

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERRI, Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire de fin d'études

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

Thème

Etude préliminaire sur les effets de l'huile essentielle (*Mentha Piperita*) sur la structure des testicules des lapins mâles (*Oryctolagus cuniculus*) de la souche synthétique prépubères et pubères (3 et 5 mois).

Présenté par : M^{me} SALAH Ouahiba ep KHEDACHE

Soutenu devant le jury composé de :

Mme BOUAZIZ. « Maître de conférence B, UMMTO ».....Présidente

Mme LAKABI L. Ep. AHMANACHE. « Maître de conférences B, UMMTO ».....Promotrice

Mlle CHOUGAR. « Maître assistante A, UMMTO ».....Examinatrice

2017 / 2018

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier Dieu pour la volonté et le courage Qu'il m'a donné pour mener à terme ce travail.

Je remercie vivement :

Mme LAKABI L., Ep. AHMANACHE. Maitre de conférence B au département des Sciences Biologiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou qui m'a fait honneur en acceptant d'être ma promotrice, de me diriger tout au long de notre travail, et m'assister durant toute la mise en place et la réalisation de l'expérimentation au laboratoire et pour toute l'aide et le temps qu'elle m'a consacré. Je vous remercie très sincèrement pour votre patience et précieux conseils.

A Mme BOUAZIZ. Maitre de conférence B au département des Sciences Biologiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, d'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance, sincères remerciements et notre immense gratitude.

Notre grande reconnaissance et la marque de notre profond respect à Mlle *CHOUGAR.*
Maitre assistante A pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je présente mes sincères remerciements à tous mes enseignants du département des Sciences biologiques, particulièrement Mme *HAMIDOUCHE Z,* pour son soutien et ses précieux conseils.

Sans oublier l'équipe de **l'ITMAS de Boukhalfa,**

Ainsi que les membres de l'équipe du **laboratoire Anatomie et pathologie de CHU Nedir Mohammed (TO)** qui ont contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.

Et toute personne ayant contribuées de près ou de loin a la réalisation de ce modeste travail.

Un grand merci.

Dédicace

«En vérité, le Chemin importe peu, la volonté d'arriver suffit à tout»

Albert Camus.

J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à :

*Ceux que j'aime le plus au monde, **mes très chers parents AMAR et OUARDIA** qui m'ont apporté leur soutien, dans les moments difficiles avec un tant d'amour et d'affection et qui ont souffert sans se plaindre pour m'élever et m'éduquer afin que j'atteigne ce niveau, que le bon dieu leur accorde une longue vie.*

*A mon cher mari **MOHAMED**, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour profond, le respect que je ressens pour toi, ni ne serait te remercier pour ton aide sans limites et ta présence permanente à mes côtés, ta patience, ton soutien et ta compréhension, que Dieu le tout puissant le protège et le garde ainsi que ma belle famille.*

*A mes très chères sœurs **Fatima, Sonia et Kahina**, qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans les moments les plus durs, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que dieu, vous protège et vous garde.*

*A mon chère et unique frère **Yacine**, que Dieu le protège.*

A toutes mes amies et personne qui ont contribué de près ou de loin de réaliser ce modeste document.

OUAHIBA.

Liste des figures

Figure 1 : l'appareil génital du lapin mâle (Lebas <i>et al.</i> , 1996).....	2
Figure 2 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié)	4
Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007)	4
Figure 4 : structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993)	6
Figure 5 : Vascularisation du testicule (Gouaze <i>et al.</i> , 1977)	8
Figure 6 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).....	9
Figure 7 : Différenciation germinale schématisée (Marieb, 2005)	13
Figure 8 : Cycle spermato-génétique du lapin (Boussit 1989).....	13
Figure 9 : Régulation endocrine de la spermatogenèse (Junqueira et Carneiro, 2007)	15
Figure 10 : Le lapin de la population améliorée issus d'un élevage cinicole de Tigezirt (Originale, 2018).....	19
Figure 11 : Flacon de l'huile utilisé (Originale, 2018).....	20
Figure 12 : Huile essentielle utilisée « Menthe poivrée » (Originale, 2018)	20
Figure 13 : Constitution des lots de trois lapins (Originale, 2018)	22
Figure 14 : la pesé des lapins (Originale, 2018).....	23
Figure 15 : Administration de l'huile essentielle « Menthe poivrée » par voix orale (Originale, 2018)	24
Figure 16 : sacrifice des lapins et recueil du sang dans un tube sec (Originale, 2018)	25

Liste des figures

Figure 17 : Dissection du lapin et présentation de son appareil génital (Originale, 2018)	25
Figure 18 : Pesé (A) et détermination du poids des testicules (B) (Originale, 2018)	26
Figure 19 : fixation des testicules dans des piluliers remplie de « Bouin Hollande » (Originale, 2018)	27
Figure 20 : Photographie de la série de déshydratation des gonades (Originale, 2018)	28
Figure 21 : Imprégnation des cassettes contenant les testicules dans de la paraffine fondue dans l'étuve (Originale, 2018)	29
Figure 22 : Inclusion des cassettes contenant des gonades dans des moules à paraffine (Originale, 2018)	30
Figure 23 : Blocs réfrigéré (Originale, 2018).....	30
Figure 24 : Dispositif de la coupe, microtome (Originale, 2018)	31
Figure 25 : Batterie de circulation pour déparaffinage, hydratation et coloration topographique (Originale, 2018).....	32
Figure 26 : Montage des lames (Originale, 2018).....	33
Figure 27 : Photographie du microscope photonique utilisé (Originale, 2018)	34
Figure 28: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins de 3 mois d'âge.....	36
Figure 29: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins de 5 mois d'âge.....	37
Figure 30: Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 3mois	38
Figure 31: Représentation graphique de l'évolution du poids moyen des TG et TD des lapins de 5 mois	39

Liste des figures

Figure 32: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 1 mois	39
Figure 33: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 5 mois	40
Figure 34: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges.....	41
Figure 35: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 5 mois d'âges.....	42
Figure 36: Représentation graphique de volume des testicules des lapins de 3 mois d'âges.....	43
Figure 37: Représentation graphique de volume des testicules des lapins de 5 mois d'âges.....	43
Figure 38 : vascularisation des testicules des lapins âgés de 5 mois (Originale, 2018)	44

Liste des planches

Planche I : Photographie des testicules des lapins de 3 mois d'âge de la population améliorée observé au Microscope photonique (coloration Trichrome de Masson). .	46
Planche II : Photographie des testicules des lapins de 5 mois d'âge de la population améliorée observé au Microscope photonique (coloration Trichrome de Masson). .	48

Abréviations

ABP : Androgen Binding Protein

CS : Cellule de Sertoli

CL : Cellule de Leydig

EP G : Epididyme Gauche

Ep : Epithélium

EPD : Epididyme Droit

ESM : Erreur standard à la moyenne

FSH : Folliculo - Stimuline Hormone

GnRH: Gonadotropines Releasing Hormone

GnRH-like : Gonadotropines Releasing Hormone like

HE: huile essentielle

ITMA: Institut de Technologie Moyen Agricole

L : cellule de Leydig

LH : Luteinizing Hormone

Lu : Lumière

PC: Poids corporel

Ph : potentiel d'hydrogène

PR : poids relatif

PTT : poids totale des testicules

SHBP: Sex hormone Binding Protein

Spc : Spermatoocyte

Spd : Spermatozoïde

Spd a: Spermatozoïde allongé

Spd r: Spermatozoïde rond

Spg : Spermatogonie

Spz: : spermatozoïdes

T : testostérone

TC : Tissu conjonctif

TI : Tissu interstitiel

TS: Tube séminifère

Vs : Vaisseau sanguin

Table des matières

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I :

Rappels anatomo-histologie de l'appareil reproducteur mâle du lapin

1. Anatomo-histologique de l'appareil reproducteur mâle du lapin.....	2
2. Testicule	3
2.1. Anatomie du testicule.....	3
2.2. Histologie	3
2.2.1. Tubes séminifères.....	3
2.2.1.1. Cellule de Sertoli	5
2.2.1.2. Cellules germinales	5
2.2.2. Tissu interstitiel	7
2.2.2.1. Cellule de Leydig	7
2.2.3. Liquide des compartiments intra-testiculaires.....	7
2.2.4. Vascularisation et Innervation du testicule	8
3. Physiologie de la reproduction du lapin mâle	8
3.1. Développement des gonades et puberté	9
3.1.1. Développement pondéral.....	10
3.1.2. Développement de l'appareil génital externe	10
3.1.3. Maturation sexuelle	10
3.1.3.1. Phase infantile	10

Table des matières

3.1.3.2. Phase prépubertaire	10
3.1.3.3. Phase puberté	11
3.1.3.4. Maturité sexuelle	11
3.2. Fonction du testicule	11
3.2.1. Spermatogenèse : Production de gamètes	11
3.2.2. Stéroïdogénèse	12
4. Régulation de la fonction de reproduction du lapin	13
4.1. Axe hypothalamo-hypophyso gonadique.....	14
4.2. Régulation locale.....	14
4.3. Rétrocontrôle négative de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule	15
4.3. Facteurs de variations de la fonction de reproduction du lapin.....	16
4.3.1. Température.....	16
4.3.2. Alimentation.....	16
4.3.3. Saison	16
4.3.4. Eclairage.....	17
4.3.5. Effets d'autres facteurs sur la fonction de reproduction.....	17

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique	18
1.1. Model animal.....	18
1.2. Huile essentielle utilisée	19
1.2.1. Menthe poivrée (<i>Mentha x piperita</i>)	19

Table des matières

1.2.2. Propriétés physico-chimiques de la menthe poivrée	20
2. Autre matériels	21
3. Protocole expérimental	21
3.1. Constitution des lots	21
3.2. Alimentation et abreuvement	22
3.3. Expérimentation	22
3.4. Sacrifice des animaux.....	24
4. Etude Histologique	26
4.1. Fixation des échantillons	26
4.2. Déshydratation et éclaircissement	27
4.3. Imprégnation	28
4.4. Inclusion	29
4.5. Confection, collage et Etalement des coupes	31
4.6. Déparaffinage et hydratation	31
4.7. Coloration topographique.....	32
4.8. Le montage	32
5.9. Observation des lames	33
5. Etude statistique	34

Chapitre III : Résultats et Discussion

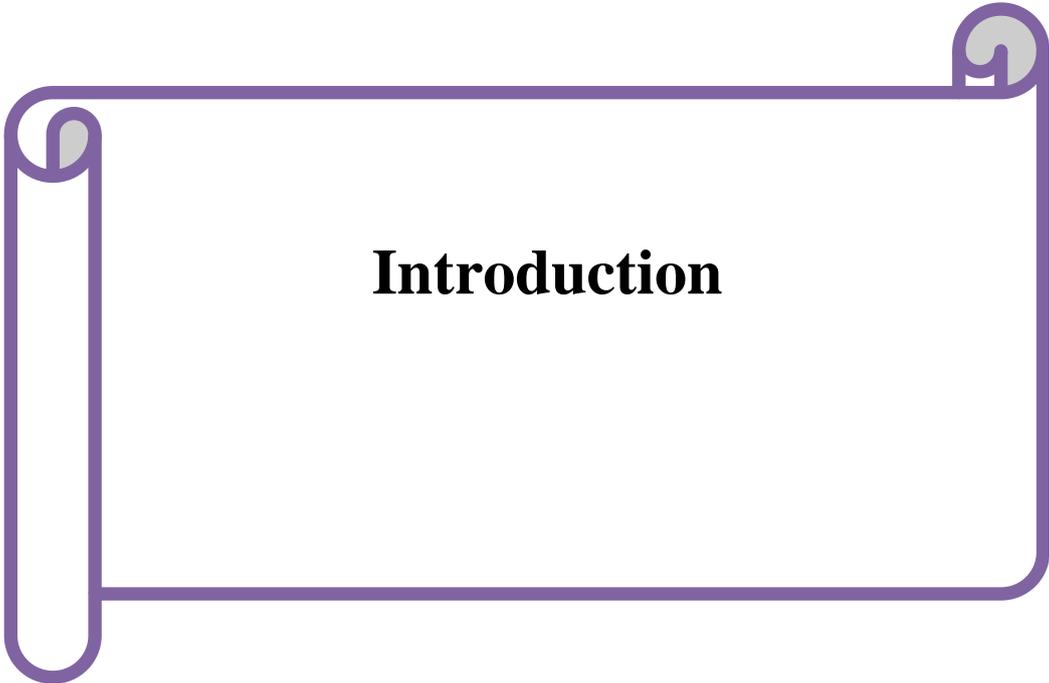
1. Résultats de l'étude macroscopique	35
1.1. Evolution des poids vif.....	35

Table des matières

1.1.1. Lapins prépubères (3 mois)	35
1.1.2. Lapins pubères (5 mois)	36
1.2. Evolution du poids gonadique	37
1.2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins de 3 mois	37
1.2.2. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins de 5 mois	38
1.3. Evolution du poids totale des gonades.....	39
1.3.1. Poids totale des testicules des lapins prépubères (3 mois).....	39
1.3.2. Poids totale des testicules des lapins pubères (5 mois)	40
1.3. Evolution pondérale relatif des testicules à 100g de poids corporelle	40
1.4.1. Lapins prépubères (3 mois)	40
1.4.2. Lapins pubères (5 mois)	41
1.5. Evolution du volume testiculaires	42
1.5.1. Lapins prépubères (3 mois)	42
1.5.2. Lapins pubères (5 mois)	43
1.6. Vascularisation des testicules	44
2. Résultats de l'étude histologique des testicules	44
2.1. Lapins prépubères (3 mois).....	45
2.1.1. Lapins témoins	45
2.1.2. Lapins traités (expérimentale).....	45
2.2. Lapins pubères (5 mois)	47
2.2.1. Lapins témoins	47
2.2.2. Lapins traités (expérimentales)	47

Table des matières

3. Discussion des résultats.....	49
Conclusion et perspectives.....	53
Références bibliographiques	54



Introduction

Introduction

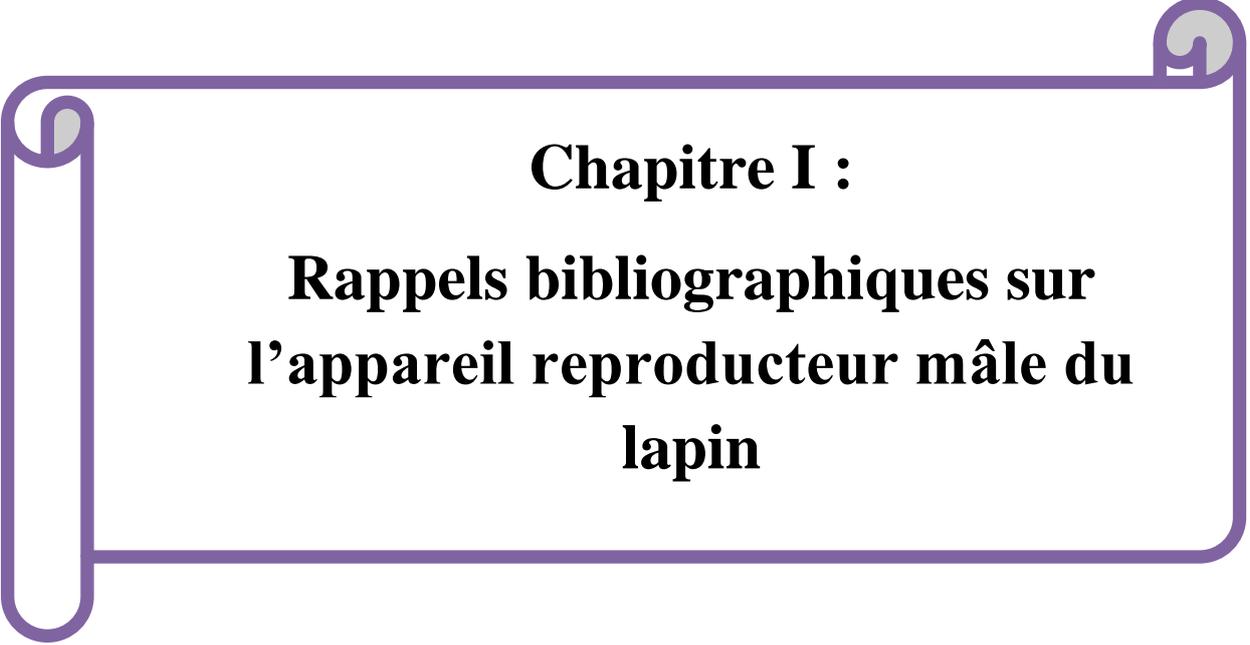
Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est une espèce considérée à la fois comme animale domestique, animal de compagnie et animale modèle de recherche. Cette situation lui confère un statut particulier, notamment, dans le domaine de la reproduction où il offre beaucoup d'avantage intéressant concernant sa productivité et reproductivité. En effet il est caractérisé par un court intervalle entre les générations et par une prolificité importante. C'est pour cette raison qu'il est fortement apprécié par les chercheurs.

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

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

Selon Franchomme (2015), ils existent des huiles essentielles (HE) 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 comme l'huile essentielle de Menthe Poivrée qui présente des vertus médicinales connues depuis l'antiquité. De nos jours, elle est utilisée en médecine traditionnelle ; en pharmacologie et médecine moderne. Cependant, plusieurs plantes communément utilisées ont été signalées comme ayant un effet sur les fonctions reproductrices mâles chez les animaux et les humains.

Le but de notre travail est de mettre en évidence l'effet de la Menthe Poivrée sur la structure des testicules des lapins de la souche synthétique âgé de trois et cinq mois. Notre travail s'organise en trois chapitres, le premier portera sur des rappels bibliographiques sur l'appareil reproducteur mâle du lapin, tandis que dans le deuxième chapitre nous aborderons matériels et méthodes utilisés. Le troisième chapitre présentera les résultats obtenus lors de notre expérimentation, suivi de leur discussion. Ce document sera clos par une conclusion, ainsi que par un ensemble de perspectives.



Chapitre I :
Rappels bibliographiques sur
l'appareil reproducteur mâle du
lapin

Le système reproducteur du lapin est très similaire à celui des autres mammifères, sauf pour la capacité supplémentaire de pouvoir rétracter le testicule dans l'abdomen (Sabbagh, 1983).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du lapin

L'appareil de reproduction masculin comprend les testicules, les voies génitales excrétrices (épididyme et canal déférent), les glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes bulbo-urétrales) et le pénis (Figure 1) (Dadoune *et al.*, 1990).

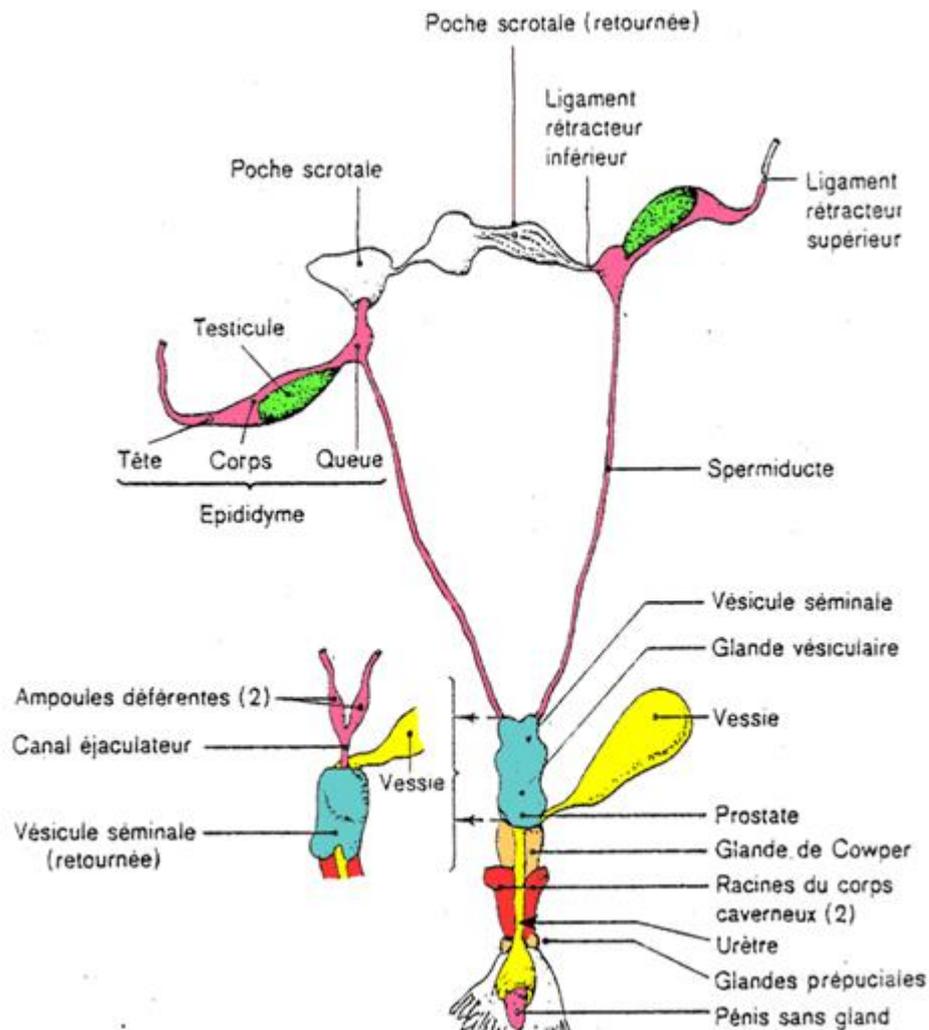


Figure 1 : Appareil génital du lapin mâle (Lebas *et al.*, 1996).

