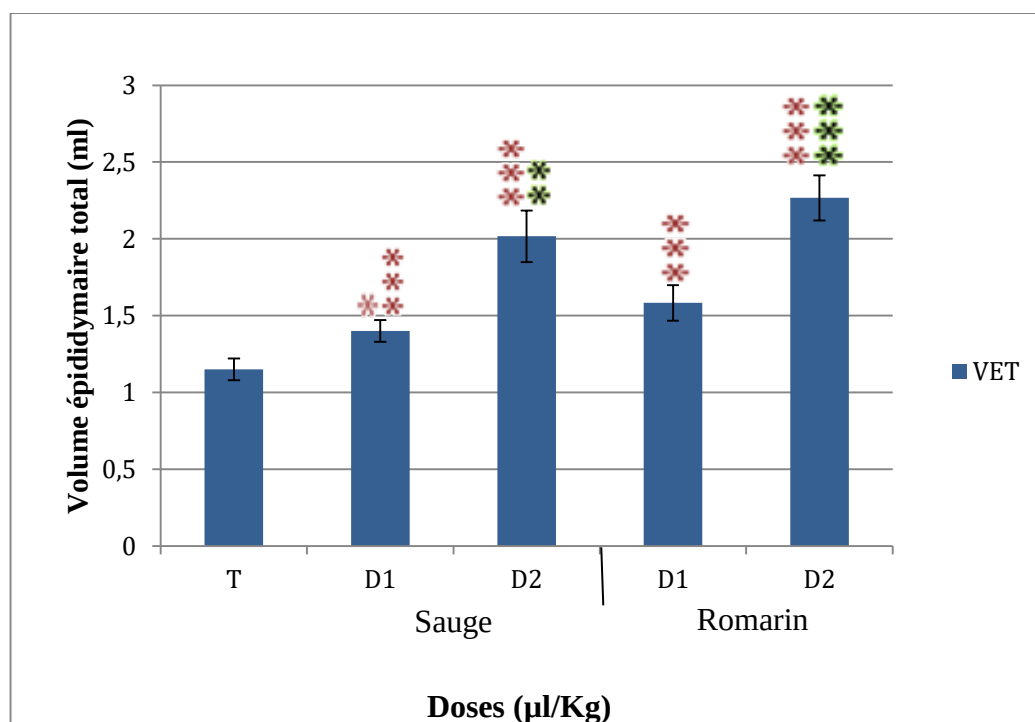


Figure 32 : Volumes épидидymaires totaux des lapins âgés de 3 mois en fonction des doses des huiles essentielles administrées Romarin à verbénone et Sauge officinale.

T : témoin ; **D1 :** dose 1 (100 µl/kg) ; **D2 :** dose 2 (200 µl/kg).
 (*) : Comparaison entre témoins et traités.
 (*) : Comparaison entre doses de la même huile.

La valeur moyenne du volume des épидидymes des lapins prépubères en fonction de la dose administrée de l'huile essentielle Sauge officinale est de $1,15 \pm 0,07$ ml chez le lot témoin, de $1,4 \pm 0,07$ ml chez le lot traité par la première dose et de $2,016 \pm 0,167$ ml chez le lot traité par la deuxième dose, d'où on a constaté que cette valeur est plus élevée chez les traités par rapport aux témoins et chez les traités par la D2 par rapport à la D1.

Les résultats de comparaison entre témoins et dose, montrent une différence peu significative ($P < 0,05$) entre les lapins du lot témoin et ceux du lot de la dose 1 de l'huile Sauge officinale et une différence très significative ($P < 0,01$) entre les lapins témoins et ceux traités par la dose 2 de la même huile.

La valeur moyenne du volume épидidymaire des lapins prépubères traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone est de 1.15 ± 0.07 ml chez le lot témoin alors que chez ceux traités par la D1 est de $1,58 \pm 0,115$ ml et de $2,266 \pm 0,147$ ml chez ceux traités par la D2, d'où on a constaté que cette valeur est plus élevée chez les lapins traités par rapport aux témoins et chez ceux traités à la D2 par rapport à la D1, avec une différence très significative ($P < 0,01$) entre les témoins et les traités par la D1.

En outre, la comparaison entre les deux doses successives de la même huile montre qu'il existe une différence significative ($P < 0,02$) entre la dose 1 et la dose 2 de l'huile essentielle Sauge officinale et une différence très significative ($P < 0,01$) entre la dose 1 et 2 de Romarin à verbénone.

2. Résultats de l'étude microscopique

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

2.1. Épидidyme des lapins témoins

Les résultats de l'étude histologique ont montré que, l'épithélium épидидymaire des lapins témoins est un épithélium unistratifié et formé de cellules cubiques avec un noyau arrondi volumineux et présentant des bordures avec des prolongements cytoplasmiques très fins vers la lumière épидидymaire. Ainsi, il a été observé, des cellules basales qui reposent sur une fine lame basale, un tissu conjonctif inter tubulaire formé de cellules musculaires, de fibroblastes et des vaisseaux sanguins (Figure 33).

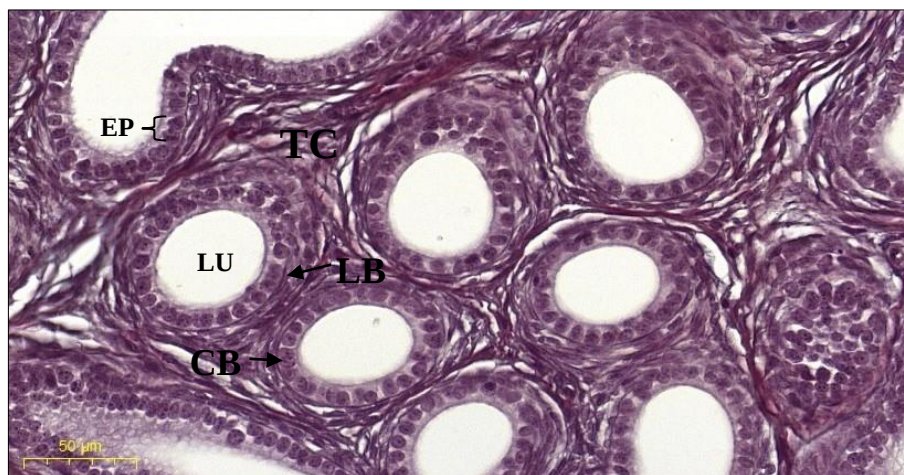


Figure 33 : Coupe histologique de l'épидидyme d'un lapin âgé de 3 mois après coloration avec le trichrome de Masson.

