

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERI, Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie.



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science Biologique
Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

Effets de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses différentes (200µl/kg et 400µl/kg) sur les structures épидидymaires chez les lapins mâles infantiles de la population locale.

Présenté par :

Mr Ziani Fouad

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente	M ^{me} GUENDOUZI S.	MCB	UMMTO
Promotrice	M ^{me} LAKABI - AHMANACHE L.	MCA	UMMTO
Co-promotrice	M ^{me} MEHALLI-OULDRADI N.	Doctorante	UMMTO
Examinatrice	M ^{me} AKDADER S.	MCB	UMMTO

Année : 2020/2021

C'est avec profonde gratitude et sincères remerciements que je dédie ce travail, à tous ceux qui me sont chers, qui ont contribué à ma réussite de près ou de loin.

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents

Ma reconnaissance ne pourra jamais égaler tous les sacrifices que vous avez faits, tout ce que vous m'avez enseigné et la grande affection que vous m'avez portée. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de ma profonde affection et mon attachement indéfectible. Que Dieu vous réserve une bonne santé et une longue vie à fin que je puisse vous combler à mon tour. Je vous aime très fort.

À Mon frère Abdellah

En témoignage des profonds sentiments fraternels que je ressens pour toi. Puisse notre esprit de famille se fortifier au cours des années, et notre fraternité demeurer éternellement. Puisse dieu vous procurer santé, bonheur, et réussite.

Mes très chères sœurs

Trouvez en ce travail l'expression de mon profond amour et mon grand respect. Merci pour votre encouragement et votre amour que vous ne cessé jamais de me fournir. Que Dieu le tout puissant vous procure santé, bonheur et prospérité

À la mémoire de

Men grands-parents paternelle et mes grands-parents maternelle, Que le paradis soit votre demeure éternelle.

Mes oncles, tantes, mes cousins et cousines et tous mes proches.

À ma chère femme Samira Oukali.

FOUAD

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mme LAKABI L.** notre promotrice qui suit fidèlement notre travail, nous tenons à la remercier de la qualité de son encadrement, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire, nous avons apprécié sa grande chaleur humaine et ses précieux conseils scientifiques et ses encouragements qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.*

*Nos vifs remerciements vont également à notre Co-promotrice **MEHALLI-OULDRADI N.** Doctorante à l'Université Mouloud Mammeri pour sa disponibilité, ses conseils, son soutien moral et ses encouragements.*

*Nous remercions **Mme GFUNDOUZIS.** de l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider notre jury. Nous la remercions aussi de son enseignement, de son souci envers les étudiants et de ses qualités humaines et nous sommes très reconnaissants de bien vouloir porter intérêt à ce travail.*

Veuillez trouvez ici, présidente, l'expression de nos sincères remerciements.

*On remercie sincèrement **Mme AKDADER S.** pour sa gentillesse, sa bienveillance et son amabilité qui a bien voulu accepter d'examiner ce modeste travail.*

*J'exprime mes reconnaissances à monsieur **Brahime** pour son accueil dans son élevage qui se situe à Djebba.*

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve.

Nous tenons à remercier également nos familles et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.