2. Testicule

2.1. Anatomie du testicule

Les testicules sont des organes pairs dotés d'une double structure, compartiment tubulaire et compartiment interstitiel. Ils ont une double fonction : endocrine correspondant à la synthèse et la sécrétion d'hormones principalement la testostérone et exocrine, en rapport avec la production de spermatozoïdes (Muller et Clos, 1997).

Situés de part et d'autre de la ligne médiane inguinale, les testicules chez le lapin adulte sont de forme ovoïde, aminci aux extrémités avec un pôle caudal plus pointu, mesurant 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur, 1 à 1,3 cm d'épaisseur et pesant 1,5 à 2 g (Barone, 2001).

Le lapin est alternativement exorchide lorsque les testicules montent dans la cavité abdominale sous l'effet de la frayeur, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster (Boussit, 1989 ; Barone, 2001).

2.2. Histologie

Les testicules sont recouverts de deux tuniques ; une tunique superficielle qui est la vaginale dérivant du feuillet péritonéale et une tunique fibreuse qui est l'albuginée, constituée de faisceaux de collagène et renfermant des cellules musculaires lisses (Muller et clos, 1997).

A la partie supérieure du testicule, l'albuginée s'épaissit et s'enfonce en profondeur dans l'organe, pour former le corps d'Highmore. Celui-ci est perforé par des formations canalisées qui constituent le *rete testis*. Entre l'albuginée et le corps d'Highmore sont tendues les cloisons inter-lobulaires *septa* qui délimitent 200 à 300 lobules testiculaires très flexueux (Figure 2) (Dadoune, 2000).

2.2.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère (TS), unité fonctionnelle du testicule, est très long, flexueux (30 cm à 1m de longueur pour un diamètre de 300 à 400 μm), constitué essentiellement de cellules germinales (cg) à des stades de développement variés (spermatogonies (sg), spermatocytes (spc), spermatides (sd)) et de cellules de sertoli (cS) qui se reposent sur une membrane basale (LB) (Figure 3) (Frend et *al.*, 1973).

Les tubes séminifères, 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin. Ils se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps d'Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le « *rete testis* », d'où partent une

dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993).

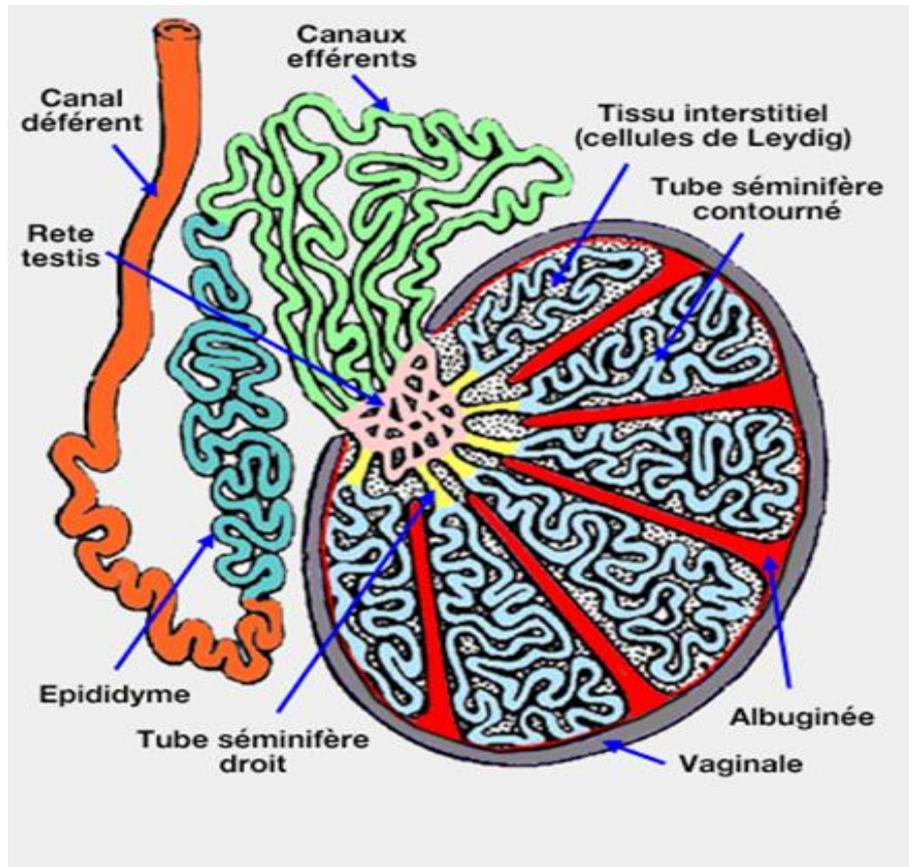


Figure 2 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).

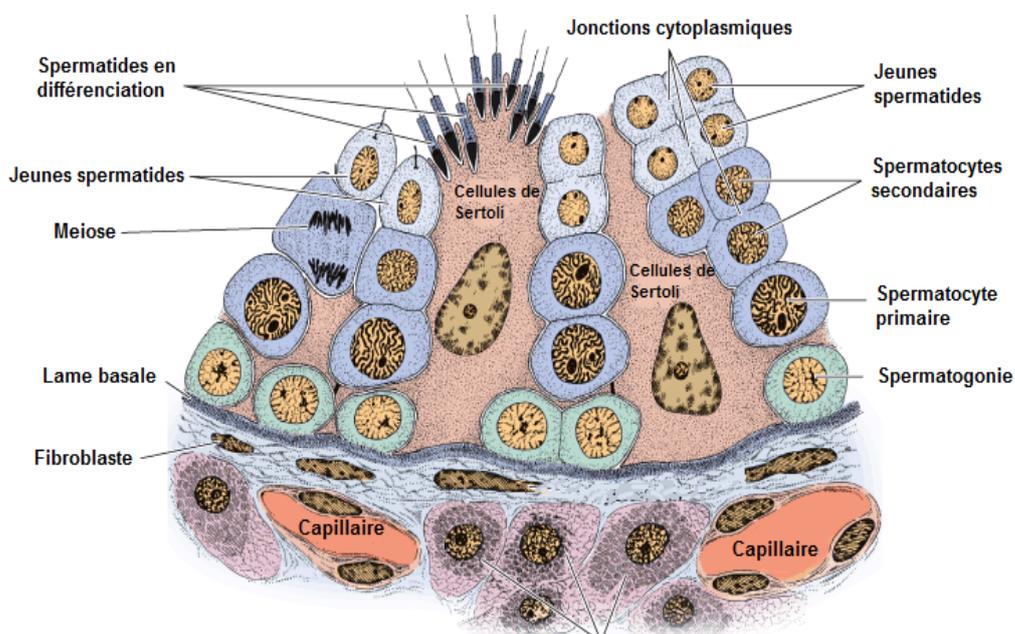


Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007).

2.2.1.1. Cellule de Sertoli

Les cellules de Sertoli, qui assurent le soutien, la protection et la nutrition des cellules germinales, sont pyramidales et allongées. Elles s'intercalent avec les cellules de la lignée germinales. Leur base repose sur la lame basale, alors que l'apex atteint fréquemment la lumière du tube séminifère. Elles possèdent un noyau allongé ou polygonal de 9 à 12µm de longueur (Raymond, 1988; Dadoune *et al*, 1990).

Chaque cellule de Sertoli est connectée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées, disposées au pôle basal liant deux compartiments : un compartiment basal ou périphérique et un compartiment central ou adjacent à la lumière (Figure 4). D'autres types de jonctions relient les cellules de Sertoli entre elles et avec les cellules germinales, dont des jonctions d'ancrage et des jonctions communicantes de type Gap (Hazard et Perlemuter, 2000).

Les cellules de Sertoli sont considérées comme l'un des éléments de la barrière de perméabilité (barrière hémato-testiculaire). Cette entité résulte du fait que des substances présentes dans le sang ne se retrouvent pas dans le fluide testiculaire. Les capillaires testiculaires sont de type fenestré et permettent le passage de grosses molécules. Cependant les jonctions serrées reliant les cellules de Sertoli interdisent le transport de ces grosses molécules. Cette barrière permet de protéger les cellules germinales de l'action d'agents toxiques véhiculés éventuellement par le sang et empêche toute interaction entre les cellules germinales en différenciation et le système immunitaire (Figure 4) (Junqueira et Carneiro, 2007).

2.2.1.2. Cellules germinales

Les cellules de la lignée germinale sont disposées en couches superposées qui d'étendent entre la membrane basale et la lumière du tube séminifères. Elles représentent les différentes étapes de la spermatogenèse, trois types de cellules germinales sont impliqués dans la spermatogenèse : les spermatogonies, les spermatocytes et les spermatides.

Les spermatogonies sont peu nombreuses avec un diamètre de 9 à 15 µm, trois aspects cytologiques ont été décrits au microscope photonique : les spermatogonies de type Ad (d= « dard ») possèdent un noyau arrondi avec une chromatine finement granuleuse, chromophile, occupée par une vacuole centrale. Les spermatogonies de type Ap (p= « pale ») ont un noyau ovalaire, claire, avec une chromatine fine et dispersée, renfermant un ou

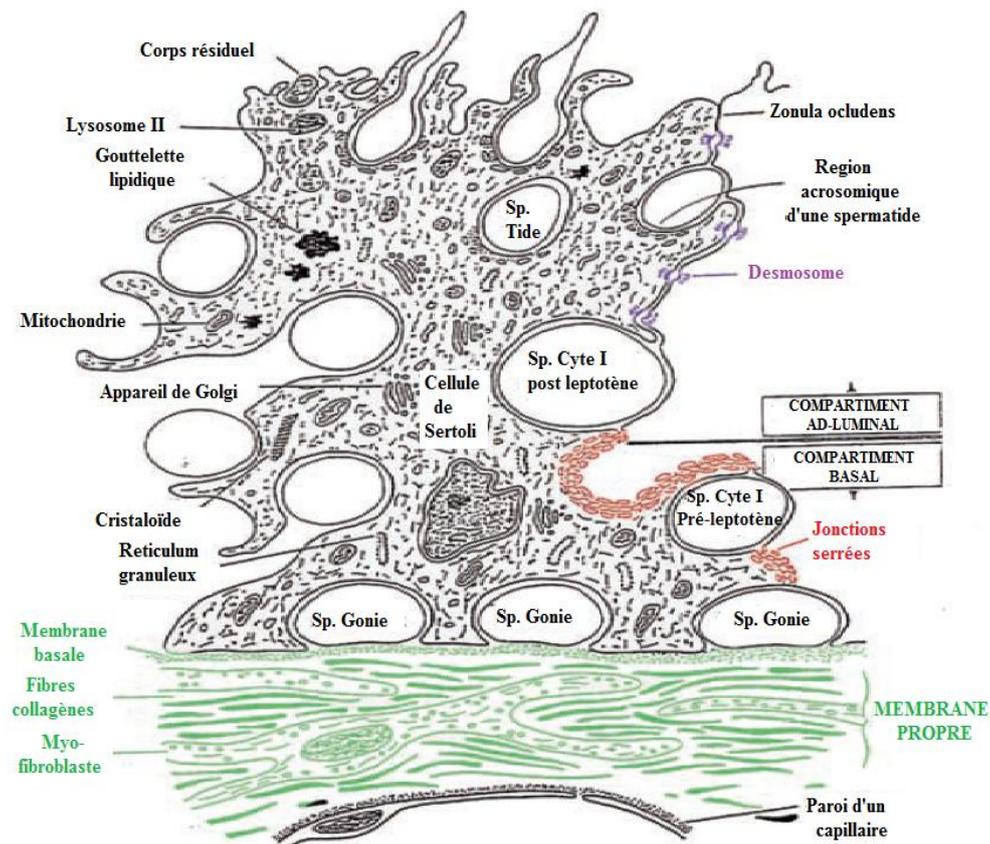


Figure 4 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).

plusieurs nucléoles. Les spermatogonies de type B sont caractérisées par un noyau arrondi, foncé, avec une chromatine en amas (spermatogonies croûteuses) (Dadoune *et al*, 1990).

Les spermatocytes I reconnaissables à leur cytoplasme abondant et à leur noyau volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments et sont diploïde. Les spermatocytes II sont plus petites, entrent rapidement dans le second cycle de division méiotique et sont donc peu visibles, sont haploïdes (Wheater *et al*, 2001).

Les spermatides sont des cellules de petite taille, ovoïdes avec un noyau rond et clair contenant ne ou deux masses nucléolaires, haploïdes (Dadoune *et al*, 1990). Elles se localisent à proximité de la lumière des tubes séminifères (Junqueira et Carneiro, 2007).

Les spermatozoïdes (spz) sont le résultat final de la spermatogenèse, sont disposés en bouquet à l'apex des cellules de sertoli, sont des cellules très petites doté d'une motilité flagellaire et d'une forme filiforme constitués de trois parties distinctes, la tête et la queue (flagelle). La tête, ovoïde formée par le noyau coiffé de l'acrosome (Robert et Vincent, 1995).

2.2.2. Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche (TC) qui se situe entre les tubes séminifères. Il comporte des vaisseaux sanguins, lymphatiques et nerfs, on y trouve aussi des îlots de cellules endocrines, les cellules de Leydig produisant la testostérone, ainsi que d'autres cellules libres (macrophages, lymphocytes et fibroblastes) (Frend *et al.*, 1973).

La quantité du tissu interstitiel varie suivant l'espèce, elle représente 10% du tissu testiculaire chez le chien et le cobaye, d'environ 25 à 30 % chez l'homme et 40% chez le verrot (Dadoune et Demoulin, 2001).

2.2.2.1. Cellule de Leydig

Se sont des cellules polygonales (10 µm chez l'homme), qui sont soit isolés, soit groupés en amas autour des capillaires sanguins, présentant un noyau rond avec un nucléole volumineux, un cytoplasme riche en citernes de REL et les mitochondries sont de taille variables et peu nombreuses (Dadoune et Demoulin, 2001).

La cellule de Leydig élabore les androgènes testiculaires (testostérone, androsténone, déhydroépiandrosténone, androstanediol). Un androgène peut être défini comme une substance qui induit et maintient la différenciation, le développement et la fonction du tractus génital, et qui est responsable de l'apparition des caractères sexuels secondaires (Dadoune *et al.*, 1990).

2.2.3. Liquide des compartiments intra-testiculaires

Les cellules interstitielles et les tubes séminifères logés dans les espaces périvitubulaires baignent dans le liquide interstitiel qui participe aux fonctions endocrines et paracrines du testicule.

Le liquide contenu dans les tubes séminifères contribue au transport des spermatozoïdes ainsi qu'à leur nutrition. C'est un liquide riche en minéraux, principalement en potassium, magnésium, phosphore, calcium et chlore. Il est très riche en Androgen Binding Protein (ABP) et pauvre en autres protéines (Hocherau De Reviers et Royere, 1996).

2.2.4. Vascularisation et Innervation du testicule

Les testicules sont irrigués par les artères testiculaires qui naissent de l'aorte abdominale et sont drainés par les veines testiculaires qui constituent une ramification du plexus pampiniforme autour de l'artère testiculaire située sous la vaginale du testicule.

L'innervation dépend de deux plexus nerveux ; le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus différentiel qui est sympathique (Figure 5) (Jardin et De Fourmestaux, 1984).

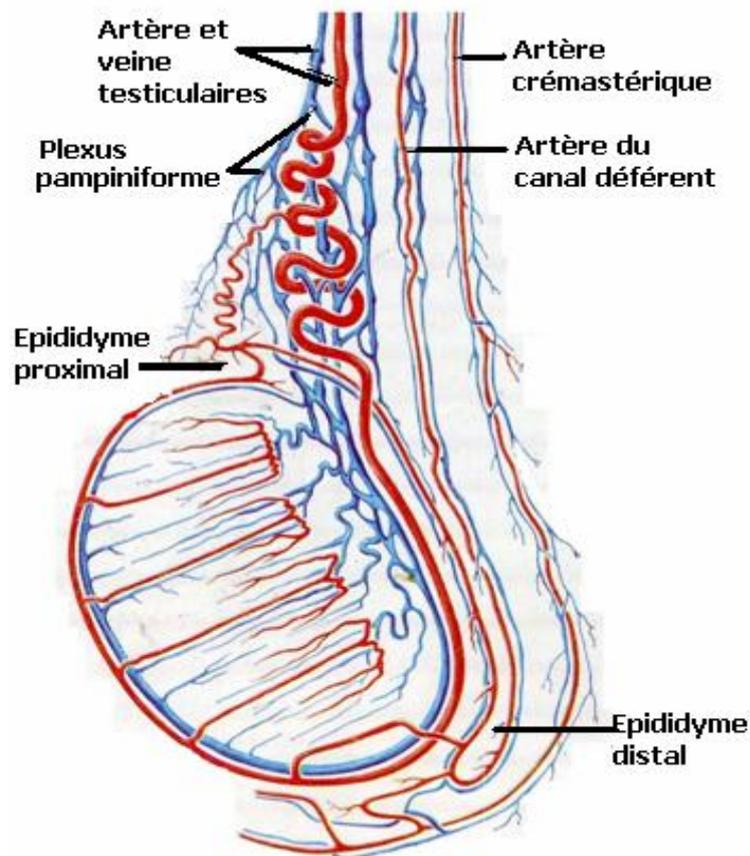


Figure 5 : Vascularisation du testicule (Gouaze *et al.*, 1977).

3. Physiologie de la reproduction du lapin mâle

La physiologie de la reproduction suscite l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui du système neuroendocrinien.

La physiologie de reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères. Au niveau testiculaire, s'effectue la production de gamètes « la spermatogénèse», la maturation quant à elle, s'accomplira au niveau épидидymaire.

3.1. Développement des gonades et puberté

La différenciation des gonades commence au 16^{ème} jour après la fécondation, et la production des hormones androgènes débute le 19^{ème} jour de gestation. Les canaux de Müller régressent le 20^{ème} jour, et la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour. Au 24^{ème} jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis (Figure 6) (Alvarino, 2000).

A la naissance, les testicules se trouvent en position abdominale et la descente de ces derniers dans les sacs scrotaux coïncide avec la puberté (Alvarino, 1993).