LU : lumière ; LB : lame basale ; CB : Cellules basales ; TC : tissus conjonctif ; EP : Épithélium.

2.2. Épидidymes des lapins traités par la Sauge officinale

L'observation microscopique des structures épидидymaires des lapins traités par la doses 1 et 2 de l'huile essentielle Sauge officinale montre que le tube épидидymaire est bordé par une paroi musculaire adhérente à un épithélium unistratifié prismatique et simple, une lumière avec un début de sécrétion du tube épидидymaire et des stériocils localisés au pôle apicale des cellules principales (Planche 1).

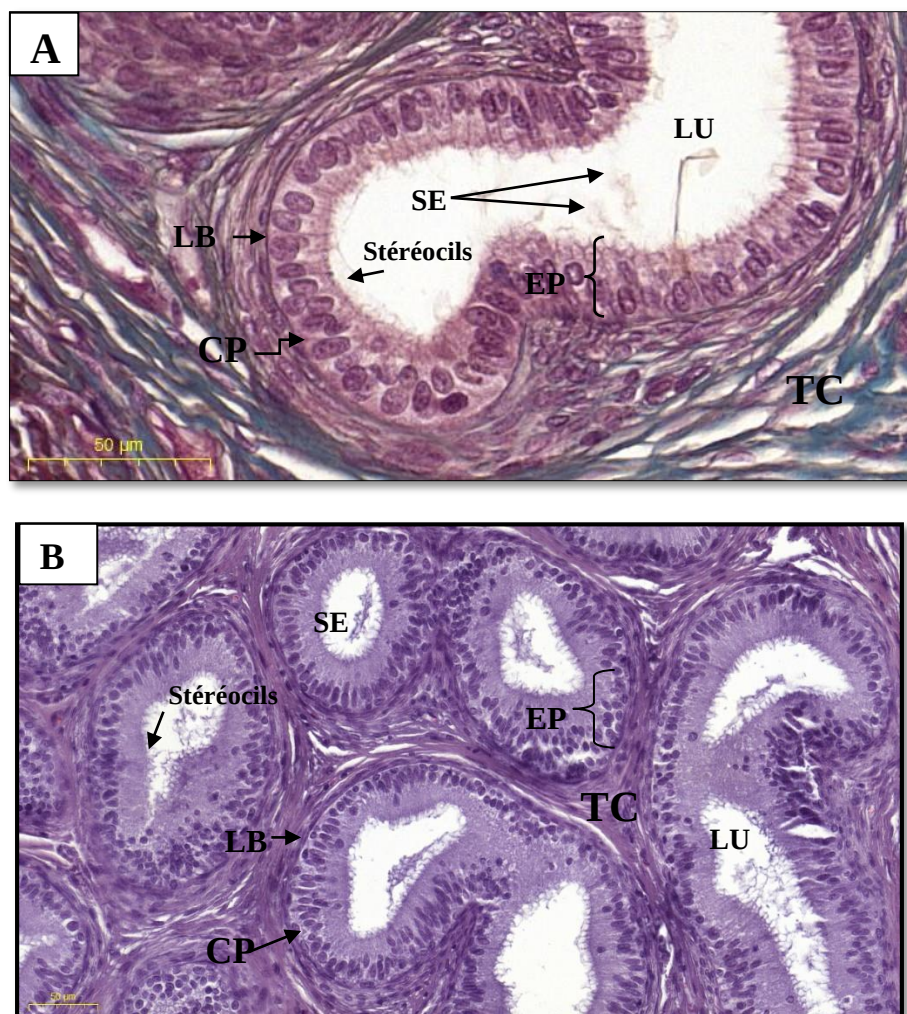


Planche 1: Coupe histologique de l'épididyme d'un lapin pré pubère traité par l'huile Saugé officinale après coloration avec le trichrome de Masson.

LU : lumière ; LB : lame basale ; CP : cellule principale ; TC : tissu conjonctif ; SE : sécrétions épидидymaires ; EP : Épithélium ; A : dose 1 ; B : dose2.

2.3. Épididymes des lapins traités par le Romarin à verbénone

Chez les lapins traités par les deux doses de l'huile essentielle Romain à verbénone, il a été observé que, l'épithélium épидидymaire est pseudo-stratifié prismatique et les cellules principales alignées avec des noyaux situés dans le tiers basal et légèrement décalés les uns par rapport aux autres, des microvillosités développées et une lumière chargée en sécrétions fluides et globulaires (Planche 2A).

Alors que, chez les lapins traités par la dose 2 de la même huile, il a été observé que le tube épидидymaire est constitué d'une paroi musculaire adhérente à un épithélium pseudo-stratifié prismatique, des sécrétions épидидymaires et de nombreux stériocils au pôle apical des

cellules principales ce qui fait dire qu'il y'a une importante activité sécrétoire au niveau de l'épithélium épидидymaire, de ce fait, on constate que, la dose 2 de l'huile essentielle Romarin à verbénone présente un effet plus efficace sur les structures épидидymaires (Planche 2B).

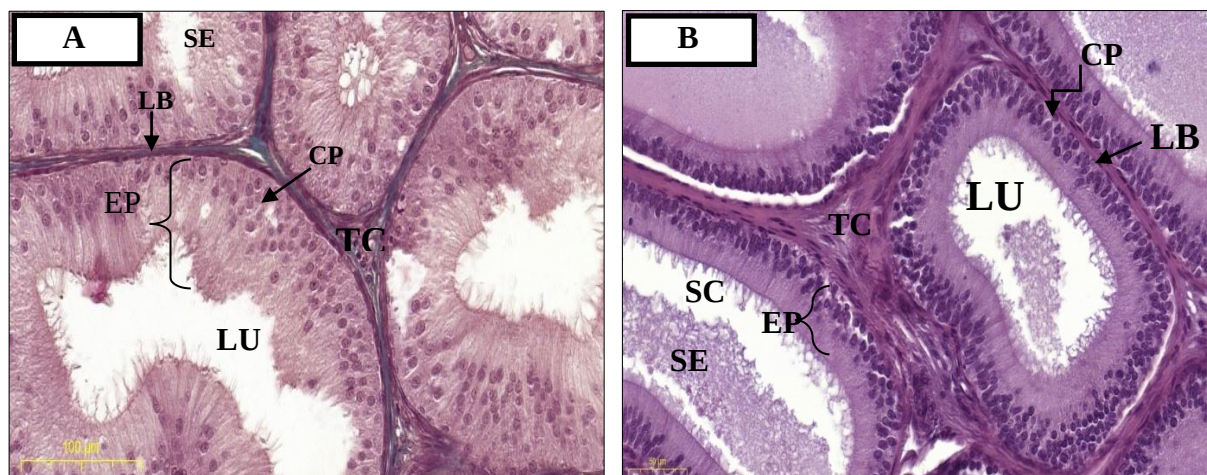


Planche 2 : Coupe histologique de l'épididyme d'un lapin pré pubère traité par l'huile essentielle Romarin à verbénone après coloration avec le trichrome de Masson.