Liste des figures

Liste des figures

Figure 1: Appareil génital du lapin mâle (Barone et <i>al.</i> , 1973).....	2
Figure 2: Structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997).....	4
Figure 3: Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro , 2007)...	5
Figure 4: Schéma de l'ultra structure de la cellule de Sertoli (Fawcett, 1975).....	6
Figure 5: Schéma du spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009)	8
Figure 6: Schéma d'un épидидyme (Glover et Nicander , 1971 ; Hamilton , 1990).....	10
Figure 7: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).	12
Figure 8: Schéma représentatif de l'épидидyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva , 2012).....	13
Figure 9: Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino , 2000).	17
Figure 10: Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours (Prud'hon, 1973 cité par Lebas, 2009).	18
Figure 11: Différentes étapes de la spermatogenèse (Marieb , 2006).	21
Figure 12: Les étapes de la spermiogénèse (Gayrard, 2007).	22
Figure 13: La stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig (Annick , 2014).....	24
Figure 14: Représentation schématique de l'épithélium sécrétoire épидидymaire (Rejraji et Drevet 2004).....	27
Figure 15: Complexe hypothalamus-hypophyse-testicule (Marie Saint-Dizier et al., 2014). 29	
Figure 16: Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium épидидymaire de rat en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épидидymaire (modifié d'après Robaire et al.2002).	30
Figure 17: Photographie représentant des lapins âgés d'1 mois de la population local issue d'un élevage cunicule privé de la région de Djebba (Original, 2021).	34
Figure 18: A : Arbre d' <i>Eucalyptus globulus</i> . B : Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (Koziol, 2015).....	35
Figure 19: Lapins placés en groupes dans des cages spéciales (Original,2021).....	36
Figure 20: A. Pesé des lapins, B. Administration des huiles essentielles <i>Eucalyptus globulus</i> aux lapins par voie orale. (Originale, 2021).....	37
Figure 21: A. Sacrifices des lapins. B. Prise du sang (Original, 2021).....	37
Figure 22: Photographie de la dissection, prélèvement des épидидymes ainsi que leurs pesées et fixation(Originale, 2021).....	38
Figure 23: Fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé (Original 2021).....	39
Figure 24: Série de bain d'alcool éthylique (Originale, 2021).....	40
Figure 25: Organes placés dans des moules de Paraffine et blocs de paraffine obtenue après inclusion (Originale, 2021).....	40
Figure 26: Photographie d'un microtome à gauche et du bain Marie à droite. (Lakabi, 2017).....	41
Figure 27: Photographie de déparaffinage et hydratation en deux bains de xylène (Originale, 2021)	41

Liste des figures

Figure 28 : Photographie de déparaffinage et hydratation en bains d'alcool éthylique à des degrés décroissants (Originale,2021)	42
Figure 29: Série d'une coloration topographique (Origilane, 2021)	42
Figure 30: Fixation d'une lamelle sur l'échantillon (Originale, 2021)	43
Figure 31: Photographie de l'observation des lames (Originale,2021).....	44
Figure 32: Représentation graphique des poids corporels des lapins infantiles de la population local avant et après traitement par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globuluse</i> à deux doses différentes.....	45
Figure 33: Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles de la population local avant et après traitement par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptuse globulus</i> à deux doses.....	46
Figure 34: Représentation graphique du poids total de l'épididyme des lapins infantiles de la population local avant et après traitement par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> à deux doses.....	47
Figure 35: Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins infantile de la population local avant et après traitement par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> à deux doses.....	48
Figure 36: Coupe histologique de l'épididyme des lapins infantiles témoins de la population locale (Originale, 2021).....	49
Figure 37: Structure histologique de l'épididyme de lapin traite par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> a la dose 1 (Originale, 2021).....	50
Figure 38: Structure histologique de l'epididyme de lapin traite par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> à la dose 2 (Originale, 2021).....	50