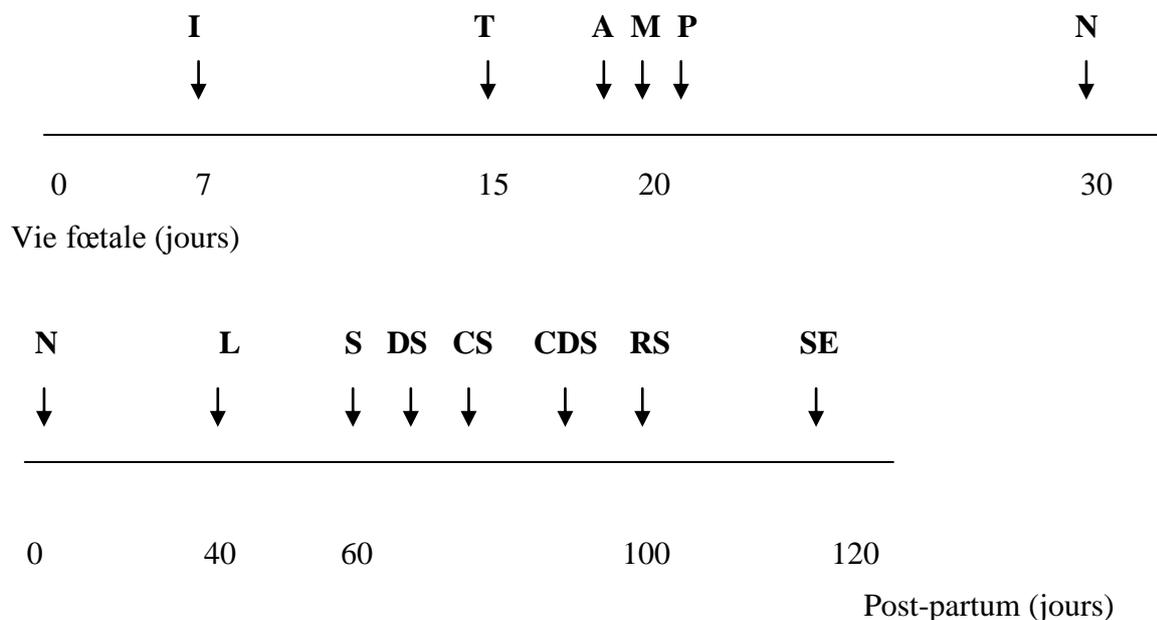


Figure 6 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

I= Implantation;

T= différenciation des testicules;

M= dégénérescence des canaux de Müller;

N= Naissance;

DS= début de la spermatogénèse;

CDS= développement complet de la spermatogénèse

L= Maturation des cellules de Leydig;

A= sécrétion d'androgènes;

P= Croissance de la prostate;

S= Apparition du premier spermatozoïde;

CS= premier comportement sexuel;

RS= premiers rapports sexuels;

SE= Apparition des premiers.

spermatozoïdes dans l'épididyme

3.1.1. Développement pondéral

Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de 5 semaines. Pour la race Néo-Zélandaise, le gain de poids quotidien est de 2,4 mg/jour chez les lapins âgés entre 0 à 40 jours, et de 37 mg/jour chez les lapins âgés de 40 à 210 jours (Berger *et al.*, 1982).

D'après Alvarino (2000) ; Lebas (2009), le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge. L'évolution du poids des testicules en fonction de l'âge montre une accélération de la croissance testiculaire, entre 70 et 110 jours environ.

3.1.2. Développement de l'appareil génital externe

A la naissance, les organes génitaux externes ne présentent pas de dimorphisme sexuel très marqué. La formation du scrotum débute vers le 2^{ème} mois d'âge, et à 3 mois les testicules descendent dans le scrotum. Le pénis se développe et acquiert la taille et la forme caractéristiques de l'adulte à la fin du 3^{ème} mois d'âge (Berger *et al.*, 1982).

3.1.3. Maturation sexuelle

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

3.1.3.1. Phase infantile

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

Durant ce stade, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermato-génétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger *et al.*, 1982).

3.1.3.2. Phase pré pubertaire

Elle 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 leur nombre augmente très rapidement, alors que le tissu interstitiel acquerra un aspect adulte entre 70 et 80 jours (Berger *et al.*, 1982 ; Boussit, 1989).

La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours d'âge (Lebas, 2009). La multiplication et la différenciation des cellules de Sertoli sont dépendantes des gonadotrophines (Alvarino, 2000).

3.1.3.3. Phase puberté

Selon Boussit (1989), la puberté serait définie par le moment où les organes reproducteurs du lapin mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule qui s'effectue vers 4 à 5 mois d'âge.

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

3.1.3.4. Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de spermatozoïdes n'augmente plus, est atteinte vers 30 à 32 semaines. Toutefois un jeune mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines, en effet les premières manifestations de comportement sexuel peuvent apparaître vers 60 à 70 jours.

Le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement. Avec une faible viabilité des spermatozoïdes de leurs premiers éjaculats, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds. Toutefois l'âge de puberté varie à cause des différences génétiques entre les races, les conditions d'élevage, l'alimentation et le climat (Lebas *et al.*, 1996).

3.2. Fonction du testicule

Le testicule est une glande amphicrine avec une fonction exocrine qui permet la production de gamètes mâles par le processus de spermatogénèse et une fonction endocrine par la production des hormones stéroïdes masculines (androgènes, essentiellement la testostérone) (Chocu, 2014).

3.2.1. Spermatogenèse : Production de gamètes

C'est un processus unique de division et de différenciation germinale qui aboutit à partir de cellules souches diploïdes (2n), les spermatogonies, à la formation de cellules hautement spécialisées, les spermatozoïdes qui sont haploïdes (n). Elle a lieu dans les tubes séminifères et se déroule de façon régulière et cyclique (Tortora et Derrickson, 2007).

La spermatogenèse implique la réalisation d'un programme génétique précis qui se déroule en trois principales phases.

Durant la première phase, les spermatogonies se divisent par mitose, se renouvellent et donnent naissance aux spermatocytes. Alors qu'au cours de la deuxième phase, les spermatocytes se divisent par méiose pour donner naissance aux spermatides après deux divisions cellulaires successives avec réduction de moitié du nombre des chromosomes. Enfin, au cours de la troisième phase, qui correspond à la spermiogenèse, les spermatides se différencient progressivement en spermatozoïdes (figure 7) (Dadoune *et al*, 1990).

La durée de la spermatogenèse est d'environ 35 jours chez la souris, 53 jours chez le rat, 74 jours chez l'homme (Clermont, 1972). Chez le lapin, elle est de 38 à 40 jours, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge. Les premiers spermatozoïdes sont présents dans les éjaculats du lapin Agés de 110 jours, mais peu viables (Lebas, 2009).

On distingue deux phases : une phase d'élaboration ou cycle spermato-génétique qui a lieu dans le testicule (figure 8), et une phase de maturation au niveau de l'épididyme.

Le cycle spermatogénétique représente la succession chronologique des différents stades de la spermatogenèse en un point donné du tube séminifère. Il représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires, permettant à partir d'une cellule souche spermatogonale d'élaborer un spermatozoïde non mature, présente deux phases : en premier s'effectue la multiplication et division des spermatogonies pour renouveler le stock et pour participer au cycle spermatogénétique, en second a lieu réduction du stock génétique (Boussit 1989).

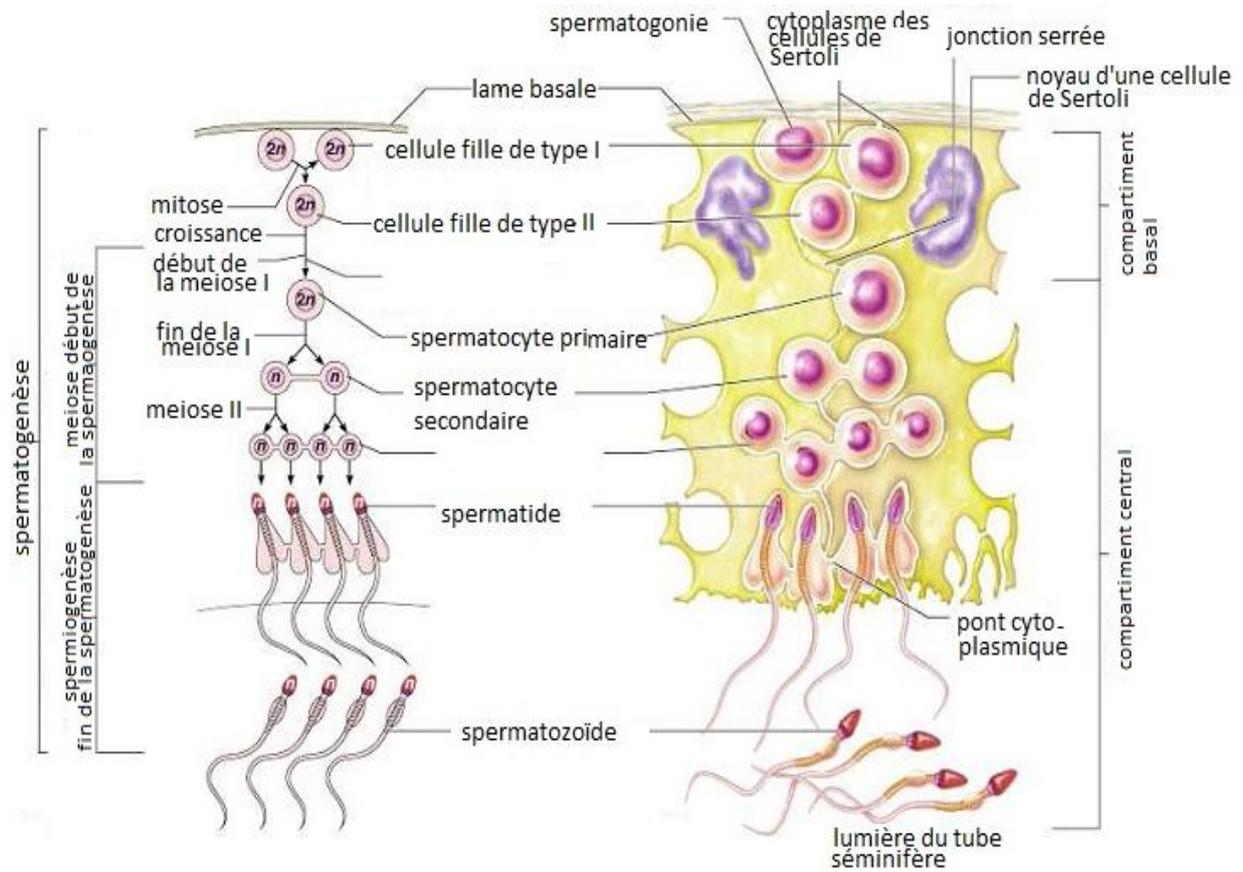


Figure 7 : Schéma de la différenciation germinale (Marieb, 2005).

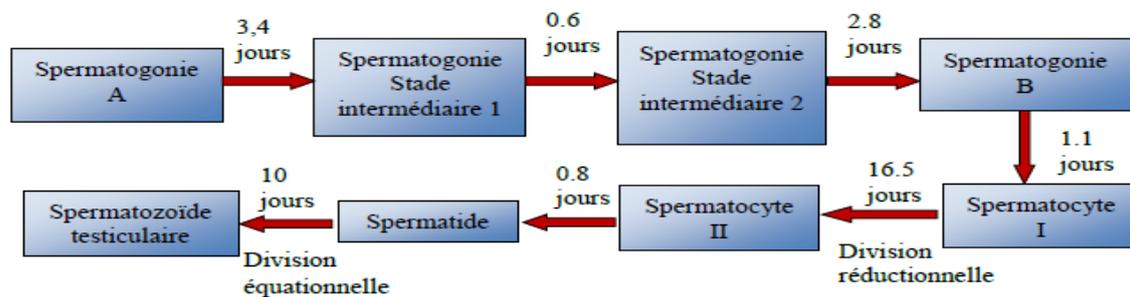


Figure 8 : Cycle spermatogénétique du lapin (Boussit, 1989).

3.2.2. Stéroïdogénèse

Les cellules de Leydig sont le siège de la biosynthèse de la testostérone qui nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes agissant en cascade à partir d'un précurseur commun à tous les stéroïdes, le cholestérol (Saez., 1994).

Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale, est une étape clef, faisant intervenir plusieurs protéines dont la plus importante est la protéine STAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein) (Clark *et al.*, 1994).

4. Régulation de la fonction de reproduction du lapin

Les deux fonctions, endocrines et exocrines des testicules, sont sous le contrôle d'hormones et de molécules synthétisées à différents niveaux : hypothalamique, hypophysaire et testiculaire. La régulation de la spermatogénèse est sous la dépendance de l'axe hypothalamo-hypophyso gonadique (HHG).

4.1. Axe hypothalamo-hypophyso gonadique

L'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique comprend la GnRH hypothalamique qui stimule la sécrétion de FSH et LH de façon pulsatile (Boussit, 1989).

La LH, en agissant sur les cellules de Leydig, stimule la production de testostérone. Selon Gilles (2006), la décharge pulsatile de LH est importante pour qu'une grande concentration de testostérone (100 à 500 fois plus qu'une concentration plasmatique) soit nécessaire pour la spermatogénèse.

Il existe une interaction très forte entre les tubes séminifères et le compartiment interstitiel, au travers d'un dialogue entre les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig (Figure 9) (Hayes *et al.*, 2000).

La FSH stimule indirectement la spermatogénèse, agit en synergie avec la testostérone pour stimuler la sécrétion d'une protéine liant les androgènes, l'ABP (androgen-binding protein) par les épithéliocytes de soutien. L'ABP est déversée dans la lumière des tubules séminifères contournés ainsi que dans le liquide interstitiel entourant les cellules spermatogéniques. Cette protéine se lie ensuite à la testostérone, ce qui contribue à maintenir une concentration élevée de testostérone. La testostérone déclenche les étapes finales de la spermatogénèse dans les tubes séminifères contournés (Tortora et Derrickson, 2007).

A l'inverse, on trouve dans la cellule de Leydig des peptides qui pourraient agir sur la cellule de Sertoli : bêta-endorphine et ACTH qui proviennent d'un précurseur commun, la pro-opio-mélano-cortine (POMC).

D'autres cellules, comme les macrophages et les cellules péritubulaires, semblent jouer un rôle direct ou indirect dans la modulation de l'action hormonale sur les cellules germinales (Dadoune *et al.*, 1990).

4.3. Rétrocontrôle négative de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule

La régulation de la fonction gonadotrope est caractérisée par un rétrocontrôle négatif exercé à la fois au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse, par les sécrétions testiculaires. La concentration élevée de la testostérone a une action inhibitrice sur la sécrétion de la LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus. L'inhibine exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des sous-unités β de la FSH, par les cellules gonadotropes (Hayes *et al.*, 2000).

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

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

4.3.1. 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).

L'exposition des mâles à des températures élevées (34 C° pendant 8 h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa *et Thwaites*, 1992).

Selon Finzi *et al.*, (2000), l'effet de l'hyperthermie est plus rapide sur l'apparition des anomalies que sur la chute de la concentration spermatique.

4.3.2. Alimentation

Des études ont montré qu'un régime alimentaire limité 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).

La composition des aliments pendant la période d'élevage a un effet direct sur les performances de tous les animaux d'élevage. Une alimentation basée uniquement sur les fourrages grossiers est insuffisante pour la couverture des besoins de production chez le lapin (Lebas *et al.*, 1984 ; Berchiche et Zerrouki, 2000).

4.3.3. Saison

Les effets de la saison regroupent les variations de durée d'éclaircements, de température, pluviométrie et d'Hygrométrie. Plusieurs auteurs (Marai *et al.*, 2002 ; Safaa *et al.*, 2008) ont étudié l'effet saison sur l'activité sexuelle du lapin, et ont observé que la plupart des paramètres de la production spermatique sont affectés.

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

Une humidité relative trop basse (moins de 50%) est néfaste car elle se traduit par une réduction des performances de reproduction (Lebas *et al.*, 1991)

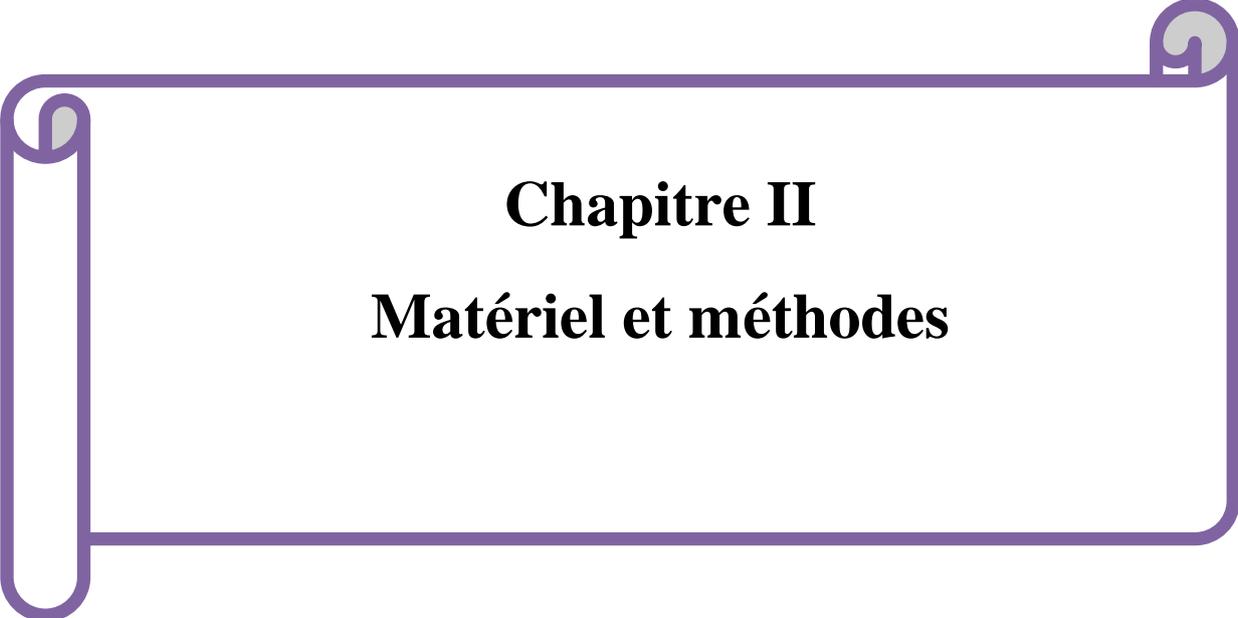
4.3.4. Eclaircissement

Une durée d'éclaircissement de 12 heures sur 24 permet d'augmenter la taille des testicules et les réserves spermatiques dans l'épididyme, par rapport à des durées courtes de 8 heures sur 24 heures (Lebas *et al.*, 1996).

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

4.3.5. Effets d'autres facteurs sur la fonction de reproduction

Des études récentes ont montrés que les variations de la fonction de la reproduction chez le lapin ne peuvent se limiter aux facteurs cités en dessous. Cependant des chercheurs ont mit en évidence, que les huiles essentielles peuvent avoir selon la plante utilisé une toxicité plus au moins importante chez les lapins et rongeurs de compagnie (Kammerer *et al.*, 2012).



Chapitre II
Matériel et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo fonctionnel du développement gonadique et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche et de la souche synthétique. L'objectif de ce présent travail est l'étude des effets de l'huile essentielle « Menthe poivrée » sur la structure des testicules du lapin mâle, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et volume des gonades.

1. Matériel biologique

1.1. Modèle animal

La présente étude a porté sur 18 lapins mâles (9 lapins âgés de trois mois et 9 lapins âgés de cinq mois) de la souche synthétique (améliorée) (Figure 10) provenant d'un élevage privé de la région de Tizirt, wilaya de Tizi-ouzou.

Selon Gacem *et al.*, (2009) ; Lebas *et al.*, (2010), le type amélioré, a été initié à l'institut technique des élevage-Baba-Ali, Alger (ITELV) à partir de 2003 en collaboration avec l'INRA de Toulouse. Cette souche est caractérisée par une prolificité importante (9 lapereaux nés vivant par mi-bas), un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population locale algérienne.

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

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



Figure 10 : Le lapin de la population améliorée issus d'un élevage cunicole de Tizirt (Originale, 2018).

1.2. Huile essentielle utilisée

Une huile essentielle (HE) est une substance liquide, odorante, volatile, de consistance huileuse, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardry et Haberkorn, 2007) ; elle représente l'essence de la plante, autrement dit son parfum et ne contiennent aucun corps gras, malgré leur appellation, sont obtenues généralement par expression à froid (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau (Bonnafous, 2013).

1.2.1. Menthe poivrée (*Mentha piperita*)

La menthe poivrée est l'huile essentielle la plus polyvalente, qui a une saveur délicate et une couleur jaune clair rafraîchissante, et dont le principe active est le menthol (Figure 11 et 12).

Les menthes étaient utilisées dans des buts thérapeutiques au 16^{ème} et 17^{ème} siècle, actuellement elles sont employées dans plusieurs domaines (Abadlia et Chebbour, 2014).