LU : lumière ; LB : lame basale ; CP : cellule principale ; TC : tissu conjonctif ; SE : sécrétion épидидymaire ; SC : stériocils ; EP : épithélium ; A : dose 1 ; B : dose2.

3. Discussion des résultats

La présente étude porte sur l'effet des huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale sur le poids corporel et gonadique ainsi que sur les structures épидидymaires chez les lapins pré pubères de la souche synthétique.

Les paramètres macroscopiques (poids vif, poids et volume des épидидymes) présentent une augmentation importante chez les lapins traités par les deux doses des huiles essentielles par rapport aux témoins d'une part. D'autre part, les lapins traités par la dose 2 des deux huiles essentielles présentent une valeur plus importante par rapport à ceux traités par la dose 1 des mêmes huiles. Cependant, l'huile essentielle Romarin à verbénone a montré des effets plus efficaces que la Sauge officinale.

Ainsi, les résultats rapportés par cette étude montrent qu'à l'âge de 3 mois, le tube épидидymaire est constitué d'une paroi musculaire adhérente à un épithélium pseudo-stratifié prismatique, les cellules principales sont alignées et possèdent de nombreux stériocils, les microvillosités sont développées, les sécrétions épидидymaires commencent à apparaître et la lumière du tube est dépourvue des spermatozoïdes.

Selon Micol et *al.* (1993) et Allrich et *al.* (1983), la croissance pondérale d'un animal résulte du développement du poids de chaque élément constitutif de son corps et les

dimensions des testicules et de l'épididyme sont très corrélées avec l'âge, le développement et le poids corporel.

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Fellag et Fettoum (2018) et ceux obtenus par Smah et Ould Moukhtar (2019), qui ont montré que l'administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée a induit une augmentation du poids corporel et du poids gonadique chez les lapins infantiles et pré pubères.

Soy et *al.* (2006), ont observé une augmentation du poids des rats traités par un extrait éthanolique des feuilles de *Mentha Piperita* pendant 60 jours.

L'étude de Nantia et *al.* (2007) portée sur l'effet de l'extrait au menthol de *Bsella alba L.* à la dose de 80µl pendant 30 jours chez le rat mâle révèle que le poids corporel des animaux croît avec le temps.

Kuçukyilmaz et *al.* (2017), soulignent que l'huile essentielle de Lavande peut être considérée par un facteur de croissance car les oiseaux nourris par cette huile sans consommer d'aliment supplémentaire présentent une augmentation de poids.

Les résultats concernant le gain de poids sont similaires à ceux d'études antérieures sur la supplémentation des régimes de poulet de chair avec des huiles essentielles d'Origan, Romarin, Sauge et Lavande (Alçiçk et *al.*, 2003 ; Alçiçk et *al.*, 200 ; Botsoglou et *al.*, 2004 ; Bozkurt et *al.*, 2009 ; Bozkurt et *al.*, 2012).

Sulmaz Haeri et *al.* (2006), ont montré que l'administration de l'huile essentielle de la Sariette (*Saturja khuzestanica*) a provoqué une augmentation significative du poids épидидymaire.

Cependant, d'autres études ont montré que l'administration d'un extrait aqueux de *Nigella sativa*, pendant 60 jours à une dose de 300 mg/kg chez des rats induit des effets chez ces derniers (augmentation du poids des organes reproducteurs et stimulation de différents paramètres) (Mukhallad et *al.*, 2009).

Morakinyo et *al.* (2008) suggèrent que l'augmentation du poids absolu du testicule et de l'épididyme après 28 jours de traitement par du *Zingiber* chez les rats pourrait être due à une biosynthèse accrue des androgènes induite par cette huile.

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

De plus des études faites sur l'huile volatile de *Majolaine* et l'extrait de pépins de raisin montrent une augmentation du poids des testicules et épидидymes. Ces résultats sont corrélés avec ceux rapportés par Anderson et *al.*, 1983 ; Srikhath et *al.*, 1999 et Von der Pahlen, 2005).

Cependant, Kumar (2008) n'a observé aucun changement significatif du système reproducteur après l'administration à court terme de la menthe verte, mais l'administration à long terme de cette huile a causé des dommages irréversibles tels qu'une diminution significative du poids des testicules et épидидymes.

De plus, l'administration de l'huile essentielle de *Nigella sativa* chez les rats n'a induit aucun effet sur le poids des organes (Sherif et *al.*, 2013).

Les variables microscopiques comme l'apparition des spermatozoïdes dans les tubes épидидymaires, le diamètre du tube épидидymaire, la nature de son épithélium ou encore la taille de ses cellules sont utilisées comme indicateurs de la maturité sexuelle. Ces paramètres concordent modérément avec les variables macroscopiques en donnant une information supplémentaire quant à la maturité fonctionnelle des épидидymes (Schinckel et *al.*, 1983 ; Chemes, 2001 ; Sahlab et *al.*, 2001 ; Lunstra et Cundiff, 2003 ; Mandal et *al.*, 2004).

Selon Al Sa'aidi et *al.* (2009) les extraits alcooliques de *Nigella Sativa* ont des effets sur la fertilité des rats mâles, car, une augmentation de la hauteur des cellules entourant l'épithélium épидидymaire a été observée.

Une réduction dose dépendante du nombre de spermatozoïdes testiculaires et épидидymaires, de la motilité et de la numération anormale des spermatozoïdes a été observée chez les rats traités avec l'extrait de feuilles *Andrographis paniculata* (Sathiyzra et *al.*, 2001).

Des rats albinos mâles traités par l'extrait éthanolique de *Calendula officinalis* aux doses de 150, 250 et 500 mg/rat/jour pendant 60 jours présentent une diminution de la mobilité, la densité des spermatozoïdes dans la queue épидидymaire et le poids des organes reproducteurs. Ainsi l'étude a conclu que l'éthanol de l'extrait de *Calendula officinalis* altère la fertilité des rats (Agarwal et *al.*, 2012).