Abréviation

Abréviations

ABP : Androgen -Binding Protein

AMPc : l'adénosine monophosphate cyclique

CDS : développement complet de la spermatogénèse

DHT : Dihydratéostostérone

Em : Eminence médiane

FSH : Hormone Folliculo Stimulante

ABP : protéine liant les androgènes

ATP : Adénosine-Triphosphate

FT: facteurs de transcriptions,

GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone

HCO₃: bicarbonates

LH: Luteizing Hormone

LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone

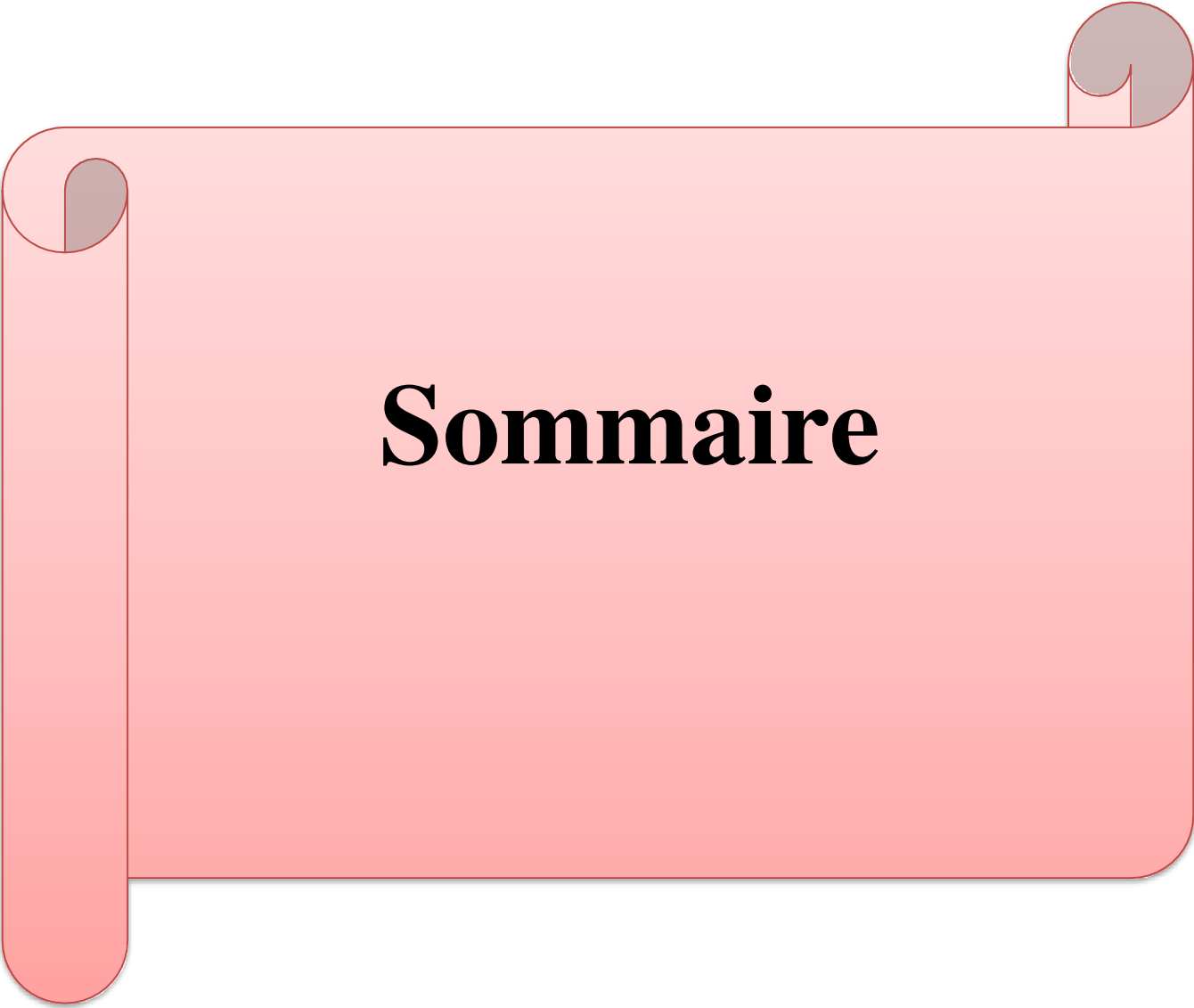
ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

ESM : Erreur Standard liée à la Moyenne

RS= premiers rapports sexuels

SNC : système nerveux central

ABP : Androgène Binding Protéine



Sommaire

Liste des figures Abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Rappels anatomiques et histologiques de l'appareil reproducteur mâle

1. Appareil génital mâle	2
2. Testicule.....	3
2.1. Anatomie	3
2.2. Histologie	3
2.2.1. Tube séminifère	4
2.2.1.1. Cellules de Sertoli	5
2.2.1.2. Cellules Germinales	6
2.2.1.1.1. Spermatogonies.....	6
2.2.1.1.2. Spermatocytes.....	7
2.2.1.1.3. Spermatides.....	7
2.2.1.1.4. Spermatozoïdes.....	7
2.2.2. Tissu interstitiel.	8
3. Epididyme.....	9
3.1. Anatomie	9
3.2. Histologie	11
3.2.1. Lumière du canal épидидymaire	11
3.2.2. Epithélium épидидymaire	11
3.2.2.1. Cellules principales.....	11
3.2.2.2. Cellules basales.....	12
3.2.2.3. Cellules en halos	13
3.2.2.4. Cellules claires.....	13