Figure 11 : Flacon de l'huile utilisée
(Originale, 2018)



Figure 12 : Huile essentielle utilisée
« Menthe poivrée » (Originale, 2018).

1.2.2. Propriétés physico-chimiques de la menthe poivrée

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles au fait de leur masse moléculaire relativement faible, ce qui leur confère la propriété olfactive qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont 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 présentent une densité en générale inférieure à celle de l'eau avec un indice de réfraction élevé (Bonnafous, 2017 ; El kalamouni, 2010).

Selon Couic-Marinier et Lobstein (2013), la composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

- Dans une même plante selon l'organe distillé (feuille, fleur, fruit, bois),
- Pour une même plante dans la même année selon la saison,
- Pour une même espèce selon les conditions de culture (ensoleillement, humidité, Longueur du jour, fertilité du sol),
- Pour une même espèce selon les races chimiques ou chémotypes (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques).

- Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité ; de ce fait l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée.
- Bonnafous, (2013), rajoute qu'elles sont inflammables et ne contiennent aucun corps gras et elles ont un fort pouvoir de pénétration : en les appliquant sur la peau, il suffit de quelques heures pour en retrouver des traces dans les urines.

2. Autre matériels

Notre expérimentation a nécessité d'autres matériels tel que: ciseaux, pinces, seringues (2ml, 5ml) des bavettes, des gants, spatules, tubes sec, eppendorfs, portoirs, micropipettes (10µl-100µl), (100-1000µl), balance à précision, centrifugeuse, microtome, cryotubes et cassettes d'inclusion.

3. Protocole expérimental

Avant d'entamer l'expérimentation proprement dite qui sera réalisée au niveau de l'ITMAS (l'Institut de Technologie Moyen Agriculture Spécialisé en Agriculture de Montagne), localisé dans la commune de Boukhalfa, Wilaya de Tizi Ouzou, les animaux sont laissés au clapier pendant une semaine pour qu'ils puissent s'adapter au milieu, tout en évitant l'effet du stress. L'aliment et l'eau ont été distribués *ad libitum*.

3.1. Constitution des lots

Les animaux sont répartis au hasard en trois lots (trois lapins pour chacun lot). Le premier lot comporte des lapins témoins (T), le deuxième et le troisième sont des lots expérimentaux (E), le deuxième lot comporte les lapins de la première dose (D1) (100 µl) et le troisième lot contient les lapins de la deuxième dose (D2) (200 µl).

Les animaux ont été répartis dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole. Ils sont tous exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement ambiant (Figure 13).



Figure 13 : Constitution des lots de trois lapins (Originale, 2018).

3.2. Alimentation et abreuvement

Durant toute la période expérimentale, les animaux étaient nourris et abreuvés *ad libitum*. L'aliment est de type granulé, destiné à l'élevage cunicole. L'abreuvement est assuré par un système de tétine,

3.3. Expérimentation

L'expérimentation a été réalisée durant la période allant du mois de Mai au mois de Juillet de l'année 2018. Le traitement avec l'huile essentielle a été réalisé au niveau de l'ITMAS tandis que Les expérimentations sont effectuées au niveau du laboratoire de recherches de professeur MEDJDOUB-BENSAAD F au sein de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

L'administration de l'huile essentielle s'est effectuée durant le mois de Mai. Les 17 lapins de sexe mâle ont été pesés (J0) (Figure 14). Le premier lot de lapins témoins n'a pas reçu de traitement à l'huile essentielle. Tandis que les lapins de 2^{ème} et 3^{ème} lots ont été traités une seule fois par l'huile essentielle « Menthe poivrée » administré par voie orale à des doses différentes (100 µl /kg pour les lapins du deuxième lot et 200 µl /kg pour les lapins du

troisième lot). En effet l'huile essentielle a été mélangée avec 0,5 ml de l'eau potable dans une seringue puis administré directement par voix per-ose à l'animale (Figure 15).



Figure 14 : Pesée des lapins (Originale, 2018).



Figure 15: Administration de l'huile essentielle « Menthe poivrée » par voie orale (Originale, 2018).

3.4. Sacrifice des animaux

Les sacrifices sont effectués après une semaine de l'administration de la dose unique de l'huile (J7). Les animaux sont pesés puis sacrifiés par décapitation le matin entre 9 H:00 et 12 H:00 au niveau de laboratoire. Le sang recueilli immédiatement dans des tubes sec et centrifugé à 3000 tours/minute et le sérum est aliquoté dans des ependorfs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C (Figure 16).

Juste après le sacrifice, les animaux sont disséqués (Figure 17), les testicules sont prélevés puis dégraissés et pesés avec une balance de précision puis déterminer le volume des testicules dans des tubes gradués, par la mesure du volume d'eau déplacé. Le tube gradué étant remplis d'eau à un niveau initial connu, la différence avec le volume obtenu à l'immersion de l'organe correspond au volume de l'organe. Les testicules gauches sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules droites sont placés dans des cryotubes et congelés à -20°C, jusqu'à leurs utilisation ultérieure (Figure 18).



Figure 16 : Sacrifice des lapins et recueil du sang dans un tube sec (Originale, 2018).

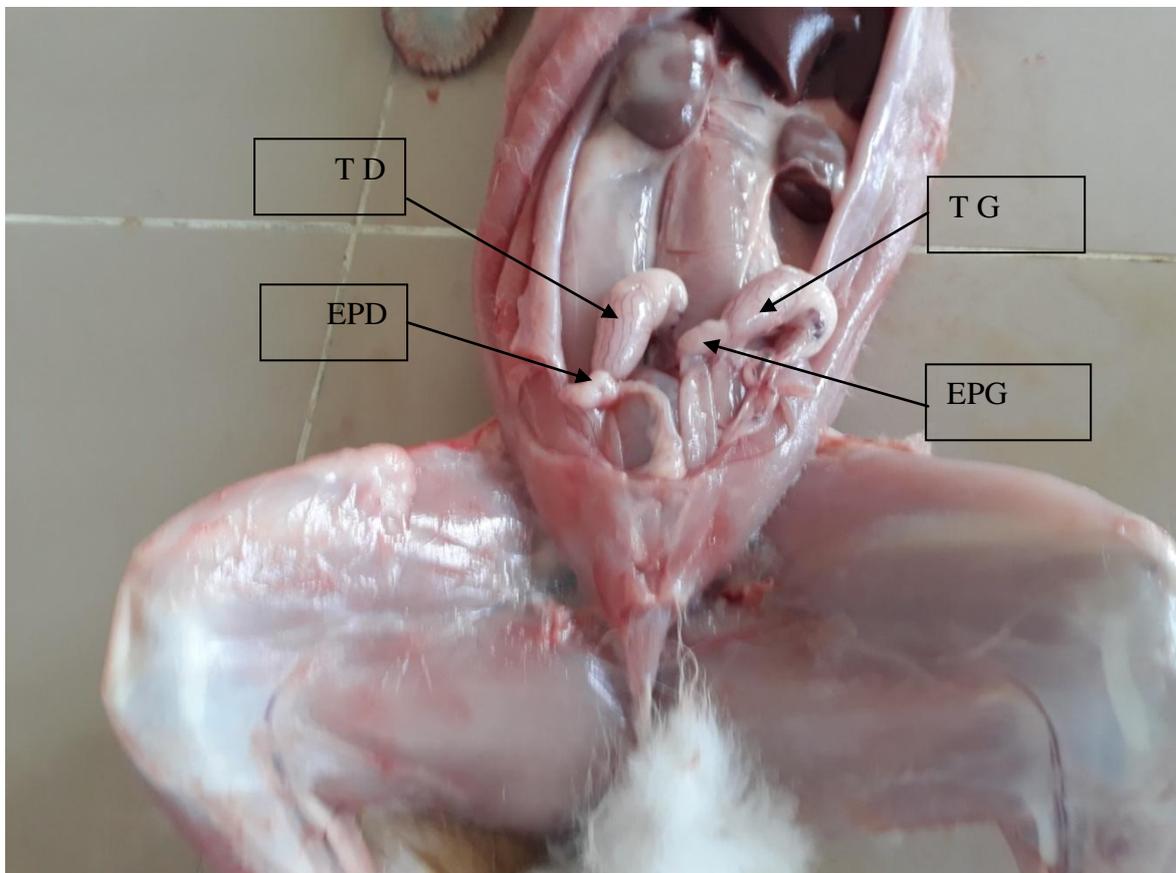


Figure 17 : Dissection du lapin et présentation de son appareil génital (Originale, 2018).

TD : testicule droit, EPD : épididyme droit, TG : testicule gauche, EPG : épididyme gauche.



Figure 18 : Pesée (A) et détermination du poids des testicules (B) (Originale, 2018).

4. Etude Histologique

L'étude histologique a pour objectif de décrire la structure histologique du testicule, elle implique la mise en œuvre de 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 et Martoja (1967). Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes.

4.1. Fixation des échantillons

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes permettant de pratiquer ultérieurement certaines manipulations avec un minimum de dommage pour les structures cellulaires. Elle permet :

- De le conserver dans un état aussi proche que possible de l'état vivant ;
- De s'opposer à ses raccourcissements et ses distorsions ;
- De protéger les cellules de l'attaque bactérienne ;
- D'empêcher la destruction des constituants cellulaires sous l'action d'enzymes

Le fixateur utilisé est le Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) de la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Ce choix est justifié par son utilisation antérieure au laboratoire. C'est une solution préparée au laboratoire sur la base d'un mélange de formol et d'acide picrique, il a un optimum d'action et est le mieux conseillé pour les glandes endocrines.

Après prélèvement les testicules et pour mieux préserver leur structure, ils ont été digressés, puis déposés dans des piluliers contenant une quantité suffisante de « Bouin Hollande » afin d'immerger totalement l'organe dans le fixateur pendant 7 jours à température ambiante. Il est ensuite lavé à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau soit limpide (Figure 19).

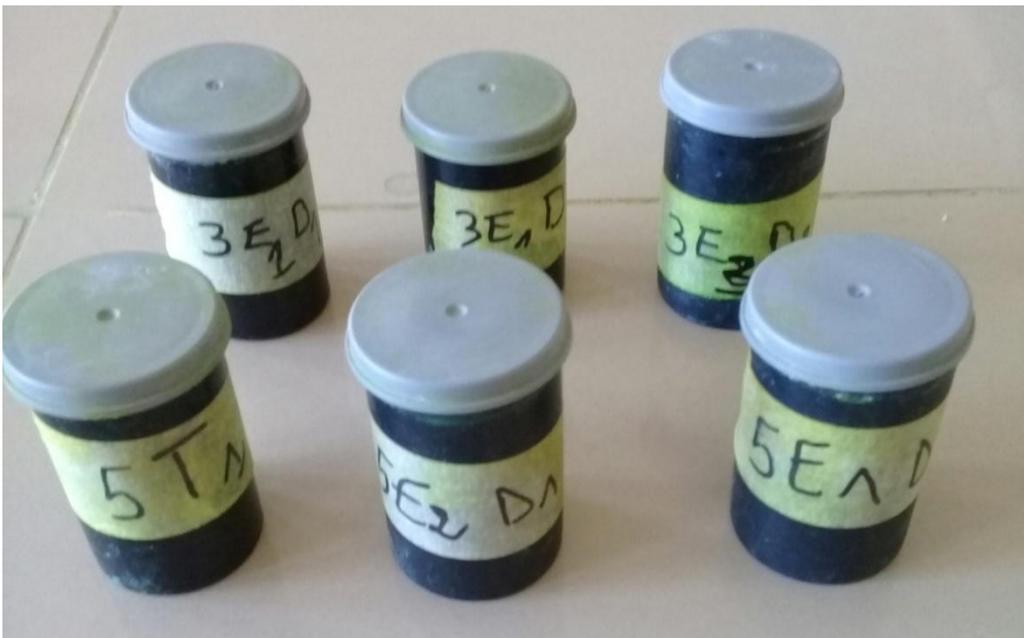


Figure 19 : Fixation des testicules dans des piluliers remplis de « Bouin Hollande » (Originale, 2018).

4.2. Déshydratation et éclaircissement

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

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, nous avons utilisé une série de bains d'alcool éthylique à des degrés croissants (50°, 70°, 80°, 90°, 100°), pendant 40 minutes pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures, puis transférés dans un bain de xylène pendant 40 minutes pour l'éclaircissement et pour compléter la déshydratation et préparer l'imprégnation de l'organe à la paraffine. En effet, l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine (Figure 20).

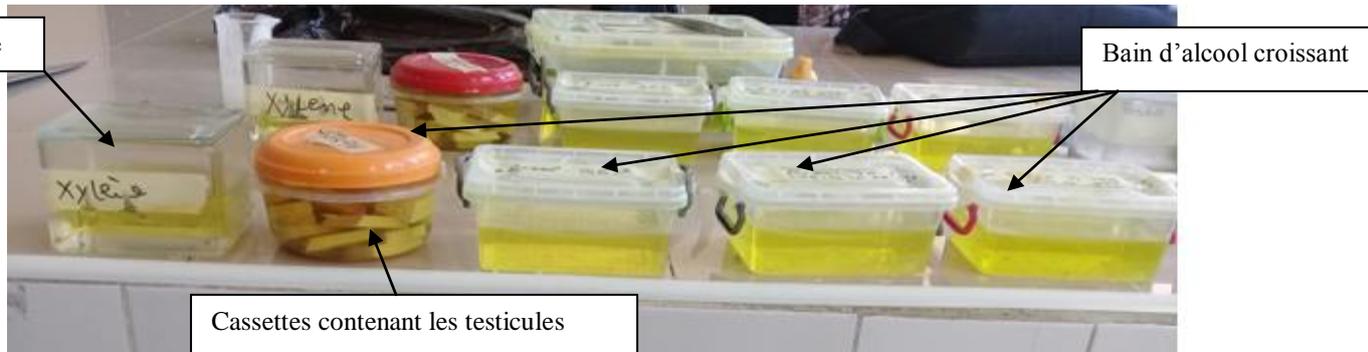


Figure 20 : Photographie de la série des bains de déshydratation des gonades (Originale, 2018).

4.3. Imprégnation

Cette étape permet l'élimination complète des traces d'alcool, le but de cette étape est d'obtenir une imprégnation aussi complète que possible des pièces par la paraffine.

L'imprégnation consiste à plonger les organes dans 3 bains successifs de paraffine, de 40 minutes pour chaque bain à 60°C, immédiatement après les bains de toluène. Le premier est constitué d'une moitié de paraffine et moitié toluène, tandis que le deuxième et le troisième bain renferment de la paraffine pure (Figure 21).



Figure 21 : Imprégnation des cassettes contenant les testicules dans de la paraffine fondue dans l'étuve (Originale, 2018).

4.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette étape consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C. Nous avons utilisé des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrits les numéros des échantillons et des moules de métal spécifiques et adaptés aux dimensions de l'organe et de la cassette. La paraffine liquide est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C, l'organe est placé ainsi la partie marqué de sa cassette sur le moule et nous coulons de la paraffine fondue jusqu'à son débordement (la cassette soit totalement immergée) (Figure 22).

Le bloc est refroidi rapidement sur une plaque réfrigérée et on met les blocs au réfrigérateur et après leur durcissement ils sont démoulés facilement. Les blocs peuvent être ainsi conservés sans dommage (Figure 23).

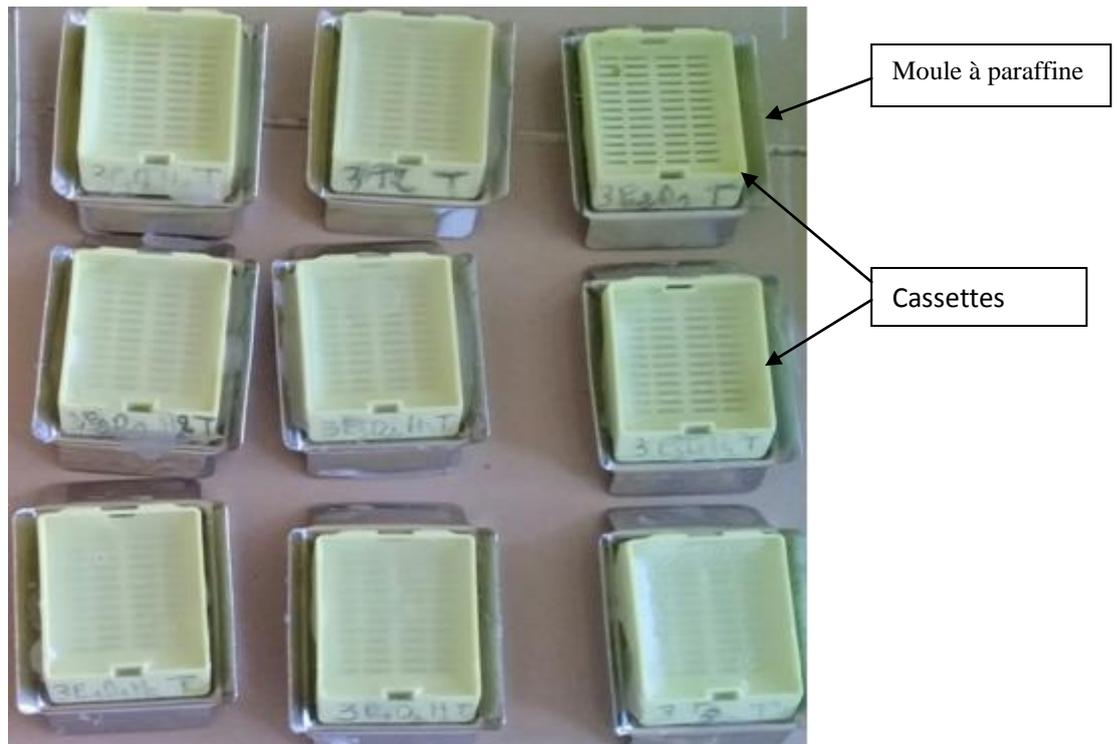


Figure 22 : Inclusion des cassettes contenant des gonades dans des moules à paraffine (Originale, 2018).

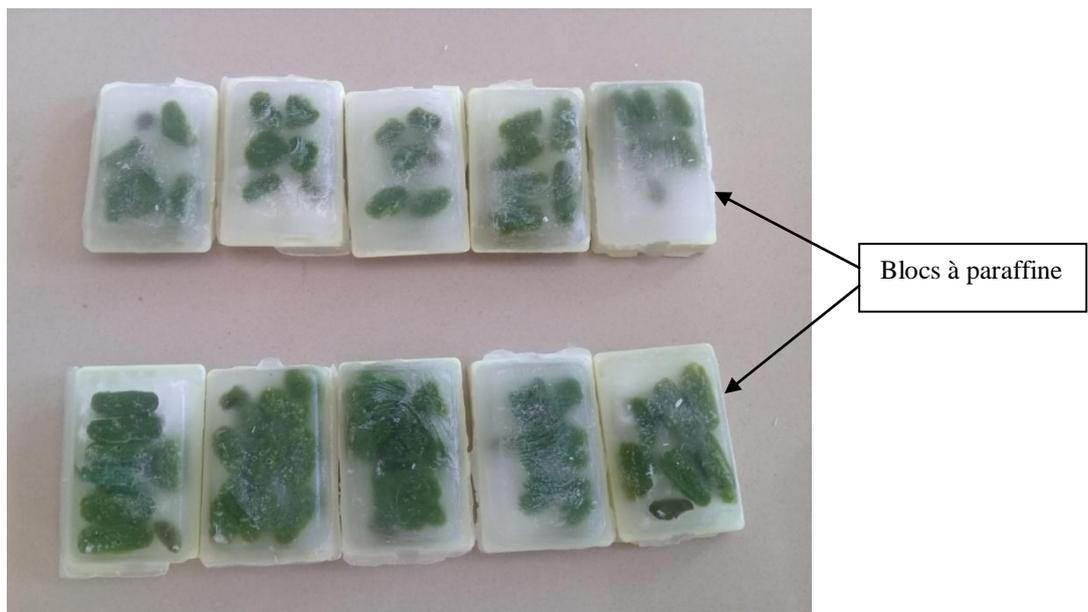


Figure 23 : Blocs réfrigéré (Originale, 2018)

4.5. Confection, collage et Etalement des coupes

Un microtome à paraffine de type Leica est utilisé au niveau du laboratoire d'Anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Il comporte un porte rasoir spécial permettant d'utiliser des lames minces jetables, et un porte cassette permettant de placer les blocs d'organes coulés sur les cassettes. Des coupes de 2 à 5 μ m d'épaisseur sont ainsi réalisées et récoltées sous forme de ruban à l'aide d'un pinceau (Figure 24).