La teneur réduite en spermatozoïdes des rats traités à l'éthanol implique un effet indésirable de l'éthanol sur la spermatogenèse. A l'appui de cela, un certain nombre d'études cliniques et expérimentales ont montrés une spermatogenèse altérée sous administration chronique d'éthanol (Haider et *al.*, 1985 ; Anderson et *al.*, 1983).

Anderson et Coll (1983) ont également observé une faible teneur en spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme chez les rats consommateurs d'éthanol, ce dernier semble modifier les produits de sécrétion de l'épididyme ou avoir une action directe sur la motilité et la morphologie des spermatozoïdes.

Conclusion

La présente étude sur les effets des deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale à deux doses différentes sur les paramètres macroscopiques (poids vif, poids et volume épидидymaire) et les structures histologiques de l'épididyme des lapins mâles prépubères de la souche synthétique nous a permis de constater des changements des différents paramètres étudiés.

En effet, le poids corporel des lapins traités augmente par rapport à celui des témoins d'une part, d'autre part, les lapins traités par les deux huiles à la dose 2 présentent une valeur plus importante par rapport à ceux traités par la dose 1. Cependant, les animaux traités par la Sauge officinale ont des valeurs inférieures à ceux traités par le Romarin à verbénone.

Sur le plan histologique, le Romarin à verbénone a induit un développement de l'épithélium épидидymaire et des microvillosités ainsi que l'apparition des sécrétions au niveau de la lumière épидидymaire. Tandis que, le traitement par la Sauge officinale a montré un début de sécrétion dans la lumière épидидymaire et un épithélium épидидymaire moins développé.

De ce fait, il semblerait que les deux huiles essentielles aux doses utilisées auront un effet positif sur le développement de l'épididyme, la spermatogenèse et la fertilité des lapins prépubères qui sont dose dépendants et huile dépendante.

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

Références bibliographiques

•A

- **Abraham L., Kierszenbaum. (2002).** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique, Paris : éd médicales internationales. P69.
- **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.
- **Abou-Haila A. et Tulsiani DR. (2000).** Acrosome de spermatozoïdes de mammifères : formation, contenu et fonction. *Archives de biochimie et biophysique*, 397(2), 173-182.
- **Abraham I., et Kierszenbaum (2006).** Histologie et biologie cellulaire.
- **Adamali H I., Somani I H., Huang J Q., Gravel R A., Trasler J M. Et Hermo L. (1999).** Characterization and development of the regional- and cellular-specific abnormalities in the epididymis of mice with beta-hexosaminidase A deficiency. *J. Androl*, 20: 803-824.
- **AFSSAPS A. F. d. S. S. d. P. d. S. (2008).** *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.*
- **Agrawal S., Kumar A., Gullaiya S., Dubey V., Nagar A., Tiwari P., Dhar P. Et Singh V. (2012).** Activité anti-fécondité d'écorce méthanolique d' *Aegle marmelos*(L.) chez des rats Wistar mâles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20 (1): 94.
- **Alçiçek A., Bozkurt M. et Çabuk M. (2003).** The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 33, 89-94.
- **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.
- **AL-Saaidi JA., AL-Khuzai ALD. Et AL-Zobaydi NFH., (2009).** Effect of alcoholic extract of *Nigella Sativa* on fertility in male rats. *Supplement II*, 123-128.
- **Alvariño J M R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., vol. A, 13-35.
- **Alvarino M R., (1993).** Control de la reproducción en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa : 137p.
- **Amann R P. (1993).** Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL (eds), *Equine Reproduction*, 1ed., Lea et Febiger eds, Philadelphia: 1137-1154 5.

- **Amann R P., Lambiase J T. (1967).** The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm out up between puberty and one year of age. *J. Rerod.Fert*, 14 : 329-332.
- **Anderson RA. Et Sharpe RM. (2000).** Régulation de la production d'inhibine chez l'homme et ses application cliniques. *Revue internationale d'andrologie*, 23(3),136-144.
- **Aubineau M., Bermond A., Bongler J., Roger J-Estardj. (2002).** Larousse agricole. Larousse VUEF. Canada : 379.
- **B.**
- **Badran H H., Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *Journal of andrology*, vol.23: 358-373.
- **Bailleul J.P. et Mauroy B. (1991).** Anatomie du testicule, des voies spermatiques et des bourses.EMC Urologie, 18-600.
- **Baril G., Chemineau P., Cognie Y., Guérin Y., Leboeuf B., Orgeur P. Et Vallet J C. (1993).** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. FAO, Rome (Italie) : 231.
- **Barone R. (1984).** Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie1 : Appareils digestif et respiratoire -Paris : Vigot. -896p)
- **Barone R. (1978).** Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie 2 : Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. Vigot, Paris : 896.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241-516.
- **Bedford JM. (1975).** Passage of spermatozoa through the epididymis. *Handbook of Physiology. Hamilton, D.W., Greep, R.O. Edit, Sect.7 Vol.5:* 303-305.
- **BerchicheM. Et Zerrouki N., (2000).** Reproduction des femelles de population locale : Essai d'évaluation de quelques paramètres en élevage rationnel. *3^{ème} journée de recherches sur les productions animales* « conduite de performance d'élevage ». Université de Tizi-ouzou, 293-298.
- **Berger M., Jean-Faucher C H., De-Turckhein M., Veyssiere G., Blanc M R., Poirier J C. Et Jean C. (1982).** Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* 99: 459-465.