Sommaire

3.2.2.5. Cellules apicales.....	14
3.2.2.6. Cellules étroites.....	14
4. Canal déférent.....	15
5. Urètre.....	15
6. Glandes annexes.....	15
6.1. Vésicule séminale.	15
6.2. Glande vésiculaire (pro prostate ou prostate crâniale)	16
6.3. Prostate.....	16
6.4. Glandes para prostatiques	16
6.5. Glande de Cowper.....	16
7. Pénis.....	16

Chapitre II : Physiologie de la reproduction

1. Développement des gonades et puberté.....	17
2. Développement pondéral	18
3. Développement comportemental.	19
4. Maturation sexuelle.....	19
4.1 Phase infantile.....	19
4.2 Phase pré-pubère.....	19
4.3 Puberté.....	19
4.4 Maturité sexuelle.....	20
5. Fonctions physiologiques du testicule.....	20
5.1 Spermatogenèse.....	20
5.1.1 Spermatocytogenèse	21
5.1.2 Méiose.....	21
5.1.3 Spermiogénèse	22
5.2 Stéroïdogénèse	23
6. Fonctions physiologiques de l'épididyme	24
6.1 Maturation des spermatozoïdes.	24

Sommaire

6.2 Acquisition de la motilité.....	25
6.3 Protection	25
6.4 Stockage	25
7. Mode de sécrétion de l'épididyme.....	26
7.1 Sécrétion mérocrine	26
7.2 Sécrétion apocrine.....	26
8. Régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez les lapins	27
8.1 Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique	27
8.1.1 Au niveau hypothalamique.....	27
8.1.2 Au niveau hypophysaire	28
8.1.3 Au niveau gonadique	28
8.2 Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par testicule.....	28
8.3 Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire.....	29
9. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins.....	30
9.1 Température	30
9.2 Saison	31
9.3 Eclairage.....	31
9.4 Humidité (l'hygrométrie).....	31
9.5 Alimentation.....	32
9.6 Age	32
9.7 Etat sanitaire.....	32

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Matériel biologique.	33
1.1. Modèle animal.	33
1.2. Matériel végétal.	34
1.2.1. Plante <i>Eucalyptus globulus</i>	34