Figure 24 : Dispositif de la coupe, microtome (Originale, 2018)

Pour réaliser le collage des coupes, on prépare des lames nettoyées à l'alcool. Les coupes sont étalées par petits rubans et pour aider l'étalement, la lame est portée sur une plaque chauffante. La lame est retirée de la plaque chauffante et débarrassée de l'excès de liquide de collage. Une fois toutes les lames sèches, elles sont récupérées sur des lames porte-objet propres puis placées dans une étuve à 57°C pendant 24heures.

4.6. Déparaffinage et hydratation

Avant de procéder à la coloration des lames nous devons les déparaffiner et les placer dans un milieu aqueux, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux.

Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe. Il est suivi d'une réhydratation. Le schéma est une séquence inverse de celle de la déshydratation et de celui de l'imprégnation par la paraffine.

La première étape constitue le déparaffinage par du toluène, deux bains 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°) (Figure 25).

4.7. Coloration topographique

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide d'une coloration topographique Trichrome de Masson (Annexes). Ce dernier a comme avantage, entre autres, la résistance au lavage, la rapidité d'exécution. Les teintes sont obtenues de manière quasi-automatique.

Les colorants utilisés permettent de reconnaître les différents tissus ; le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques. Les noyaux sont colorés en noir, en bleu ou en brun. Le cytoplasme, la kératine, les fibres musculaires et intracellulaires sont colorées en rouge. Le collagène se colore en vert et les hématies en rouge vif (Figure 25).

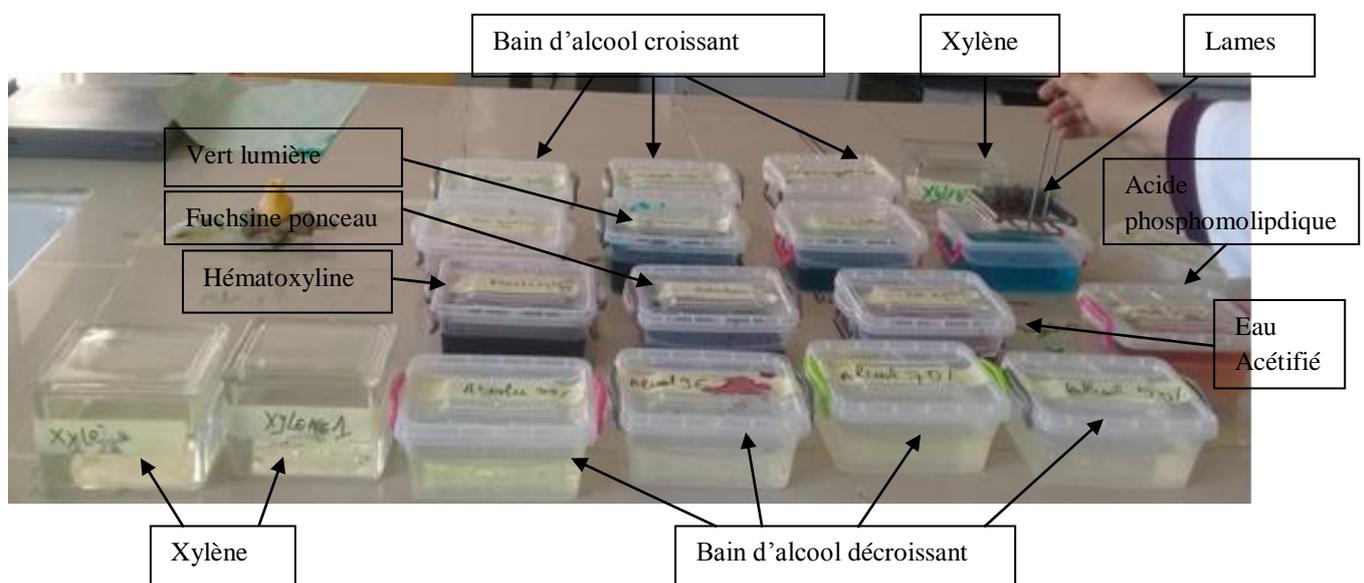


Figure 25 : Batterie de circulation pour déparaffinage, hydratation et coloration topographique (Originale, 2018).

4.8. Montage

Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une goutte de l'Eukitt, une lamelle de verre sur la lame, qui permet l'adhérence entre elles. Une légère pression sur la

lamelle permet de chasser les bulles d'air (Figure 26). Après montage, les lames sont séchées, nettoyées au toluène puis observées par un microscope optique.



Figure 26 : Montage des lames (Originale, 2018)

4.9. Observation des lames

Les lames obtenues par la technique histologique et histochimique sont observées au microscope photonique de type OPTICA équipé d'une caméra numérique, elle permet de réaliser des photographies dans le but de rechercher toutes modifications histologiques et histochimiques des structures étudiées après le traitement approprié (Figure 27). De ce fait le grossissement de l'observation change et est calculée de la manière suivante :

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

G : Grossissement ; **V_{obj}** : Grossissement de l'objectif ; **V_z** : Facteur de zoom d'optovar = 2.5.

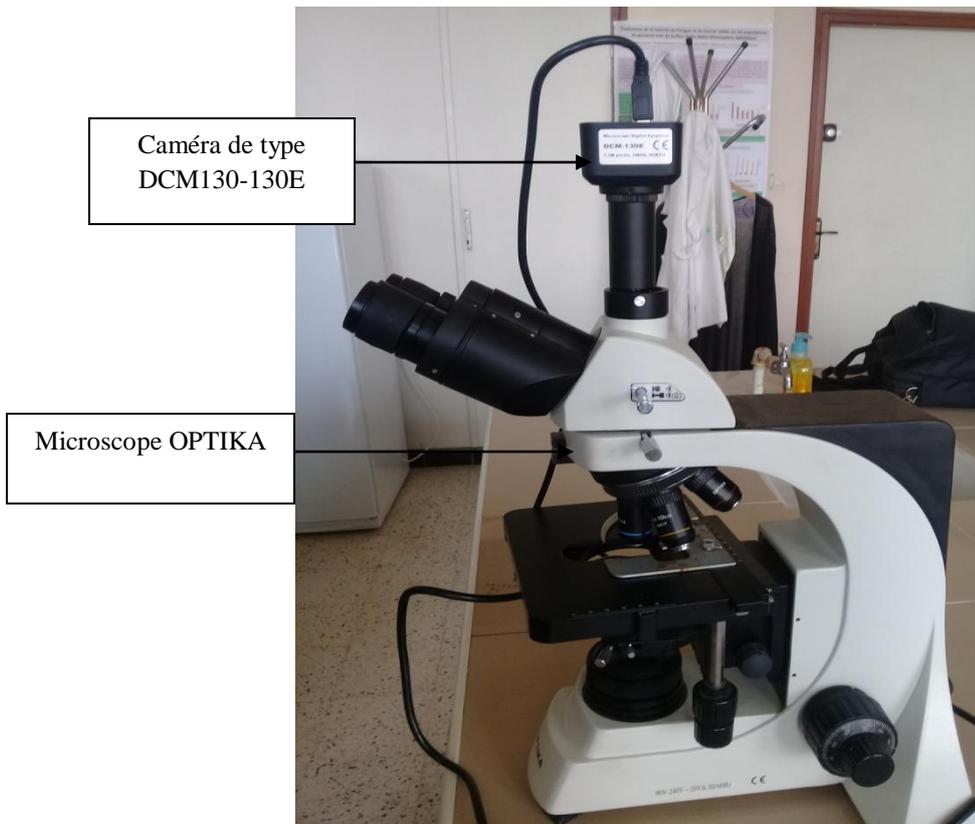


Figure 27 : Photographie du microscope photonique utilisé (Originale, 2018).

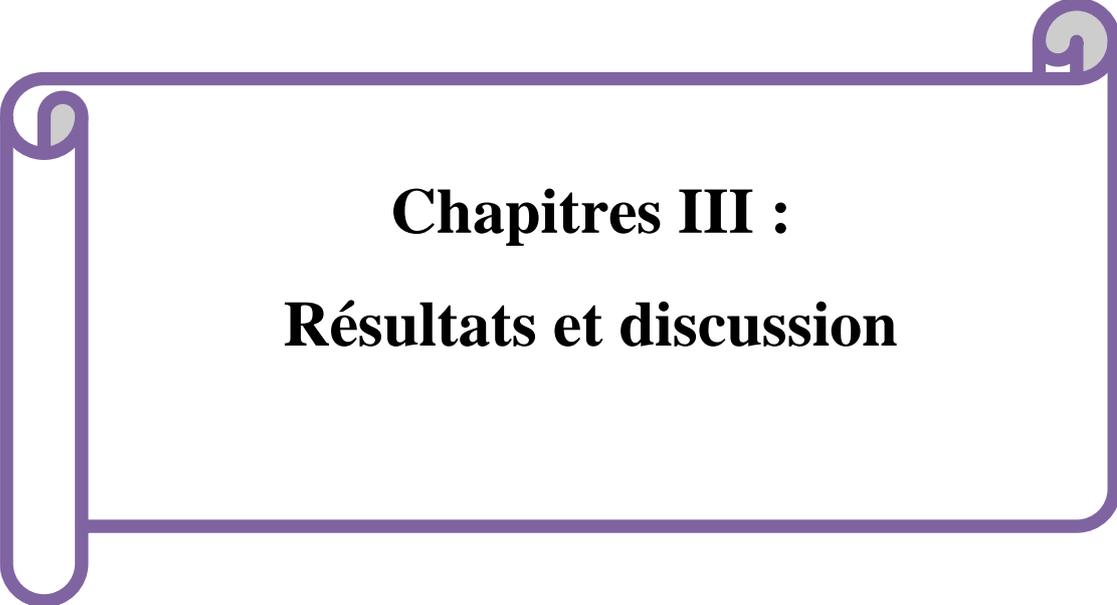
5. Etude statistique

Les variables (poids vif, poids et volumes des testicules) obtenus dans cette étude ont 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 réalisés à l'aide d'un logiciel informatique « Origin Lab » 2007 et la valeur des probabilités « p » :

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



Chapitres III :
Résultats et discussion

L'objectif de notre travail porte sur les effets de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » sur la structure des testicules des lapins mâle prépubères (3 mois) et pubères (5mois) de la souche améliorée (SA).

Notre expérimentation est basée sur deux parties distinctes : en premier lieu, une étude macroscopique dont nous avons mesuré différentes variables comme le poids vif et relatif des animaux, le poids et le volume des testicules et une étude microscopique (histologique) des structures testiculaires des lapins âgés de 3 et 5 mois.

1. Résultats de l'étude macroscopique

1.1. Evolution des poids vif

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérimentation avant (J0) et après l'administration de l'huile essentielle (J7) et ont permis de suivre l'évolution pondérale des lapins à deux âges différents.

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

1.1.1. Lapins prépubères (3 mois)

Le graphe (Figure 28) présente l'évolution du poids corporel des lapins de 3 mois avant (J0) et après (J7) l'administration de l'huile essentielle « Menthe poivrée » à deux doses différentes D1 et D2.

Les résultats montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle (J7). En effet les valeurs moyennes de poids corporel passe de $2,5 \pm 0,187$ Kg de lots témoin à $2,583 \pm 0,260$ Kg de lot dose1 (D1) jusqu'à $2,966 \pm 0,2857$ Kg de lots dose2 (D2), tandis que avant le traitement (J0) les valeurs moyenne du poids corporels des 3 lots est presque la même et est de $2,333 \pm 0,163$ kg pour les témoins, de $2,25 \pm 0,247$ kg pour les expérimentaux de D1, et enfin $2,3 \pm 0,254$ kg pour les expérimentaux de D2.

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traité par l'huile essentielle « Menthe poivrée » (J7) sont élevé en fonction de la dosé administré que celles avant le traitement (J0)

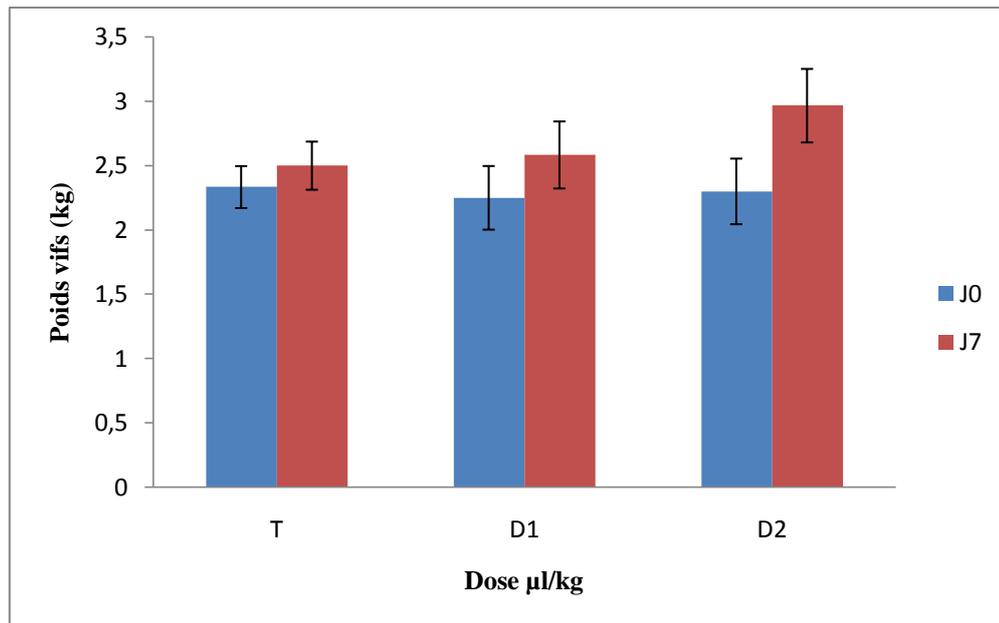


Figure 28: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins de 3 mois d'âge

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement

1.1.2. Lapins pubères (5 mois)

Les résultats montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle (J7). En effet les valeurs moyennes de poids corporel passe de $2,290 \pm 0,268$ Kg à $2,375 \pm 0,222$ kg de lots témoin, de $2,3860 \pm 0,072$ Kg à $3,033 \pm 0,320$ kg de lot dose1(D1) et enfin de $2,766 \pm 0,040$ Kg jusqu'à $3,275 \pm 0,063$ kg de lots dose2 (D2).

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traité par l'huile essentielle « Menthe poivrée » (J7) sont élevé en fonction de la dosé administré que celles avant le traitement (J0) (Figure 29).

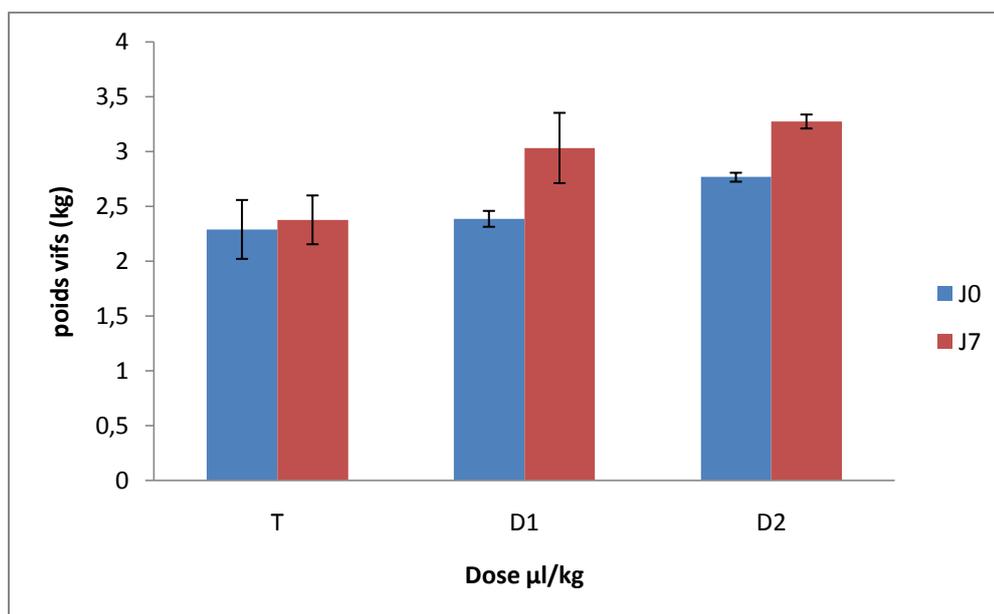


Figure 29: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins de 5 mois d'âge

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement

1.2. Evolution du poids gonadique

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

1.2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins de 3 mois

Les valeurs moyennes des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose administrée, en effet les testicules des lapins témoins (T) présente un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux (D1) et (D2) et qui passe de 1.62 ± 0.267 (TG) vs 1.53 ± 0.294 g (TD) pour les témoins (T) à 1.733 ± 0.348 g (TG) vs 1.726 ± 0.389 g (TD) pour les expérimentaux de dose 1 (D1) jusqu'à 2.233 ± 0.177 g (TG) vs 2 ± 0.141 g (TD) pour les expérimentaux de dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauche sont plus élevées que celle de testicule droit (Figure 30).

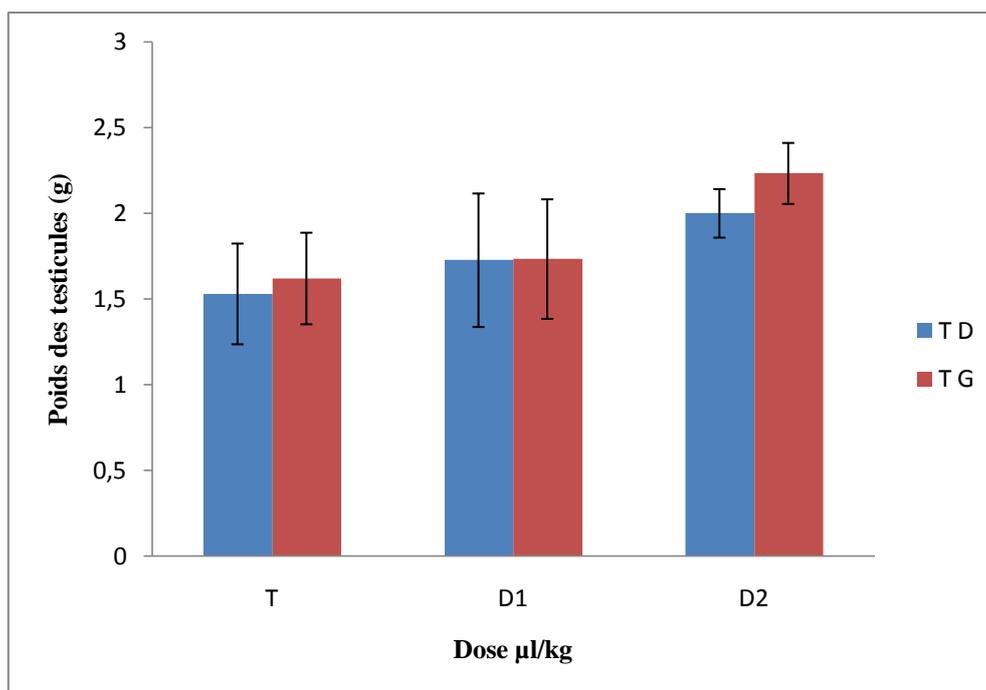


Figure 30: Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 3 mois.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; TG : testicule gauche ; TD : testicule droit

1.2.2. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins de 5 mois

Les valeurs moyennes des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée, en effet les testicules des lapins témoins (T) présentent un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux (D1) et (D2) et qui passe de 1.685 ± 0.261 g vs $1.555 \pm 0.0.148$ g pour le lot témoin (T) jusqu'à 2.466 ± 0.286 g vs 2.173 ± 0.251 de lot de deuxième dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauche sont plus élevées que celle de testicule droit (Figure 31).