- Bilezikjian LM., Blount A L., Leal A M., Donaldson C J., Fischer W H., Et Vale WW. (2004). Autocrine/paracrine regulation of pituitary function by activin, inhibin and follistatin. *Molecular and cellular endocrinology*, 225(1-2), 29-36.
- Bonnaïfous C. (2013). Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie&aromachologie. ÉditionDangles.
- Bonnes, D., Fink, R. et Thompson, C. J. (2005). Overcoming barriers and promoting the use of research in practice. *JONA : The Journal of Nursing Administration*, 35(3), 121-129.
- Boulbina I. (2011). Caractéristique de la semence du lapin de population locale (*oryctolaguscuniculus*). Thèse de magistère. Ecole nationale supérieure D'Alger.
- Boussit D. (1989). Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion Lavoisier TEC et DOC : 240.
- Boyd IL. (1985). Effect of photoperiod and melatonin on testis development and regression in wild European rabbits. *Biol. of repro*,33:21-29.
- Brambell FWR. (1944). The reproduction of the wild rabbit, *oryctolagus cuniculus*. *proc. zool. Soc. Lond*,114: 1-114.
- Breton S., Da Silva N. (2012). Rôle de l'épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer*. 1: 1-20.
- Brown D., Breton S. (2000). H (+) V-ATPase-dependent luminal acidification in the kidney collecting duct and the epididymis/vas deferens: vesicle recycling and transcytotic pathways. *J Exp Biol*, 203 : 137-145.
- C.
- Charles P. (2017). Biopsie testiculaire et fecundation in vitro en ICSC au centre hospitalo-universitaire de Strasbourg.
- Chemes HE. (2001). Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*,24 : 2-7.
- Cheverel ML, Cormier M. (1948). Effets de la carence en vitamine A sur le système génital male du lapin. *CR acad.sci* : 226-1854.
- Clark JR., Herman EH Ferrans VJ. Et Zhang J. (1996). Apoptose induite par la doxorubicine chez des rats spontanément hypertendus : effets différentiels sur le Cœur, les reins et l'intestin, et inhibition par l'ICRF-187.*Journal de cardiologie moléculaire et cellulaire*, 28(9), 1931-1943.
- Cooper T G. (1998). Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J ReprodFertil Suppl*,53: 119-136.

- Cornwall GA. (2009). New insights into epididymal biology and function. *Hum. Reprod*, 15: 213-227.
- Cornwall GA., Hsia N. (2003). A new subgroup of the family 2 cystatins. *Mol. Cell. Endocrinol*, 200 :1-8.
- Coudert P., Lebas F. (1984). Effet de rationnement alimentaire avant et pendant la première gestation sur la productivité et la mobilité des lapines reproductrices. 3th world Rabbit Congress, Rome: vol2,131-140.
- Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*.
- D.
- Dacheux JL., Belleannée C., Jones R., Labas V., Belghazi M., Guyonnet B., Druart X., Gatti JL. Et Dacheux F. (2009). Mammalian epididymal proteome. *Mol Cell Endocrinol*, 306 : 45 :50.
- Dacheux JL., Gatti JL., Dacheux F. (2003). Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *MicroscRes Tech*, 61 :7-17.
- Dadoune J.P et Demoulin A. (2001). Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Edition INRA, Paris : 256-289.
- De Kretser DM., Hedger MP., Loveland KL. Et Phillips DJ. (2002). Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Hum. Reprod. Upd*, 8(6): 529-54.
- Dohle G R., Smit M., Weber RF. (2003). Androgens and male fertility. *World J Urol* 21:341-345.
- F.
- Fauque, P., Albert, M., Serres, C., Viallon, V., Davy, C., Epelboin, S., ... & Patrat, C. (2009). From ultrastructural flagellar sperm defects to the health of babies conceived by ICSI. *Reproductive biomedicine online*, 19(3), 326-336.
- Fellag M., Fethoun M. (2018). Étude préliminaire sur les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles de la souche synthétique, au sevrage et pré pubère, université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : 73.
- Festy, D. (2008). Ma bible des huiles essentielles : guide complet d'aromathérapie. Paris:Leduc.s Ed.
- Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. Et Askar A. (2000). Influence of chronic high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.

- Franchomme P., Jollois R., Penoel D. (1990).** *L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle.*
- Frend, A. J., Skeritt, J. H., Robson, L. G., & Greenwell, P. (1990).** Immunological homologies between wheat gluten and starch granule proteins. *Journal of Cereal Science*, 12(2), 123-136.
- Friry-Santini C., Tinxell H., Rouquié D., Belluco S., Elies L. Pallen C. et Bars R. (2007).** Evaluation des effets antiandrogéniques du flutamide, du DDE et du linuro dans le test du rat sevré à l'aide d'approches de poids d'organe, histopathologique et protéomique. *Science toxicologiques*, 100(1), 54-65.
- Frolich A. (1948).** Some factors affecting semen production in rabbits. *prim. Congo intern. fisiopat. h.iprod. animal fecond. artif. ,milano.*
- G.**
- Gacem M., Zerrouki N., Lebas F. (2010).** Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapin avec deux populations locales disponibles en Algérie. 13^{ème} journées de la recherche Cunicole, France. 17-18.
- Garcia-Tomas M., Sánchez J. Et Piles M. (2009).** Post-natal sexual development of testis and epididymis in the rabbit: Variability and relationships among macroscopic and microscopic markers. *Animal Reproduction Science*, 110 : 347–355.
- Gatti J.L., Castella S., Dacheux F., Ecroyd H., Métayer S., Thimon V., Et Dacheux, J.L. (2004).** Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci*, 82-83 : 321-339.
- Girouard J. (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.
- H.**
- Haeri, S., Minaie, B., Amin, G., Nikfar, S., Khorasani, R., Esmaily, H., ... & Abdollahi, M. (2006).** Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. *Fitoterapia*, 77(7-8), 495-499.
- Hamilton D.W. (1975).** "Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymis, and ductus deferens in the rat" .In R.O. Geep et E. B. Astwood (éd). *Handbook of physiology, Section 7, Volume 5. Washington, DC: American Physiology Society*, p. 259-301.

- Hammoud Gl., Koivisto M., Kouvalnainen K. Et Vinko R. (1997).** Serum steroids and pituitary hormones in infants with particular reference to testicular activity. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 49 :49-45.
- Hamon R., Thepot N. Et Salaun G. (1999).** Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. *Editions Educagri*, 132.
- Hancock, L. W. et Orgebin Crist. (1988).** Synthesis and processing of rat sperm-associated α -L-fucosidase. *Biology of reproduction*, 48(6), 1228-1238.
- Hazard J. Et Perlemuter L. (2000).** Endocrinologie, Abrégé. Edition Masson, Paris : 363-375.
- Herbert N A., Steffensen J F. (2005).** The response of Atlantic cod, *Gadus morhua*, to progressive hypoxia: fish swimming speed and physiological stress. *Marine Biology*, 147(6), 1403-1412.
- Hermo L., Adamali H I., Andonian S. (2000).** Immunolocalization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl*, 21: 376-391.
- Hermo L., Robaire B. (2002).** Epididymal cell types and their functions. In: Robaire B., Hinton B.T. The epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York : 81-102.
- Hinton, B. T., & Palladino, M. A. (1995).** Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microscopy research and technique*, 30(1), 67-81.
- Hiroe K., Tomizuka T. (1965).** Effets d'un environnement à température élevée sur la production de sperme chez les animaux domestiques. *Bulletin of the national Institute of animal industry*, 9, 27-3.
- Ho HC., Suarez S S. (2001).** Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and régulation. *Reproduction*, 722: 519-526.
- Hoffer AP., Hamilton DW., Fawcett DW. (1973).** The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat*, 175: 169-201.
- Holland MK., Orgebin-Crist MC. (1988).** Characterization and hormonal regulation of protein synthesis by murine epididymis. *Biol. Reprod*, 38: 487-496.
- Holtz W., Foote RH. (1978).** The Anatomy of the reproductive system in male Dutch Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with special emphasis on the accessory sex glands. *J. Morph*, 58: 1-20.