Sommaire

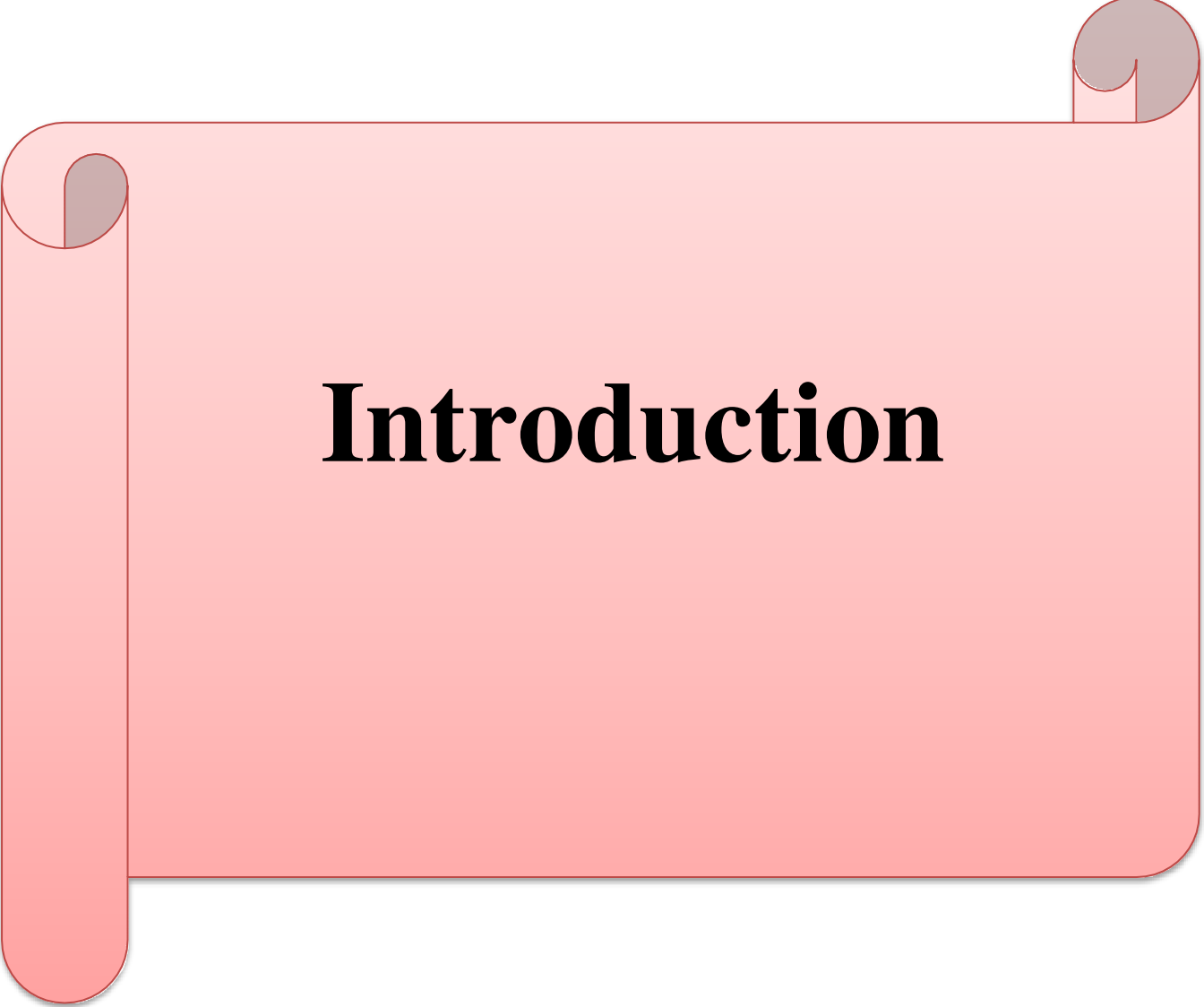
1.2.2. Huile essentielle de la <i>Eucalyptus globulus</i> (Gommier bleu).....	35
1.3. Autres matériels	35
2. Expérimentation.	35
2.1 Protocole expérimental.....	36
2.2. Pesée et administration de l'huile essentielle.....	36
2.3. Sacrifices et prélèvements.....	37
3. Étude histologique.....	38
3.1 Fixation des échantillons.....	38
3.2 Déshydratation et éclaircissement.....	39
3.3 Imprégnation	40
3.4 Inclusion.....	40
3.5 Confection des coupes et collage.....	41
3.6 Déparaffinage et réhydratation.	41
3.7 Coloration topographique et Déshydratation.....	42
3.8. Montage.....	42
3.9 Observation des lames.....	43
4. Étude statistique.....	44

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultats de l'étude macroscopique	45
1.1. Poids corporel.	45
1.2. Poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles	46
1.3. Poids total épидидymaire.....	47
1.4. Poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel.....	48
2. Résultats de l'étude microscopique.....	48
2.1. Épидидymes des lapins témoins.....	49
2.2. Épидидymes des lapins traités par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> à la dose 1	49
2.3. Épидидymes des lapins traités par l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> à la dose 2	50

Sommaire

3. Discussion des résultats.....	51
3.1. Paramètres macroscopiques	51
3.2. Paramètres microscopiques.....	52
 Conclusion	 54
Références bibliographiques.....	55
Annexes	71
Résumé	



Introduction

En Algérie, les productions animales sont de plus en plus diversifiées, mais leurs performances restent toujours insuffisantes. Pour couvrir le déficit en protéines animales. Le développement de la reproduction des lapins constitue une alternative intéressante pour réduire ce déficit.

Le lapin présente plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa productivité et reproduction, la transformation des protéines végétales en protéines animales (20%), ainsi qu'une grande production de viande (60 à 65Kg/lapine/an). À tout cela s'ajoute sa valeur nutritionnelle et ces qualités diététiques. Cette situation lui confère un statut particulier, notamment dans le domaine de la reproduction où il offre beaucoup d'avantage (Joly et Theau-Clément, 2000).