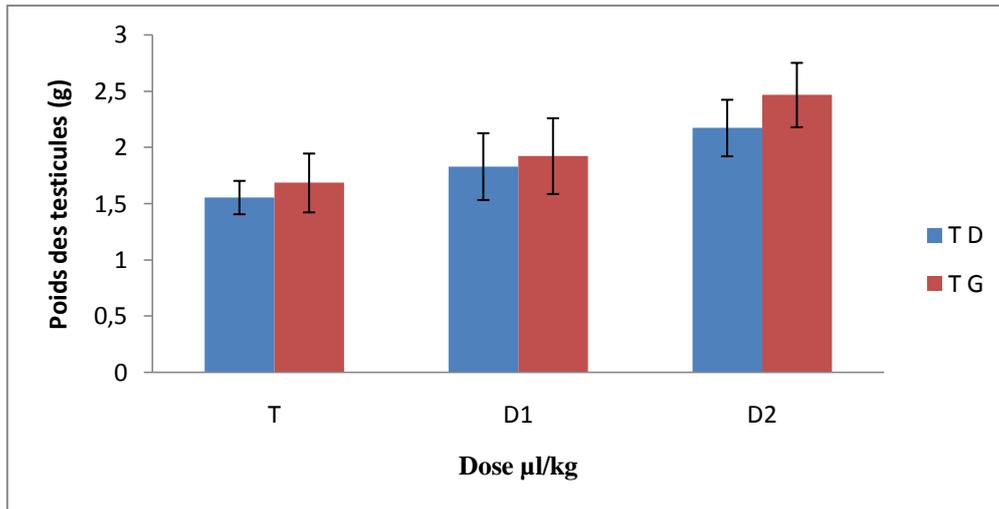


Figure 31: Représentation graphique de l'évolution du poids moyen des TG et TD des lapins de 5 mois

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; TG : testicule gauche ; TD : testicule droit

1.3. Evolution du poids totale des gonades

1.3.1. Poids totale des testicules des lapins prépubères (3 mois)

Les valeurs moyennes du poids total des testicules (PTT) présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de $3,15 \pm 0,558$ g au lot témoin à $3,46 \pm 0,733$ g au lot dose 1 jusqu'à $4,233 \pm 0,318$ g du lot de deuxième dose (Figure 32).

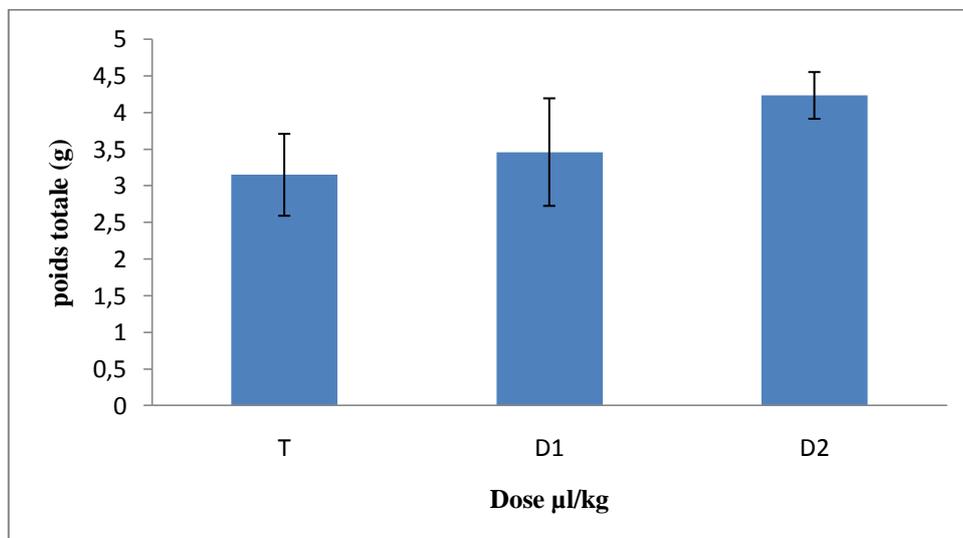


Figure 32: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 3 mois.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2

1.3.2. Poids total des testicules des lapins pubères (5 mois)

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de $3,24 \pm 0,961$ g au lot témoin (T) à $3,753 \pm 0,633$ g au lot dose 1(D1) jusqu'à $4,64 \pm 0,511$ g du lot de deuxième dose(D2) (Figure 33).

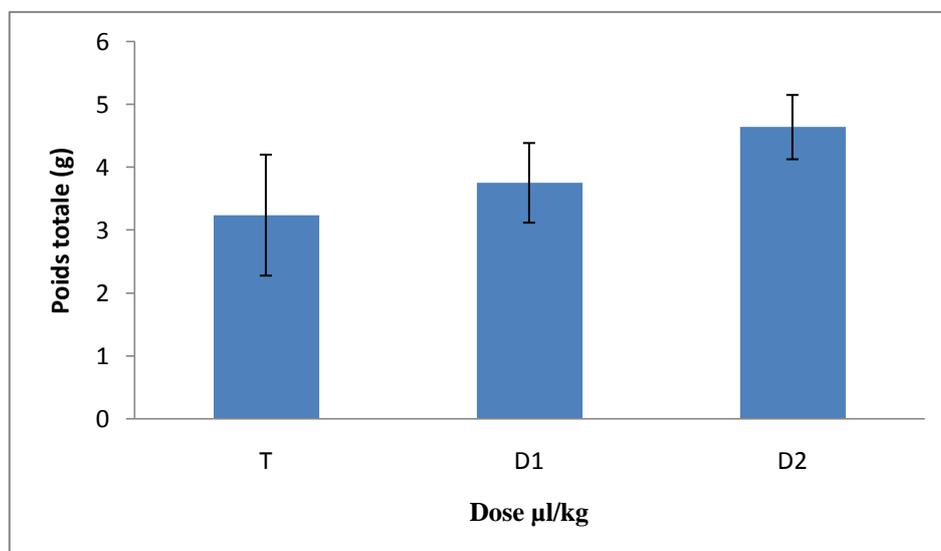


Figure 33: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 5 mois.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2

1.4. Evolution pondérale relatif des testicules à 100g de poids corporelle

Poids relatif (PR) des testicules en gramme (g) est calculé à partir du poids total des testicules et le poids vif au sacrifice (J7) et est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

1.4.1. Lapins prépubères (3 mois)

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée. En effet les valeurs passent de $0,13 \pm 0,0308$ g au lot témoin à $0,14 \pm 0,0308$ g (D1) au lot de la première dose puis atteint $0,15 \pm 0$ g au lot de deuxième dose (D2) (Figure 34).

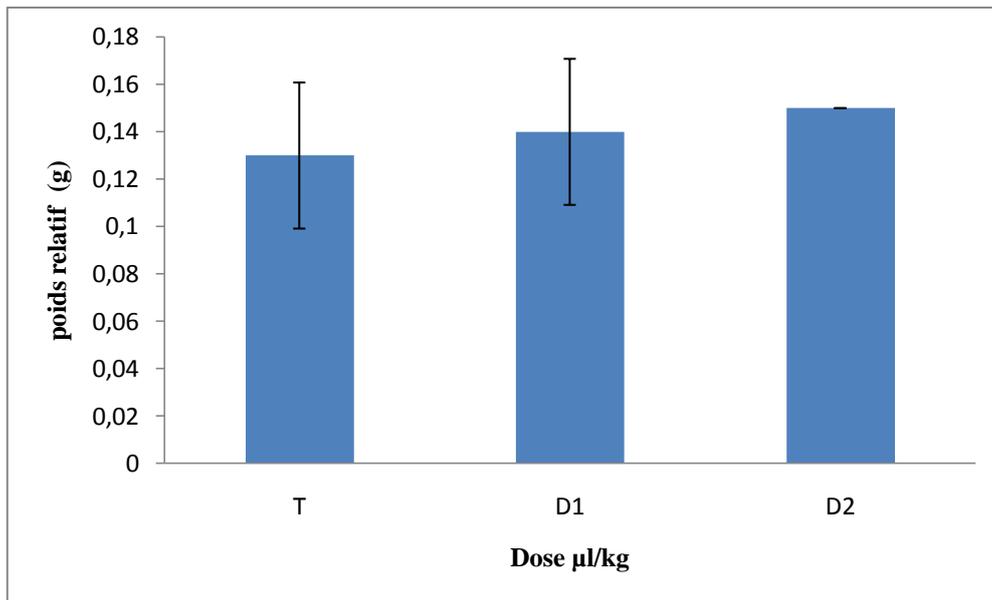


Figure 34: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2

1.4.2. Lapins pubères (5 mois)

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée .En effet les valeurs passent de $0.135 \pm 0.007g$ au lot témoin (T) à $0.14 \pm 0.025 g$ au lot de la première dose (D1) puis atteignent $0.146 \pm 0.0016 g$ au lot de deuxième dose (D2) (Figure 35).

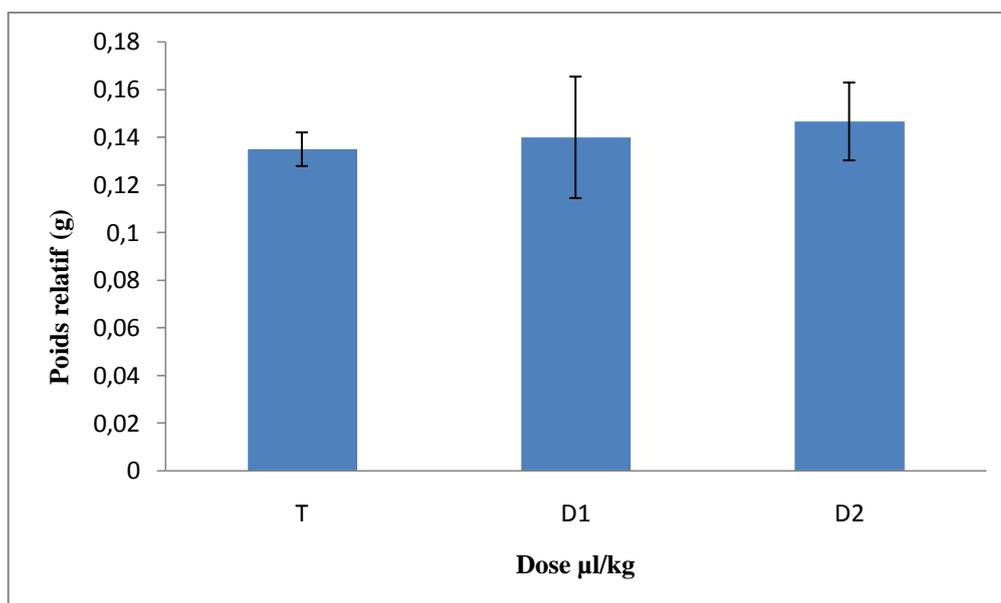


Figure 35: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 5 mois d'âges.

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** :Dose2

1.5. Evolution du volume testiculaires

Volume totale des testicules (VTT) en millilitre (ml) est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

1.5.1. Lapins prépubères (3 mois)

La valeur moyenne du volume total des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée. En effet les valeurs passent de $3.06 \pm 0,980$ ml au lot témoin à $3.2 \pm 0,424$ ml au lot de la première dose (D1) puis atteignent 3.633 ± 0.788 ml au lot de deuxième dose (D2) (Figure 36).

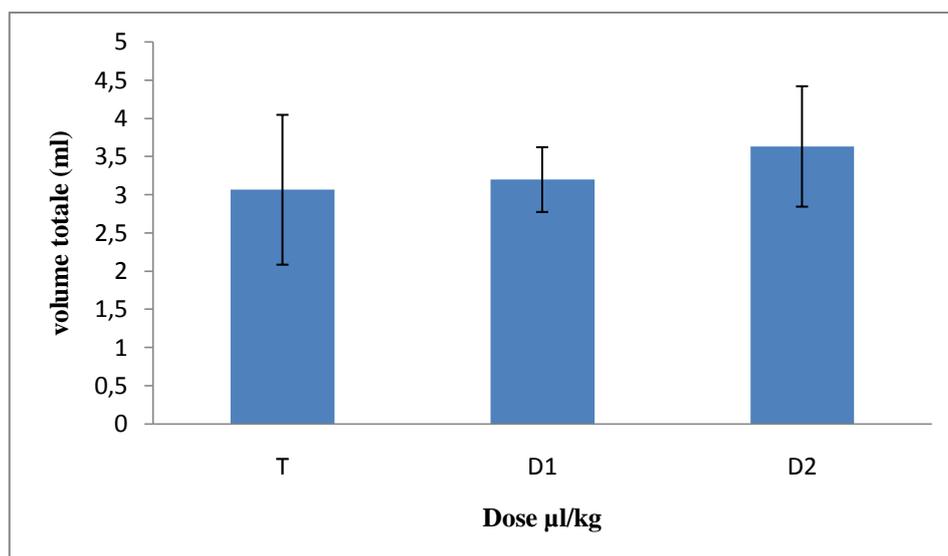


Figure 36: Représentation graphique de volume des testicules des lapins de 3 mois d'âges.

T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose2

1.5.2. Lapins pubères (5 mois)

La valeur moyenne de volume totale des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée. En effet les valeurs passent de $3,425 \pm 0,636$ ml au lot témoin à $3,696 \pm 0,577$ ml au lot de la première dose (D1) puis atteint $4,1333 \pm 0,588$ ml au lot de deuxième dose (D2) (Figure 37).

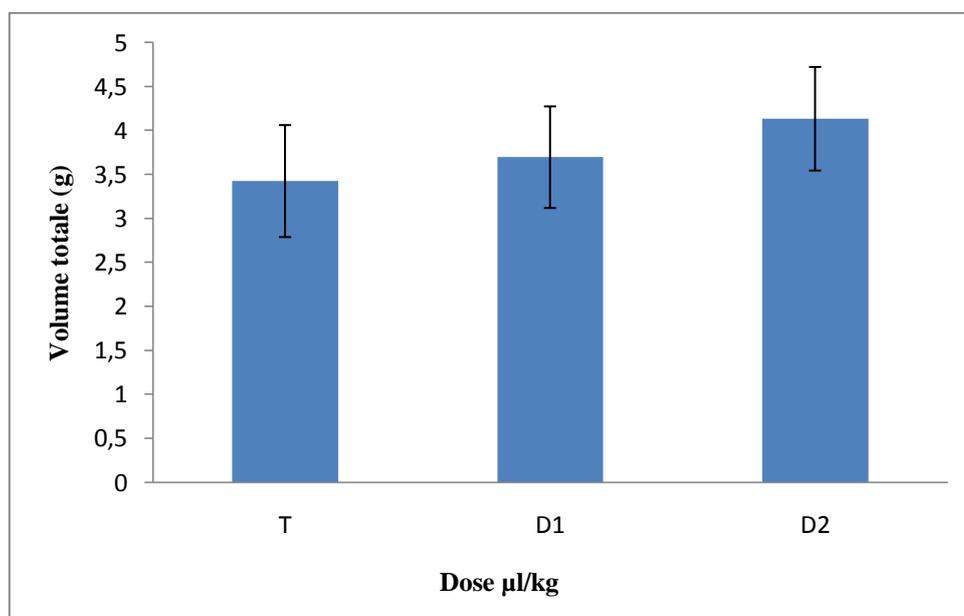


Figure 37: Représentation graphique de volume des testicules des lapins de 5 mois d'âges

T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose2

1.6. Vascularisation des testicules

Au cours de notre expérimentation, nous avons constaté une hyper vascularisation des testicules des lapins traités avec la « Menthe Poivrée » par rapport aux lapins non traités (témoins) (Figure 38).

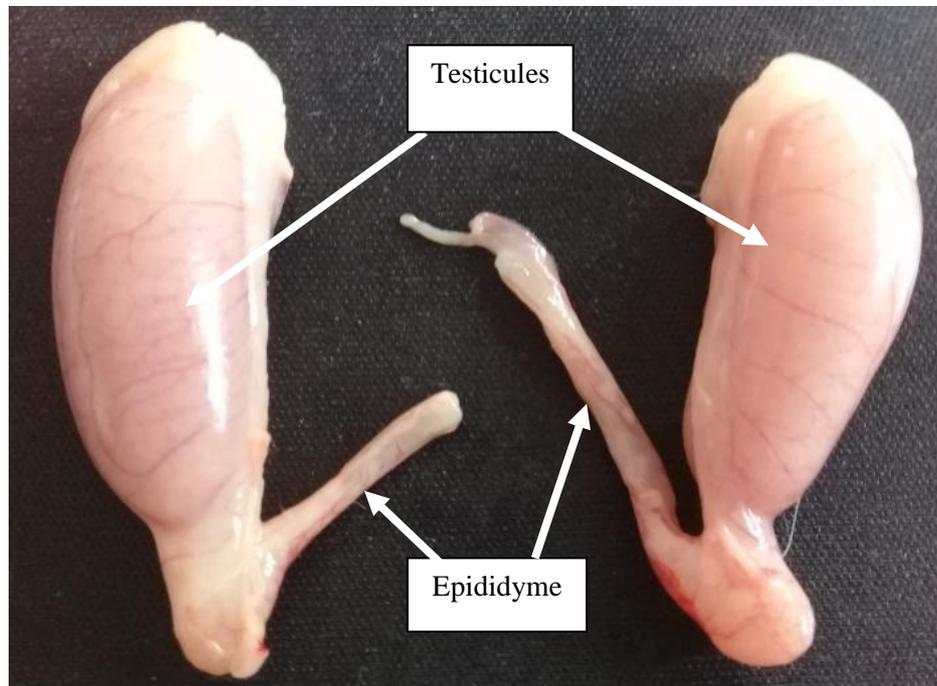


Figure 38 : Vascularisation des testicules des lapins âgés de 5 mois (Originale, 2018).

2. Résultats de l'étude histologique des testicules

À la naissance, l'animal dispose d'un stock de cellules souches peu élaborées appelées spermatogonies. Le cycle spermatogénique représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires aboutissant à la formation des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

Au cours de notre travail, nous avons réalisé une étude histologique du testicule des lapins étudiées. Nous avons également effectué une étude comparative du développement de ces structures histologiques en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée ».

L'observation microscopique a été enregistrée, pour tous nos échantillons, au fort grossissement (x400) pour une observation plus détaillée des structures cellulaires.

2.1. Lapins prépubers âgés de 3 mois

2.1.1. Lapins témoins

La coupe transversale du testicule des lapins témoins, âgés de 3 mois, montre, au faible grossissement, une structure histologique formée de tubes séminifères dépourvus de lumière et qui présentent des formes et diamètre variable en fonction du niveau de la section et avec un espace interstitiel étroit. Ces tubes sont entourés par un tissu conjonctif intertubulaire vascularisé, riche en cellules périlitubulaires à noyaux aplatis et de cellules de Leydig à noyaux arrondis.

L'observation au fort grossissement révèle la présence de cellules de Sertoli à noyau triangulaire, de spermatogonies à noyaux ronds et condensés à la base de l'épithélium et des spermatocytes de premier ordre à noyaux volumineux et à chromatine décondensée très colorée sous forme d'amas grossiers occupant une très grande partie de l'épithélium séminifère. Des spermatides rondes à noyau dense ont également observés, sont aussi nombreuses signe que les événements méiotiques, pour ces cellules ont fini de se dérouler (Planche I A).

2.1.2. Lapins traités (expérimentale)

Les lapins traités par la Menthe poivrée à la dose 1 présentent les mêmes structures histologiques que les lapins témoins avec apparitions d'une nouvelle cellule de la lignée germinale sont les spermatides allongés qui possèdent un noyau petit, allongé, effilé et très dense. La présence de ces cellules est une preuve du déroulement de l'étape de différenciation spermatique ou spermiogenèse (Planche I B).

Les tubes séminifères des lapins traités par la Menthe poivrée à la dose 2 sont plus riches en spermatides à noyaux allongés ou spermatides allongées et apparition de quelques spermatozoïdes dans la lumière (Planche I C). Le tube séminifère, dans ce cas est très actif.