•Huang SJ., Fu WO., Chung YW., Zhou TS., Wong PY. (1993). Properties of cAMP dependent and Ca (2+)-dependent whole cell Cl⁻ conductances in rat epididymal cells. *Am. J. Physiol*,264: 794-802.

•J

•Jardin A., De Fourmestraux N. (1984). In Mauvais-Jarvis P. médecine de la reproduction masculine. Ed. Flammarion Med. Sci. : 15-23.

•Jégou JP. (2014). Cyclophotocoagulation et gonioimplantation à diode laser transsclérale pour le traitement d'un glaucome primitif aigu chez un chien Fox-Terrier avec suivi à long terme. *Revue Vétérinaire Clinique*, 49(1), 47-55.

•Joly T., Theau-clément M. (2000). Reproduction et physiologie de la reproduction. 7ème Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. Valencia "Ombres et Lumières": 19-24.

•Junqueira LC., Carneiro J. (2007). Basic histology. 11th ed. Copyright © The McGraw-Hill Companies.

•K.

•Kasa IW., Thwaites CJ. (1992). Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8h on either 1 or 5 days. *J. Appl. Rabbit Res*, 15:500-568.

•Kirchhoff C. (1999). Expression génique dans l'épididyme. Dans international review of cytology. Academic Press, 188, 133-202.

•Küçükyılmaz (2017). S. Afr. J. Anim. Sci. vol. 47.

•Kumar V., Kural MR., Pereira BMJ. Et Roy P. (2008). Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food Chem Toxicol*, 46 :3563.

•L.

•Lakhdar L. (2015). *Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur Aggregatibacter actinomycetemcomitans : étude in vitro*. Faculté de médecine dentaire de Rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la santé.

•Lardry J.-M. & Haberkorn V. (2007). *L'aromathérapie et les huiles essentielles* (KinesitherReved.).

•Le Bourhis, C., Siffroi, J. P., McElreavey, K., & Dadoune, J. P. (2000). Y chromosome microdeletions and germinal mosaicism in infertile males. *Molecular human reproduction*, 6(8), 688-693.

•Le Moigne A. et Foucrier J. (2009). Biologie du développement. 7ème Edition. DUNOD Inc.

- **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., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** Le lapin : élevage et pathologie. Collection F.A.O : *producton et santé animal* : 1-210.
- **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, Rome : 1984-298p.
- **Lebas F., Gacem M., Meftah I., Zerrouki N., Bolet G. (2010).** Comparison of reproduction performances of a rabbit syntheticline and of rabbits of local populations in Algeria, in 2 breedinglocations - First results. 6th Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Assiut (Egypt) February, 1-4.
- **Lebas, F., Coudert, P., Rouvier, R., & De Rochambeau, H. (1984).** *Le lapin : élevage et pathologie*. FAO.
- **Leesson TS et Leeson RC. (1976).** Histologie. Masson. Barcelone Milan pages : 388-403.luminal content. Biol Reprod61, 705-714.
- **Lévêque S. (2003).** Etude comparative des résultats de l'ICSC au CHU de Nantes selon l'origine des spermatozoïdes (Doctorat dissertation, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie.Nantes : Université de Nantes,80p).
- **Lin T., J.K. Calkins,P.L.Morris, W.Vale et C.W.Bardin(1989).** Regulation of Leydig cell function in primary culture by inhibin and activin".Endocrinology 125(4): 2134-40.
- **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. Vet Clin North Am Equine Pract, 8 (1): 1-29.
- **Liu H.W., Lin Y.C., Chao C.F., Change S.Y. et Sun Gh. (2000).**GP-83 and GP- 39, two glycoproteins secreted by human epididymis are conjugated to spermatozoa during maturation. Molculairehuman reproduction, vol. 6,p. 422-428.
- **Loubna M.S. (2017).** Les microlithiases testiculaires.
- **Lunstra D.D. et Cundiff L.V. (2003).** Growth and pubertal development in Brahman-, Boran-, Tuli-, Belgian Blue-, Hereford- and Angus-sired F1 bulls. *J. Anim. Sci.* 81 (6) : 1414-1426.
- **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 Zealand White rabbits. *Rev. de Fac. De Medic. Vet. Zoot. Univer. of Sao Paulo.* 23(1):55–67.
- Maekawa M., Kamimura K., et Nagano T. (1996).** Peritubular myoid cells in the testis: their strusture and function. *Arch HistolCytol*, 59,1-13.
- Maksimovic M., Milos M. et Jukic M. (2007).** Propriétés inhibtrices de l'acétylcholinestérase in vitro du thymol, du carvcrol et de leurs dérivés thympoquinone et thymphohydroquinone. *Recherche en phytothérapie*, 21 (3), 259-261.
- 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.
- Mann T. et Parsons U. (1950).** Studies on the metabolism of semen. 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and eminal fructose. *Biochem. J.* 46 :440.
- Marieb N.E. (2006).** Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd. Renouveau pédagogique : 1096.
- Marieb, E.N. (1999).** Anatomie et physiologie humaines 2^{ème} édition. DeBoeck université.
- Martinet L. (1973).** Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, *Session ITAVI Toulouse, sept : 1973.*
- Martínez García, F., Regadera, J., Cobo, P., Palacios, J., Paniagua, R., & Nistal, M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia*, 27(4), 195-206.
- Maxson, M. E., &Grinstein, S. (2014).** The vacuolar-type H (+)-ATPase at a glance more than a proton pump. *J CellSci*, 127(Pt 23) : 4987-4993.
- Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993).** Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Production Animale. Vol 6 (1) :61-69.*
- Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. Editions elsevier. Pp85.
- Morakinyo, A. O., Adeniyi, O. S., & Arikawe, A. P. (2008).** Effects of Zingiber officinale on reproductive functions in the male rat. *African Journal of biomedical research*, 11(3).