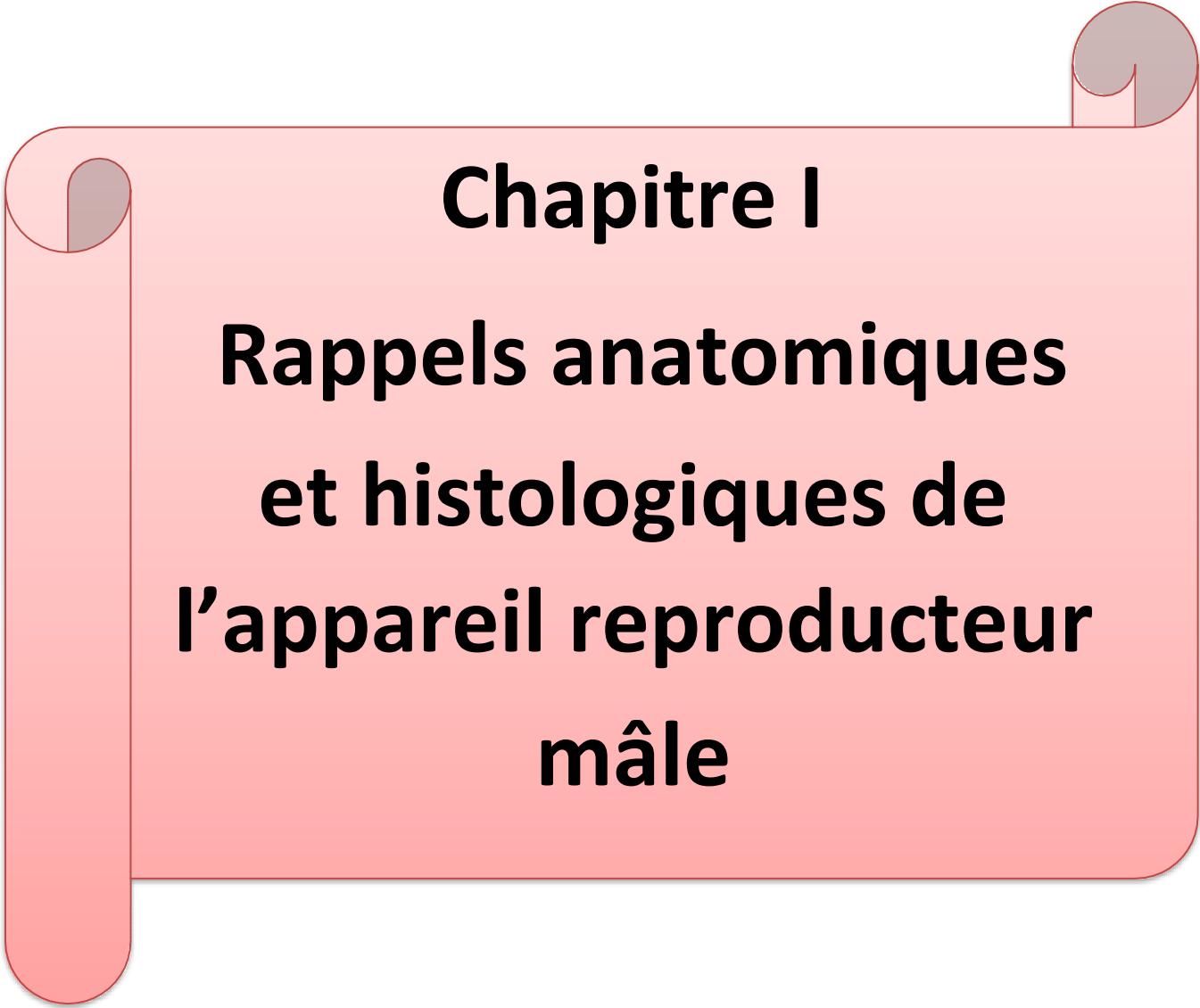
Sur le plan de la caractérisation des performances, le lapin de la population locale est moins fertile et moins puissant par rapport aux lapins des souches étrangères, pour cela plusieurs travaux ont été menés dans le but d'améliorer la cuniculture en Algérie.

Les lapins sont des animaux très sensibles aux conditions de l'environnement tel que la durée d'éclairement, la température combinée à une humidité relative qui peuvent impacter ces performances de reproduction. Récemment, plusieurs études menée sur les huiles essentielles ont montré leurs effets sur le processus de reproduction.