Planche I

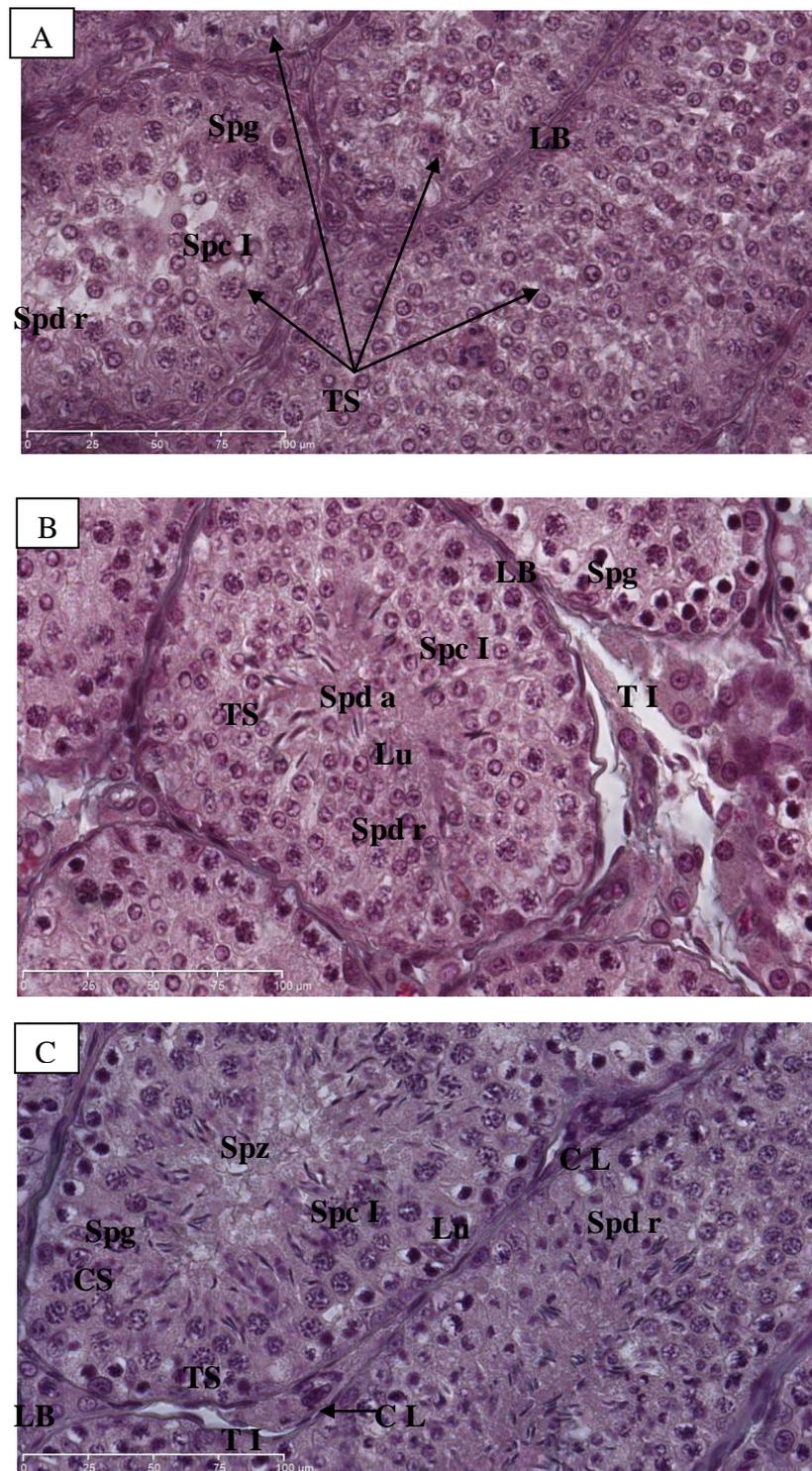


Planche I : Photographie des testicules des lapins de 3 mois d'âge de la population améliorée observé au Microscope photonique (coloration Trichrome de Masson).

TI : tissu interstitiel, TS : tube séminifère, Spg : spermatogonie, Spc I : spermatocytes I, Spd r : spermatozoïdes ronds, Spd a : spermatozoïdes allongés, Spz : spermatozoïdes, CL : cellule Leydig, CS : cellule Sertoli, Lu : lumière, LB : lame basale. A : lot témoins, B : lot expérimentale de la dose 1, C : lot expérimentale de la dose 2.

2.2. Lapins pubères (5 mois)

L'étude des coupes histologiques, montre la présence de tubes séminifères étroitement serrés les uns contre les autres, du fait de leur importante section.

2.2.1. Lapins témoins

L'analyse des coupes au fort grossissement révèle un épithélium épais contenant, des cellules de Sertoli à noyau ovalaire ou triangulaire et toute la mosaïque cellulaire de la spermatogenèse du stade spermatogonie au stade spermatozoïde avec des spermatogonies de petite taille à noyau clair, des spermatocytes I de plus grande taille à noyau volumineux, les spermatides ronds plus petits à noyau dense et allongé et les premiers spermatozoïdes apparaissent dans certains tubes séminifères (Planche II A).

2.2.2. Lapins traités (expérimentale)

La structure des testicules des lapins D1 traités par la Menthe poivrée à la dose 100µl/kg ainsi que les lapins D2 traités par la dose 200µl/kg présentent un épithélium épais contenant toute la mosaïque cellulaire de la spermatogenèse du stade spermatogonie au stade spermatozoïde (Planche II B). Néanmoins les lumières sont plus riches en spermatozoïdes chez les lapins D2 traités par la dose 2 (Planche II C).

Tandis que chez les lapins traités par la dose 2 Une réduction du volume du tissu interstitiel au profit des tubes séminifère est également observée.

Planche II

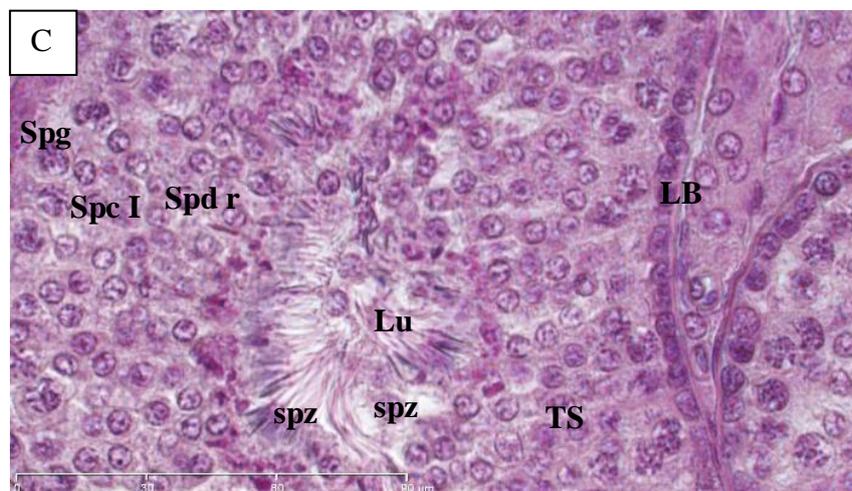
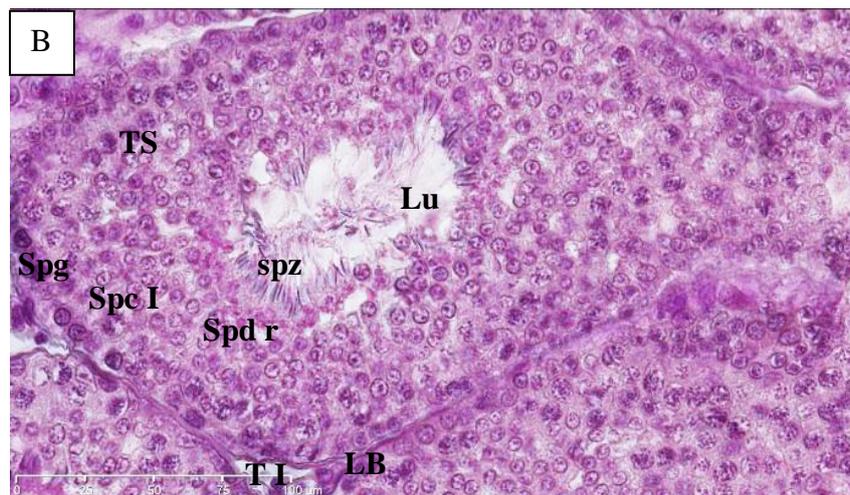
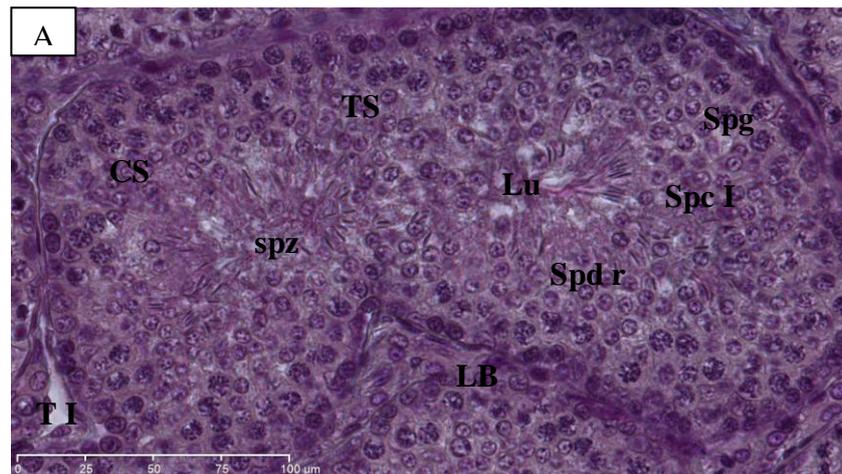


Planche I : Photographie des testicules des lapins de 3 mois d'âge de la population améliorée observé au Microscope photonique (coloration Trichrome de Masson).

TI : tissu interstitiel, TS : tube séminifère, Spg : spermatogonie, Spc I : spermatocytes I, Spd r : spermatides ronds, Spz : spermatozoïdes, CL : cellule Leydig, CS : cellule de Sertoli, Lu : lumière, LB : lame basale, A : lot témoins. B : lot expérimentale de la dose 1. C : lot expérimentale de la dose 2.

3. Discussion des résultats

La présente étude sur l'effet de la menthe poivrée sur les paramètres macroscopiques (poids vif, poids et volume testiculaire) ainsi que sur les changements des structures histologiques des lapins âgés de 3 et 5 mois révèle que le poids corporel, le poids et volume testiculaire chez les lapins âgés de 3 et 5 mois sont élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 100 µl/kg de pc puis chez ceux traités par la dose 200 µl/kg de pc par rapport aux témoins.

Ainsi Sur le plan histologique la Menthe Poivrée induit l'apparition de spermatides allongées chez les lapins âgés de 3 mois par la dose 100 µl/kg tandis que chez les lapins traités par la dose 200 µl/kg quelques spermatozoïdes apparaissent dans la lumière de tubule. Une richesse de la lumière des tubes séminifères en spermatozoïdes est observée chez les lapins âgés de 5 mois traités aux doses de 100 et 200 µl/kg de poids corporel par rapport aux témoins, qui sont plus fréquent chez ceux traités par la dose 200 µl/kg.

Selon Micol et *al.* (1993), la croissance pondérale d'un animale résulte du développement en poids de chaque éléments constitutif de son corps.

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Haeri *et al.* (2006) qui ont montré que l'administration de l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*) (SKEO) à des rats mâles par voie orale à des doses de 75, 150 et 225 mg/kg/ jour pendant 45 jours a provoqué une augmentation significative du poids du testicule, de l'épididyme et des vésicules séminales qui sont dues à l'augmentation du nombre de spermatogonies, de spermatides, de cellules de Leydig et de spermatozoïdes et un taux plus élevé de spermatogenèse, confirmé par leur résultats d'histopathologie. Par conséquent, le poids des organes sexuels élargi est le résultat de l'augmentation des taux sériques de FSH et de testostérone par SKEO.

De plus une étude de l'action de l'extrait aqueux de la nigelle, administré par voie orale à 300 mg/kg pendant 60 jours, sur la fertilité du rat mâle, montre une augmentation significative du poids des organes reproducteurs par rapport aux témoins, ainsi qu'une stimulation des paramètres de reproduction tels que la motilité et le nombre de spermatozoïdes dans les canaux testiculaires et épидидymères, une augmentation significative de l'activité de la spermatogenèse a été observée dans les tubules séminifères des rats traités au niveau des spermatides, spermatocytes primaires et secondaires, les épидидymes présentent un nombre élevé de spermatozoïdes et la lumière est différencié et plein des spermatozoïdes.

Une hausse du taux d'hormones responsables de la spermatogénèse, la LH, la FSH et la testostérone, pourrait expliquer ces observations. De plus, une mise en contact de ces rats traités avec des femelles a provoqué une augmentation du nombre de femelles gestantes, par rapport aux rats non traités. Ceci s'expliquerait par l'augmentation de la motilité et de la densité du sperme des rats traités (Mukhallad *et al.*, 2009).

Al-Saaidi *et al.* (2009), ont étudié l'effet de l'extrait alcoolique de graine de *N. sativa* à 0,5 et 1,5 g/kg pendant 53 jours sur la fertilité des rats mâles. Une stimulation hormonale de la spermatogénèse a été observée par les différents taux d'hormones responsables de la spermatogénèse (LH, FSH et testostérone) et une augmentation significative de l'activité de la spermatogénèse a été également observée. Plus tard, en 2010, les mêmes paramètres ont été étudiés chez le lapin. Chaque repas était constitué de moitié par des graines de nigelle et ont été arrivés aux mêmes conclusions.

Des rats Wistar adultes ont été traités avec 1 ml d'extrait de *Mikania glomerata* à une dose de 3,3 g/kg de poids corporel pendant 52 jours. Le poids du corps et des organes, la production de sperme, le taux de testostérone circulant et la consommation alimentaire ont été évalués. Les résultats ont montré que l'administration de l'extrait de *M. glomerata* pendant le cycle spermatogène du rat n'altérait pas de façon significative les poids corporels et organiques et n'interférait pas aussi la production de gamètes, le taux sérique de testostérone ou l'ingestion alimentaire (Da silveira *et al.*, 2003).

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

Selon Sathiyaraj *et al.* (2011) l'extrait aqueux de feuilles *Andrographis paniculata* administré à des rats albinos à la dose de 100 et 200 mg / kg pc pendant 45 jours. provoque une diminution significative du poids des organes reproducteurs, une réduction dose-dépendante du nombre de spermatozoïdes testiculaires, du nombre de spermatozoïdes épидидymaires Avec une motilité et une numération anormale des spermatozoïdes. Cette étude a révélé que cet extrait a un puissant agent spermicide et anti-fécondité.

Les effets de différentes doses d'extraits de méthanol de feuilles, d'écorce, de tige et de racine de la plante *Ximenia americana* sur le système reproducteur masculin ont été étudiés chez des rats mâles. Les résultats obtenus ont montré que ces extraits ont induit une diminution de poids du testicule et du nombre de spermatozoïdes et une augmentation des anomalies morphologiques du spermatozoïde (Adeiza *et al.*, 2011).

Selon The Jashwini *et al.* (2012), une réduction significative du nombre de spermatozoïdes, du poids des organes reproducteurs et du niveau de testostérone sérique, ainsi que l'histologie a montré une réduction du diamètre des tubules séminifères et du diamètre des cellules de Leydig a été observées chez des souris Swiss albinos traités par l'extrait éthanolique de gousses de *Cyamopsis psoralioides* (gomme guar) qui a été administré à des doses de 200 et 400 mg/kg de poids corporel pendant 40 jours. Ainsi, l'étude a conclu que cet extrait a un pouvoir agent d'antifertilité.

De même une réduction significative du poids des organes reproducteurs et le nombre de spermatozoïdes chez les rats traités par l'extrait méthanolique de la plante entière d'*Elytraria acaulis* a été donné à un albinos mâle rats à la dose de 200 et 300 mg/kg pc pendant 21 jours. Le résultat Histologique des testicules de ces rats traités présente une perte de l'interstitium ainsi que sur le plan des cellules germinales, il ont résulte que l'extrait méthanolique d'*Elytraria acaulis* est un agent anti-fécondité potentiel (Reddy *et al.*, 2014).

L'extrait aqueux de la graine de *Madhuca latifolia* a été donné à des rats albinos mâles à la dose de 2 g/kg pc pendant 21 jours. Le résultat a montré une réduction significative du poids des testicules, épидидyme, vésicule séminale et nombre de spermatozoïdes et le taux de testostérone. L'étude a révélé que *Madhuca latifolia* est un puissant agent antispermatogène (Gopalkrishnan et Shimpi., 2011).

D'autre part, l'extrait aqueux de feuilles de *Psidium guajava* donné à des rats albinos mâles au dose de 250 et 500 mg/kg pc induit une réduction significative du poids des organes reproducteurs, des taux de testostérone, de cholestérol total, de triglycérides dans le sérum. Ces résultats ont confirmé que l'extrait aqueux de *Psidium guajava* a une activité contraceptive (Choudhury et Sinha., 2014).

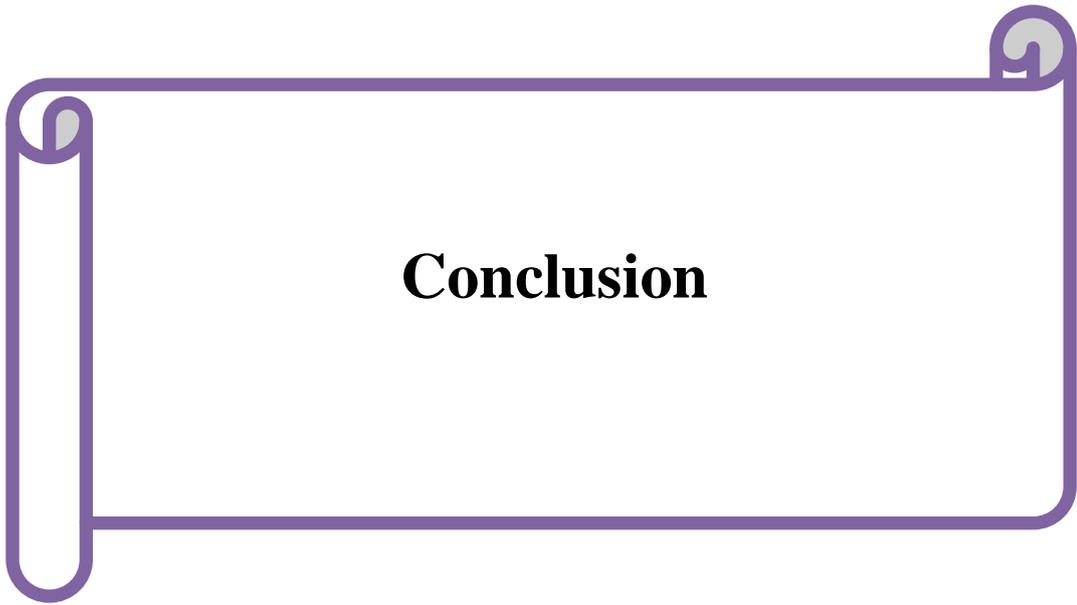
L'extrait éthanolique de *Calendula officinalis* administré à des rats albinos mâles au dose de 150, 250 et 500 mg/rat/ jour pendant 60 jours, provoque une réduction significative du niveau de glycogène, protéine, acide sialique, fructose et testostérone. La motilité des

spermatozoïdes et le poids des organes reproducteurs ont diminué. Ainsi, l'étude a conclu que l'extrait de l'éthanol de *Calendula officinalis* altère la fertilité des rats (Agarwal *et al.*, 2011).

Les résultats obtenus après administration de l'extrait d'écorce méthanolique d'*Aegle marmelos* a été donné à des rats mâles albinos au dose de 200, 400 et 600 mg/kg pc pendant 60 jours montrent une réduction significative de poids des organes reproducteurs, des taux de la testostérone et du cholestérol, la concentrations, la motilité et la viabilité des spermatozoïdes, l'intégrité acrosomique ont également diminué chez ces rats traités. L'étude a révélé que le méthanol de l'extrait d'écorce d'*Aegle marmelos* a une activité anti-fécondante puissante (Agrawal *et al.*, 2012).

L'administration de l'extrait aqueux de gousses sèches d'*Acacia nilotica* a été donné à des rats Wistar mâles au dose de 200 mg/kg pc provoque une réduction significative de la motilité et de la concentration de spermatozoïdes et les taux de testostérone. L'étude Histopathologique des organes reproducteurs a montré qu'une dose d'*Acacia nilotica* perturbait l'architecture des tubules et du processus de spermatogenèse. Ces études indiquent que l'extrait aqueux de gousses sèches d'*Acacia nilotica* a une activité anti-fécondante (Lampiao., 2013).