- Mruk D.D. et Cheng C.Y. (2004).**Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr Rev*, 25(5): 747-806.
- Mukai, C, and Okuno, M. (2004).** Glycolysis plays a major rôle for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biol Reprod*71, 540-547.
- Mukhallad A., Mohamad A. et Hatham D. (2009).** Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med MedSci*, 4 (2), 386-390.
- Muller Y. et Clos J. (1997).** La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.
- N.**
- Nantia EA., MoundipaP.F., Beboy NS., Mausees 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 andrologie*, N02 :129-133.
- Nassem MZ., Patil SR. etPatil SB. (1998).** Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia*(Karela) in albinos rats.*Journal of ethmopharmacology*.Vol 61: 9-16.
- Nath D. et Majumder GC. (1999).** Maturation-dependent modification of the protein
- Nilson B., Rosen SW., Weintraub BD. etZopf DA (1986).** Differences in the carbohydrate moieties of the common alpha subunits of human chorionic gonadotropin, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and thyrotropin: preliminary structural inferences from direct methylation analysis. *Endocrinology*,119:2737-2743.
- Nixon, B., Jones, R. C., Hansen, L. A., and Holland, M. K. (2002).** Rabbit epididymal secretory proteins. I. Characterization and hormonal regulation. *Biol Reprod*67, 133-139.
- O.**
- O'Shaughnessy.P.J. etL.Murphy (1991).** Steroidogenic enzyme activity in the rat testis following Leydig cell destruction by ethylene 1, 2 dimethanesulphonate 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.
- Ouhayoun J. (1996).** Effect of age, diet and sex on muscle energy metabolism and on related physicochemical traits in the rabbit. *Meat Science*, 43(1), 15-24.

•P.

•Panella F. Et Castellini C. (1990). Fattori ambientali e genetica che influiscono sulle caratteristiche del seme di coniglio. *Riv. Di. Coniglicolt.* 27(8) :39-41.

•Parigini-Bini R., Xicato G., Cinetto M. et Dalle Zote A. (1991). Energy and protein utilization and partition in rabbit does concurrently pregnant and lactating. *Anim. Prod.*, 55, 153-162.

•Pharmacopée Européenne. (2010). 7e édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe
phosphorylation profile of isolated goat sperm plasma membrane. *Journal of reproduction and fertilization*, vol, 115, p. 29-3

phosphorylation profile of isolated goat sperm plasma membrane. *Journal of*

•Pollanen P. et Cooper T.G. (1994). Immunology of the testicular excurrent ducts. *J Reprod Immunol.* 26, 167-216.

•Prud'hon M. 1973. Physiologie de la reproduction. Cours supérieur de l'Aviculture INAPG., 18P.

•Q.

•Quiles A. et Havia M.L. (2000). Bases fisiológicas de la reproducción en cunicultura. *Rev. Agropec.* 814: 270-273.

•R.

•Rame, J. E., Drazner, M. H., Post, W., Peshock, R., Lima, J., Cooper, R. S., & Dries, D. L. (2007). Corin I555 (P568) allele is associated with enhanced cardiac hypertrophic response to increased systemic afterload. *Hypertension*, 49(4), 857-864.

•Raymond CS, Shamu CE, Shen MM, Seifert KJ, Hirsch B, Hodgkin J & Zarkower D. (1998) Evidence for evolutionary conservation of sex-determining genes. *Nature* 391, 691–695. reproduction and fertilization, vol, 115, p. 29-

•Robaire B. et L. Hermo. (1988). Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In E. Knobil et J. Neill (éd.). *The physiology of Reproduction*. New York: Raven Press Ltd: 999-1080.

•Robaire B., Hinto B.T. et Orgebin-Cris M.C. (2006). The epididymis. In: Neill J.D. (ed) *physiol. of Reprod.* third. Edition. New York: Elsevier: 1071-1148.

•Robaire, B., & Hermo, L. (1988). Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. *The physiology of reproduction*, 1, 999-1080.

- Robaire, B., and Viger, R. S. (1995). Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol Reprod* 52 : 226-236.
- Robaire, B., Hinton, B. T., & Orgebin-Crist, M. (2014). Chapter 22-The Epididymis. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 1071-1148.
- Robaire, B., Hinton, B. T., & Orgebin-Crist, M. C. (2006). The epididymis. In *Knobil and Neill's physiology of reproduction* (pp. 1071-1148). Academic Press.
- 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.
- Sadaoui L. (2017). LES MICROLITHIASES TESTICULAIRES.
- Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011). Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J Androl* 13, 11-17.
- Saez, J.M (1994). « Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation ». *Endocr Rev* 15 (5) :547-626.
- 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.
- Serre V. et Robaire B. (1999). Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol.Reprod.* 61: 705-714.
- Setchell B.P. et D.E. Brooks. (1988). anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. In E. Knobil et J. Neil (éd). *The physiology of Reproduction*. New York: Raven Press Ltd: 753-836.
- SETCHELL, B.P. (1989). Male reproductive organs and semen. In: *Reproduction in domestic animals*. Fifth edition (Edit. Cole, H.H., Cupps, P.T) Academic Press Inc., pp. 229-256.
- Shérif M., Sibghatullah S., Sree H., Mueen A. (2013). Sensibility of male rats fertility against olive oil, Nigella sativa oil and pomegranate extract. *Asian Pac J Trop Biomed*, 3(7): p. 563-8.