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

De ce fait, le but de cette étude est de mettre en évidence les effets de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses sur la structure des épидидymes des lapins mâles infantiles à travers l'évaluation des paramètres macroscopiques et microscopiques à savoir le poids corporel et épидидymaire, ainsi que leur structure histologique.

Ce travail s'organise en quatre chapitres. Dont Le premier chapitre portera sur des rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur mâle et le deuxième chapitre abordera la physiologie de la reproduction, le troisième chapitre nous exposerons les matériels et méthodes utilisés et quatrième chapitre présentera les résultats et discussion, enfin une conclusion avec des perspectives clôtureront cette présente étude.

A decorative red scroll graphic with a light red background and a darker red border. The scroll is unrolled in the center, with the text positioned within this central area. The top and bottom edges of the scroll are curled up, and the sides are also slightly curved, giving it a three-dimensional appearance.

Chapitre I

Rappels anatomiques et histologiques de l'appareil reproducteur mâle

Le système reproducteur du lapin mâle est très similaire à celui des autres mammifères, sauf pour la capacité supplémentaire de pouvoir rétracter le testicule dans l'abdomen (Sabbagh, 1983). Ce système présente deux fonctions primordiales, la production des spermatozoïdes et leur dépôt dans les voies génitales femelles d'une part, et la sécrétion des hormones sexuelles d'autre part (Alvarino, 1993).

1. Appareil génital mâle

Le terme « appareil génital mâle » (Figure 1) désigne tous les organes et structures participant à la formation, la maturation, l'émission sous pression des différents constituants du sperme qui se divise en quatre parties fonctionnelles (Boussit, 1989 ; Marieb et *al.*, 1999 ; Young et *al.*, 2008) :

- Les testicules : qui sont les glandes génitales mâles.
- Un réseau de conduits incluant : l'épididyme, le conduit déférent et enfin l'urètre qui débouche à l'extérieur par l'extrémité du pénis.
- Les glandes annexes : ce sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales, qui débouchent dans ces canaux où elles déversent leurs sécrétions.
- Le pénis : qui est un organe de copulation.

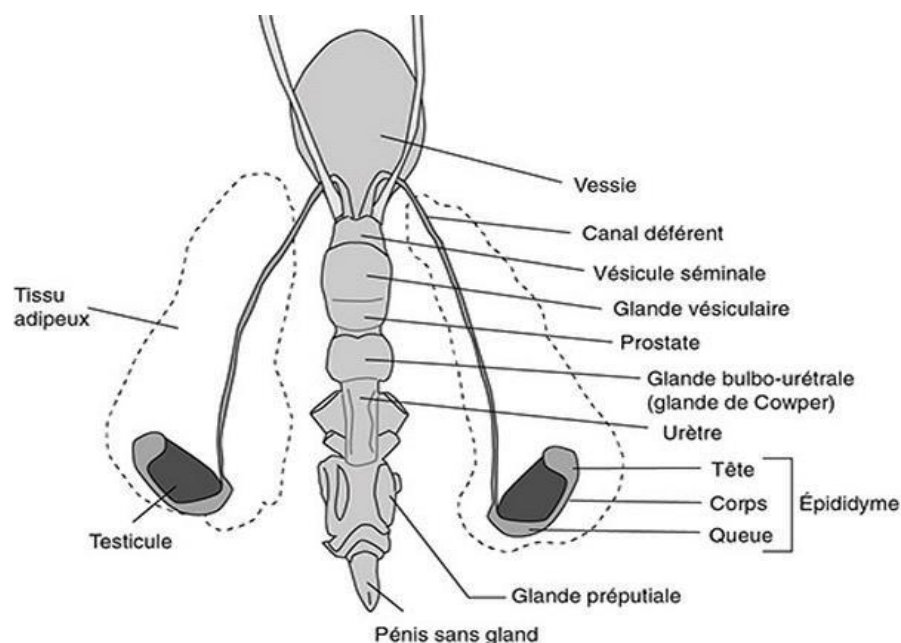


Figure 1: Appareil génital du lapin mâle (Barone et *al.*, 1973).