L'extrait de l'éthanol de la plante entière de *Polygala rosmarinifolia* donné des rats albinos mâle à la dose de 100 et 200 mg/kg pc pendant 14 jours induit une réduction significative du poids des testicules et d'épididyme, du nombre de spermatozoïdes épидидymaires et de la motilité avec diminution des anomalies des spermatozoïdes. Le dosage hormonal des rats traités a montré une augmentation des taux sériques de FSH et d'œstrogène, mais diminué dans les niveaux sériques de LH et de testostérone. Par conséquent, il a conclu que, l'extrait d'éthanol de La plante de *Polygala rosmarinifolia* a inhibé la concentration de spermatozoïdes, la motilité et la testostérone entraînant une augmentation de la fertilité masculine (Alagammal *et al.*, 2013).



Conclusion

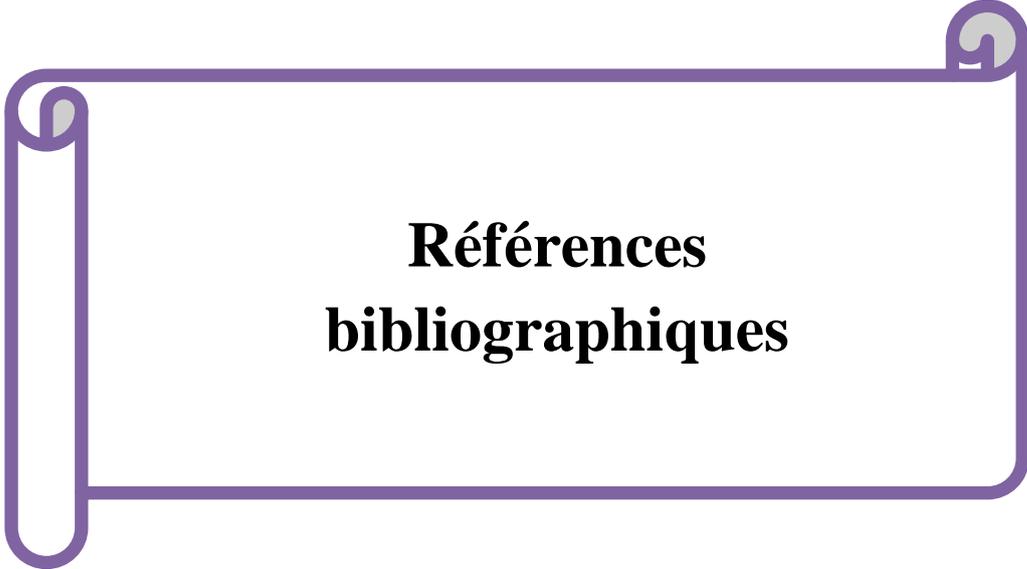
Conclusion

Au terme de notre étude sur les effets de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » à de dose différentes (100 et 200 $\mu\text{l}/\text{kg}$ de poids corporel) sur la structure des testicules des lapins prépubères et pubères de la souche synthétique, ils ont ressort que le poids corporel, le poids et le volume testiculaires chez les lapins âgés de 3 et 5 mois sont élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 100 $\mu\text{l}/\text{kg}$ puis chez ceux traités par la dose 200 $\mu\text{l}/\text{kg}$ par rapport aux témoins.

Sur le plan histologique la Menthe Poivrée induit l'apparition de spermatides allongées chez les lapins âgés de 3 mois par la dose 100 $\mu\text{l}/\text{kg}$ tandis que chez les lapins traités par la dose 200 $\mu\text{l}/\text{kg}$ quelques spermatozoïdes apparaissent dans la lumière de tubule et une richesse de la lumière des tubes séminifères en spermatozoïdes chez les lapins âgés de 5 mois traités aux doses de 100 et 200 $\mu\text{l}/\text{kg}$ de poids corporel par rapport aux témoins, qui sont plus fréquent chez ceux traités par la dose 200 $\mu\text{l}/\text{kg}$.

De ce fait il semblerait que la Menthe Poivrée aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins âgés de 3 et 5 mois qui pourraient être utiles dans le développement des agents stimulateurs et favorisant pour la reproduction masculine.

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt de réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand et Renforcer cette étude par une étude histomorphométrique pour étudier les effets de la menthe poivrée sur le diamètre, volume des tubes séminifères, analyser la semence pour identifier les effets de cette huile sur la fertilité et enfin étudier les variations hormonales (testostérone, FSH et LH) ainsi que le dosage des paramètres biochimiques pour appuyer les résultats obtenus..



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

Abadlia M. et Chebbour A. H. (2014). *Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires.* Université Constantine 1. pp 90.

Adeiza A., Abubakar. et Minka N S., (2011). Effects of methanol extract of *Ximenia americana* on sexual behaviour, testicular weight, sperm count and sperm morphology of wister rats. *Annals of Biological Research*, 2, 107-113.

Agarwal, M., Sharma, P. et Kushwaha, S. (2011). Efficacité anti-fécondante de 50% d'extrait éthanolique de *Calendula officinalis* chez les rats mâles. *International Journal of Pharmacie et Sciences pharmaceutiques*. 3 (5): 192-196.

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.

Alagammal, M., Sakthidevi, G. et Mohan, VR (2013). Activité anti-fertilité des extraits de plantes entières de *Polygala rosmarinifolia* wight & arn contre les rats albinos mâles. *Journal of Advanced Pharmaceutical Sciences.*, 3 (1): 385-393.

AL-SAAIDI, J., AL-KHUZAI, A., et AL-ZOBAYDI, N. (2009). Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats. *Iraqi J Vet Sci*, 23 (2), 123-128.

Alvarino M.R., (1993). Control de la reproduction en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa, 137p.

Alvariño J.M.R. (2000). Reproductive performance of male rabbits. *In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., 2000, vol. A*, 13-35.

Bannano A et Costanzo D. (1987). The effect of physiological and climatic factors on the main reproductive traits of artificially inseminated rabbits. *Coniglicoltura*, 24(3à), 33-39.

Barone R. (2001). Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition vigot Frères. P 241-516.

Berchiche M et Zerrouki N, (2000). Reproduction des femelles de population locale: essai d'évaluation de quelques parameters en élevage rationnelle 3ème JRPA (conduit et performances d'élevage) 13, 14 nov 2000.

Références bibliographiques

Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckheim 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.

Bonnafous C. (2013). *Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie & aromachologie édition* Dangles.

Boussit D. (1989). Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez. Edition Association française de cuniculture, France ; Diffusion *Lavoisier* TEC & DOC : pp 17-34.

Chocu S, (2014). Découverte de nouvelles protéines impliquées dans la spermatogenèse chez le rat. *Biologie de la reproduction.* Université Renne 1, France.

Choudhury, S. et Sinha, député (2014). Effets de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* sur la testostérone et les lipides sériques profil des rats albinos. *Journal du Moyen-Orient de la recherche scientifique.* 21 (10): 1893-1897.

Clark BJ, Wells J, King SR, Stocco DM. (1996). The purification, cloning and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (STAR). *The journal of biological chemistry* 269 (45) : 28314-28322.

Clermont Y. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals : seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*, 1972 ; 52 : 198-235.

Couic-Marinier F. et Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques.*

Curtis S.K. et Amann R.P., (1981). Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 53 : 1645-1657.

Dadoune JP. (2000). Histologie du testicule Flammarion, N°520.P 229-241.

Dadoune JP. et Demoulin P. (2001). Structure et fonction du testicule chez les mammifères chez l'homme. Edition INRA, Paris. P 256-289.

Références bibliographiques

Dadoune JP. Hadjiisky P. Siffroi JP et Vendrely E. (1990). Histologie. Edition Médecine-science Flammarion, Paris : pp 333-348.

Da Silveira, R., Magda, N L., Maycon, M R., Reinaldo N. (2003). Evaluation of long term exposure to *Mikania glomerata*(Sprengel) extract on male Wistar rats' reproductive organs, sperm production and testosterone level. ELSEVIER. Volume 67. Pp 327-331.

Dym, M. et Fawchet, D.W. (1970) The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartment of the seminiferous epithelium, Biol. Repro., 3, 308.

El kalamouni. (2010). Caractérisation chimiques d'extraits de plantes, 22-38.

Eurell J.N. et Frappier B.L. (2006). Dellmann's textbook of veterinary histology. Blackwell Pub, Ames, Iowa.

Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000). Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.

Franchomme, P., (2015). La science des huiles essentielles médicinales. Guy Trédaniel, Paris.

Frend R. Bogerd J. França L. et Vilela D.A.R. (1973). La fonction reproductive masculine. *Organisation de la sante, Genève 1973, N°520.p ; 6-11.*

Gacem M, Zerrouki N, Lebas F, (2009). Comparaison des performances de production d'une Souche synthétique de lapin avec deux populations locales disponible en Algérie. 13ème journées de la recherché Cunicole, 17-18 novembre.France.

Grasse P., (1949). Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.-Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.

Gopalkrishnan, B. et Shimpi, NS (2011). Effet anti-fécondité de l'extrait de graine de machridure de *Madhuca latifolla* (Roxb.). *Revue internationale de biologie appliquée et de technologie pharmaceutique.* 2 (4): 49-53.

Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M., (2006). Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. Elsevier, Fitoterapia, 77, 495-499.

Références bibliographiques

Hamon R., Thepot N. et Salaun G., (1999). Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. Editions Educagri. pp 132.

Hayes FJ, Seminara SB, decruz S, Boepple PA et Crowley JR., (2000). Aromatase inhibition in the human male reveals a hypothalamic site of estrogen feedback. *The journal of clinical endocrinology and metabolism* 85 (9) : 3027-3035.

Hazard J. et Perlemuter L., (2000). *Endocrinologie, Abrégé.* Edition Masson, Paris: 363-375.

Hochereau De Reviere M.T.H. et Royere D., (1996). Anatomie fonctionnelle du testicule adulte in Drosowsky M.A., Belaisch J. et Vermeulen A. (1996). *Endocrinologie masculine.* Edition Doin, Paris : 35-46.

Jardin A., et De Fourmistraux N., (1984). In Mauvais-Jarvice P., *Médecine de la reproduction masculine.* Editions Flammarion Médecine/Science. PP 15-23.

Junqueira L.C. et Carneiro J., (2007). *Basic histology.* 11th ed. Copyright © The McGraw Hill Companies.

Kammerer M., Leclerc S., Poncet A., (2012). 100 Intoxications chez les animaux de compagnie. Edition Maloine. Paris. p 185-186.

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

Kumar. D., Agrawal. CP, Mishra. DD et Singh. V., (2014). Effet anti-fertilité de l'extrait de benzène de fleurs d'*Hibiscus rosa sinensis* L. sur le système reproducteur chez des rats mâles albinos. *Indian Journal Applied & Pure Biology.*, 29 (2): 215-217.

Lampiao, F. (2013). Les effets anti-fertilité d'*Acacia nilotica* chez les rats mâles Wistar. *Journal de Reproduction Infertilité.*, 14 (1): 39-42.

Lardry J.-M. et Haberkorn V. (2007). *L'aromathérapie et les huiles essentielles* édition Kinesither Rev.

Lebas F. (2009). Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (Accès 03/2009).

Références bibliographiques

Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H., (1984). Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, Rome : 1984-298p.

Lebas F et Kennous. (1990). Résultats de reproduction des lapines locales tunisiennes N° 8.1990 93-96.

Lebas F., Marionnet D et Henaff., (1991). La production du lapin. Technique et Documentation Lavoisier pp 17-112.

Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G., (1996). Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.

Lebas F, Zerrouki N, Gacem M, Meftah I, Bolet G., (2010) . Comparison of reproduction performances of a rabbit synthetic line and of rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations - First results. 6th Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Assiut (Egypt) 1-4 February.

Luzi F., Meertens 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).

Marai I.F.M., Habeeb A.A.M. et Gad A.E. (2002). Rabbits, productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Lives. Prod. Sci.* 78: 71-90.

Marieb N.E, (2005). Anatomie et physiologie humaines. 6ème ed. Renouveau pédagogique : 1096.

Martoja R. et Martoja M., (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et cie, Paris, 343p.

Micol D., Robelin J., Geay Y, (1993). Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscle chez les bovins en croissance et a l'engrais. INRA Production Animale. Vol 6 (1) :61-69.

MUKHALLAD, A., MOHAMAD, A., et HATHAM, D. (2009). Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med Sci* , 4 (2), 386-390.

Références bibliographiques

Muller Y. et Clos J. (1997). La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.

Raymond E. (1988). Effects of testosterone on neuronal nitric oxide Synthase and tyrosine hydroxylase, *Brain Research*, 836(1-2) :90-98.

Reddy, RVG, Kumar, VR et Reddy, KM (2014). Effet de l'extrait d' *Elytraria auaclis* sur la fertilité chez des rats albinos mâles. *Journal international des sciences pharmaceutiques et de la recherche .*, 5 (11): 4724-4727.

Robert. C et Vincent P., (1995). Biologie Physiologie Humaine. Edition Vuibert. Paris. Pp 700.

Russell LD et Griswold. MD., (1993). Sertoli cell. In: The Sertoli cell (LD Russel, MD Griswold, eds), Cache River Press, Clearwater, FL, États-Unis, 1-747

Sabbagh M. (1983). Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires. Pp 113.

Saez. (1994). Régulation paracrine et autocrine des fonctions testiculaires in Drosdowsky M.A., Belaisch J., VERmeulen A. (1996). Endocrinologie masculine. Edition Doin, Paris : 75-101.

Safaa H.M., Emarah M.E. et Saleh N.F.A. (2008). Seasonal effects on semen quality in black baladi and white new zealand rabbit bucks. *World Rabbit Sci.* 16: 13-20 .

Sathiyaraj, K., Sivaraj, A., Thirumalai, T., Baskaran, N., Vinothrasu, K., Inbasekar, P. et Senthil Kumar, B. (2011). Activité anti-fécondante de l'extrait aqueux de feuilles d'*Andrographis paniculata* chez des rats mâles albinos. *Journal international of Pharmaceutical & Biological Archives.*, 2 (4): 1179-1182.

The Jashwini, MS, Krishnaram, H. et Shivabasavaiah. (2012). Effet d'antifertilité réversible du *cyamopsis psoralioides* chez des souris Swiss albinos mâles. *International Journal of Advanced Biological Research.*, 2 (3): 416-424.

Références bibliographiques

Theau-clemen M. (2005). Préparation de la lapine à l'insémination : analyse bibliographique. 11^{ème} journées de la recherche cunicole, Paris (France), 9-30 novembre 2005, 67-82.

Tortor et Derrickson , (2007). Principe d'anatomie et de physiologie. Edition de boeck. Canada 11^{ème} ed. 1341p.

Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013). Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. *Acta Histochemica* : 9.

Wheater P., Trad R et Validire P, (2001). Histologie fonctionnelle. 4^{ème} édition, Paris : groupe de Boecks .413P.

Zybak O. (2000). FICHE TECHNIQUE Huile Essentielle MENTHE POIVREE *Mentha x piperita*.

Résumé

En Algérie, la menthe poivrée (*Mentha x piperita*) est largement consommée à des fins différentes, mais n'a pas été utilisée comme agent stimulant pour la reproduction masculine. L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de cette huile essentielle sur le poids corporel et le poids des organes reproducteurs de lapin (*Oryctolagus cuniculus* n = 20), ainsi que sur les structures testiculaires, pour cela deux doses différentes (100 et 200 µl/kg de pc) ont été administrées aux lapins expérimentaux par voie orale une seule fois, après une semaine de traitement les lapins ont été sacrifiés, les testicules sont prélevés, dégraissés puis pesés.

Le poids corporel, le poids et le volume testiculaires chez les lapins âgés de 3 et 5 mois sont élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 2 (200 µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 1 (100 µl/kg) par rapport aux témoins. Sur le plan histologique la Menthe Poivrée induit l'apparition de spermatides allongées chez les lapins âgés de 3 mois par la dose 100 µl/kg tandis que chez les lapins traités par la dose 200 µl/kg quelques spermatozoïdes apparaissent dans la lumière de tubule et une richesse de la lumière des tubes séminifères en spermatozoïdes chez les lapins âgés de 5 mois traités aux doses de (100 et 200 µl/kg de poids corporel) par rapport aux témoins, qui sont plus fréquent chez ceux traités par la dose 2. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de Menthe poivrée aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins âgés de 3 et 5 mois

Mot clés : Lapin, Testicules, fertilité, Huile essentielle, Menthe Poivrée.

Summary

In Algeria, peppermint (*Mentha piperita*) is widely consumed for different purposes, but has not been used as a stimulant for male reproduction. The objective of this study is to determine the effects of this essential oil on the body weight and weight of the rabbit reproductive organs (*Oryctolagus cuniculus* n = 20), as well as on the testicular structures. Two different doses (100 and 200 µl / kg bw) were administered to experimental rabbits by oral voice only once. After one week of treatment, the rabbits were sacrificed, the testicles are removed, defatted and weighed.

Body weight, testicular weight and volume in rabbits of 3 and 5 months old were higher respectively in rabbits treated with a dose of 200 µl / kg than those treated with a dose of 100 µl / kg, compared to the control. Histologically, Peppermint essential oil, at a dose of 100 µl / kg induced the appearance of elongated spermatids in rabbits of 3 months old whereas in rabbits treated with 200 µl / kg dose ; some spermatozoa appear in the tubule lumen. An abundance of spermatozoa in the light of seminiferous sperm tubes is observed in 5-month-old rabbits treated at doses of 100 and 200 µl / kg body weight compared to controls with more frequency in those treated with 200 µl / kg dose. These Results suggest that Peppermint essential oil at the used doses would have a positive effect on gonadal development, spermatogenesis and fertility in rabbits of 3 and 5 months old.

Key words: Rabbit, Testes, fertility, Essential oil, Peppermint.

FICHE TECHNIQUE N°1

Trichrome de Masson (MARTOJA *et* MARTOJA ; 1967) :

A. PREPARATION DU COLORANT :

- **Hématoxyline de Groat :**

Préparation à froid :

❖ **Solution A :**

- Acide sulfurique.....0,8g.
- Alun de fer.....1g.
- Eau distillée.....50ml.

❖ **Solution B :**

- Hématoxyline.....0,5g.
- Alcool 95°C.....50ml.

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant 1 heure et filtrer.

Conservation de 3 mois environ.

B. MODE OPERATOIRE :

- Déparaffiner, hydrater.
- Traiter à l'acide périodique à 1% pendant 5 minutes.
- Rincer à l'eau distillée pendant 5 minutes.
- Traiter par le réactif de Schiff pendant 20 à 30 minutes.
- Rincer à l'eau distillée jusqu'à rosissement de la coupe.
- Colorer à l'Hématoxyline de Groat pendant 1 minute.
- Rincer à l'eau courante pendant 5 minutes.
- Mettre la lame dans le xylène.
- Montage puis observation au microscope photonique.

Résultats :

Les mucopolysaccharides (MPS) neutres sont teintés en rouge pourpre, contrastés avec les noyaux des cellules qui sont colorés en bleu violacés.

Les glycoprotéines : glycolix et membranes basales sont également positives.

Le glycogène est positif (cette positivité disparaît après action de la salive).

Les noyaux sont colorés en bleu sous l'effet de l'hématoxyline de Harris.

Le glycogène et les autres substances réagissant positivement au PAS se colorent en rouge pourpre sous l'effet de réactif de Schiff.

- **Fuschine-ponceau :**

Annexes

Préparation à froid :

-FuSchine acide.....	0, 1g.
-Ponceau.....	0, 2g.
-Eau distillée.....	300ml.

Après dissolution ajouter :

-Acide acétique.....	0,6ml.
----------------------	--------

Conservation illimitée.

- **Vert lumière :**

-vert lumière.....	0,1g.
-eau distillée.....	100ml.

B.MODE OPERATOIRE : Le mode opératoire adopté est le suivant :

- Déparaffiner, hydrater.
- Coloration à l'hématoxyline de Groat pendant 5 minutes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 2 à 3 minutes.
- Coloration à la fuschine ponceau pendant 20 secondes.
- Rinçage à l'eau acétifiée à 1% pendant quelques secondes.
- Rinçage à l'acide phosphomolibdique pendant 5 minutes.
- Coloration au vert lumière pendant 3 minutes.
- Rinçage à l'eau acétifiée à 1% pendant quelques secondes.
- Déshydratation et montage.

Résultats :

- Les noyaux sont colorés en brun noir.
- Les cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en rose.
- Les sécrétions sont soit rouges soit vertes, les muscles sont rouges et les fibres de collagène sont vertes.