- Shum W.W., Ruan Y.C., Da Silva N. (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 : 1-45.
- Siffroi, J. P., Le Bourhis, C., Krausz, C., Barbaux, S., Quintana-Murci, L., Kanafani, S., ... & Boucher, D. (2000).** Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Human Reproduction*, 15(12), 2559-2562.
- Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.* 14 :151-154.
- Smah, H., & Ould Mokhtar, S. (2019).** *Effets de l'huile essentielle Menthe poivrée a deux doses (200µl/Kg et 400µl/Kg) sur la structure gonadique des lapins mâle infantiles et pré pubères* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Solau Poissonet 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.
- Srikhanth V., Milan T., Arunakaran J., Govindarajulu P. et Balasubramanian K. (1999).** Effets de l'éthanol sur les produits de secretion épидидymaire et la maturation du sperme chez le rat albinos. *J Pharmacol Exp Ther* ; 288 :509-15.
- Sullivan SA., Kujoth, G. C., Hiona, A., Pugh, T. D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S. E., ... & Morrow, J. D. (2005).** Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*, 309(5733), 481-484.
- T**
- Theau-Clément M. (1994).** Rôle de l'état physiologique de la lapine au moment de la mise à la reproduction sur la fécondation, Journée de l'Association scientifique Française de cuniculture, 20 janvier 1994,38-49.
- Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle edition, éd. Ellipses (Paris): 928.
- Tilbrook, J. C., & Clark, H. (2001).** Seedling performance of pasture species under elevated CO₂. *New Phytologist*, 150(2), 359-369.
- 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. et Derrickson B. (2007).** Introduction to the human body, the essentials of anatomy and physiology. New York: John Wiley and Sons.
- Tulsiani DR., Skudlarek MD., Holland MK. et Orgebin-Crist MC. (1993).** Glycosilation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biology of reproduction*, vol. 48, p. 417- 428.
- Turner RM. (2003)** Tales from the tail: what do we really know about sperm motility? *J Androl*, 24(6):790-803.
- Turner T.T. (1991).** Spermatozoa are exposed to a complex microenvironment as they traverse the epididymis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 637 : 364-383.
- V**
- Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - *Lyon 1 France* : 1-4.
- Van Nguyen (2007).** La sénescence cellulaire induite par des dommages à l'ADN est suffisante pour supprimer la tumorigenèse : un modèle murin. *le journal de médecine expérimentale* 204.6 : 1453-146.
- Veri J. P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocytochemical 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.
- 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.
- Villagran C., Navarro J. et Fuentes V.O. (2003).** Sexual exhaustion in White New Zealand male rabbits of different ages. *Anim. Repro. Sci.* 76 : 251-255.
- Von der Pahlen B. (2005)** le rôle de l'alcool et des hormones stéroïdes dans l'agression humaine. *VitamHorm* ;70 : 415-373.
- W**
- Wargo MJ., Smith EF. (2003).** Asymmetry of the central apparatus defines the location of active microtubule sliding in *Chlamydomonas* flagella. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(1): 137-142.
- Welsh U. (2002).** Précis d'histologie, cytologie, histologie, anatomie microscopique. -tournai (Belgique) : éd médicales internationales. -260p.
- Wrobel K.H. (1990).** Male reproduction system. In: *Textbook of Veterinary Histology*, 2ème Ed: 226-243.

•Y.

•Ying, S. Y. (1988). Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocrine reviews*, 9(2), 267-293.

•Z.

•Zhang FP., Pakarainen T., Zhu F., Poutanen M. et Huhtaniemi I (2004). Molecular characterization of postnatal development of testicular steroidogenesis in luteinizing hormone receptor knock-out mice. *Endocrinology*, 145(3) :1453-1463.

Résumé

Notre travail est centré sur les effets des huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale à deux doses différentes (100-200µl/Kg) sur les paramètres macroscopiques (poids corporel, poids et volume épидидymaire) et microscopiques (structure des épидидymes) des lapins mâles prépubères appartenant à la souche synthétique utilisés comme modèle expérimental. Notre étude est menée sur 15 lapins répartis en 5 lots dont chaque lot contient 3 lapins. Ces animaux ont été pesés puis traités par les différentes doses des deux huiles essentielles Romarin à verbénone et Sauge officinale. Une semaine après l'administration des huiles, les lapins ont été sacrifiés et les épидидymes sont prélevés, pesés et fixés pour effectuer l'étude histologique. Les résultats obtenus par ce travail montrent que les paramètres macroscopiques (poids corporel et poids épидидymaires) sont plus élevés chez les lapins traités par les deux huiles par rapport aux témoins, dont la dose 2 (200µl/Kg) présente des valeurs plus importantes que la dose 1 (100µl/Kg). Cependant, l'huile essentielle Romarin à verbénone est plus efficace que la Sauge officinale. Sur le plan histologique, le tube épидидymaire des lapins traités par la dose 1 et 2 de la Sauge est bordé par une paroi musculaire adhérente à un épithélium unistratifié prismatique et simple, une lumière avec un début de sécrétion du tube épидидymaire et des stériocils localisés au pôle apicale des cellules principale. Tandis que, le Romarin à verbénone a induit des modifications plus importantes au niveau de l'épididyme, en effets chez les lapins traités par la dose 1 et 2 il a été observé un épithélium pseudo-stratifié prismatique et les cellules principales alignées avec des noyaux situés dans le tiers basal, des stériocils et une lumière chargée en sécrétions fluides et globulaires. De ce fait, il semblerait que les huiles essentielles utilisées aux différentes doses ont un effet positif sur la structure des épидидymes, la spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles prépubères de la souche synthétique avec un effet plus marquant chez les traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone puis ceux traités par la sauge officinale.

Mots clés : huile essentielle, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, épидидyme, lapin mâle prépubères, reproduction.

Abstract

Our work is focused on the effects of rosemary verbenone and officinal sage essential oils at two different doses (100-200µl/Kg) on their macroscopic (body weight, epididymal weight and volume) and microscopic (structure of the epididymis) parameters of male rabbits prepubescent belonging to the synthetic strain used as experimental model. Our study is carried out on 15 rabbits divided into 5 batches, each batch of which contains 3 rabbits. These animals were weighed and then treated with the different doses of the two essential oils rosemary verbenone and officinal sage. One week after the administration of the oils, the rabbits were sacrificed and the epididymis removed, weighed and fixed for histological study. The results obtained by this work show that the macroscopic parameters (body weight and epididymal weight) are higher in the rabbits treated with the two oils compared to the controls, whose dose 2 (200µl/Kg) has higher values than the dose 1 (100µl/Kg). However, Rosemary verbenone essential oil is more effective than Sage. Histologically, the epididymal tube of rabbits treated with dose 1 and 2 of the officinal sage is bordered by a muscle wall adhered to a prismatic and simple unistratified epithelium, a light with the beginning of secretion of the epididymal tube and sterium located at the apical pole of the main cells. While verbenone rosemary induced greater changes in the epididym, in rabbits treated with dose 1 and 2, it was observed a prismatic pseudo stratified epithelium and the main cells aligned with nuclei located in the basal third, steriocils and lighth with fluid and globular secretions. As a result, it would seem that the essential oils used at different doses have a positive effect on the structure of the epididymis, spermatogenesis and fertility of prepubertal male rabbits of the synthetic strain with ore marked effect in rabbits treated with essential oil Rosemary verbenone then those treated with officinal Sage.

Key words: essential oil, verbenone rosemary, officinal sage, epididymis, prepubescent male rabbit, reproduction.