2. Testicule

Les testicules sont des organes pairs dotés d'une double fonction : la fonction exocrine (gamétogénèse ou spermatogénèse) et la fonction endocrine (la synthèse et la sécrétion des hormones sexuelles principalement la testostérone) qui sont assurées par une double structure, un compartiment tubulaire et un compartiment interstitiel (Muller et Clos, 1997).

2.1. Anatomie

Situés de part et d'autre de la ligne médiane inguinale, les testicules chez le lapin adulte sont de forme ovoïde, amincis 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. Ils sont protégés et soutenus par une enveloppe appelée scrotum ou sac scrotal constitué d'une fine couche de peau recouvrant divers couches fibro-élastiques et musculaires dont la plus importante est le dartos (Barone, 2001).

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

2.2. Histologie

Le testicule est revêtu par une capsule blanche, épaisse et résistante, riche en fibre de collagène et parcourue par les vaisseaux testiculaires ; l'albuginée (Dadoune et *al.*, 2000 ; Siffroi, 2001).

Cette albuginée s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, retetestis. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives, les septatestis, délimitant 200 à 300 lobules intra-testiculaires. Chaque lobule contient 2 à 3 tubes séminifères très longs qui débauchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le retetestis (Figure 2) (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

Selon Thibault et Levasseur (2001), le testicule comprend deux compartiments cellulaires distincts issus de la partie interne de l'ébauche gonadique : un compartiment interstitiel composé uniquement de cellules endocrines dites cellules de Leydig et un autre

compartiment germinal composé de cellules germinales et de cellules somatiques appelées cellules de Sertoli.

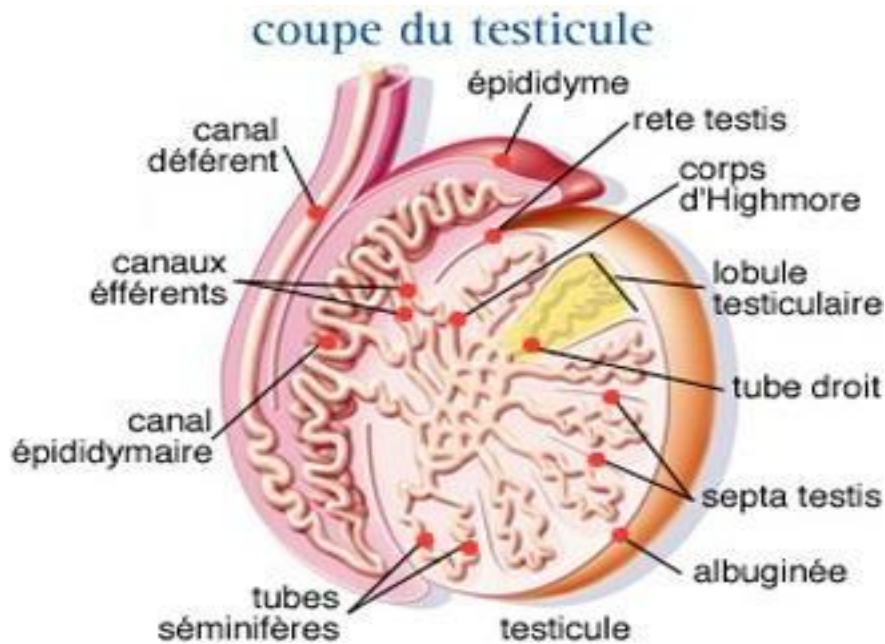


Figure 2 : Structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997).

2.2.1. Tube séminifère

Le tube séminifère, unité fonctionnelle du testicule, est un tube très long, flexueux et pelotonné qui peut atteindre 70 mètres de longueur chez le lapin. 2 à 3 tubes forment un lobule qui 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).

Le tube séminifère est constitué par une lumière bordée par un épithélium séminifère de revêtement pluristratifié, qui comprend essentiellement des cellules germinales à des stades de développement variés (spermatogonies, spermatocytes, spermatides et spermatozoïdes) et des cellules de Sertoli reposant sur une membrane basale. (Figure 3) (Freund et *al.*, 1973 ; Barone, 2001 ; Thibault et Levasseur, 2001).

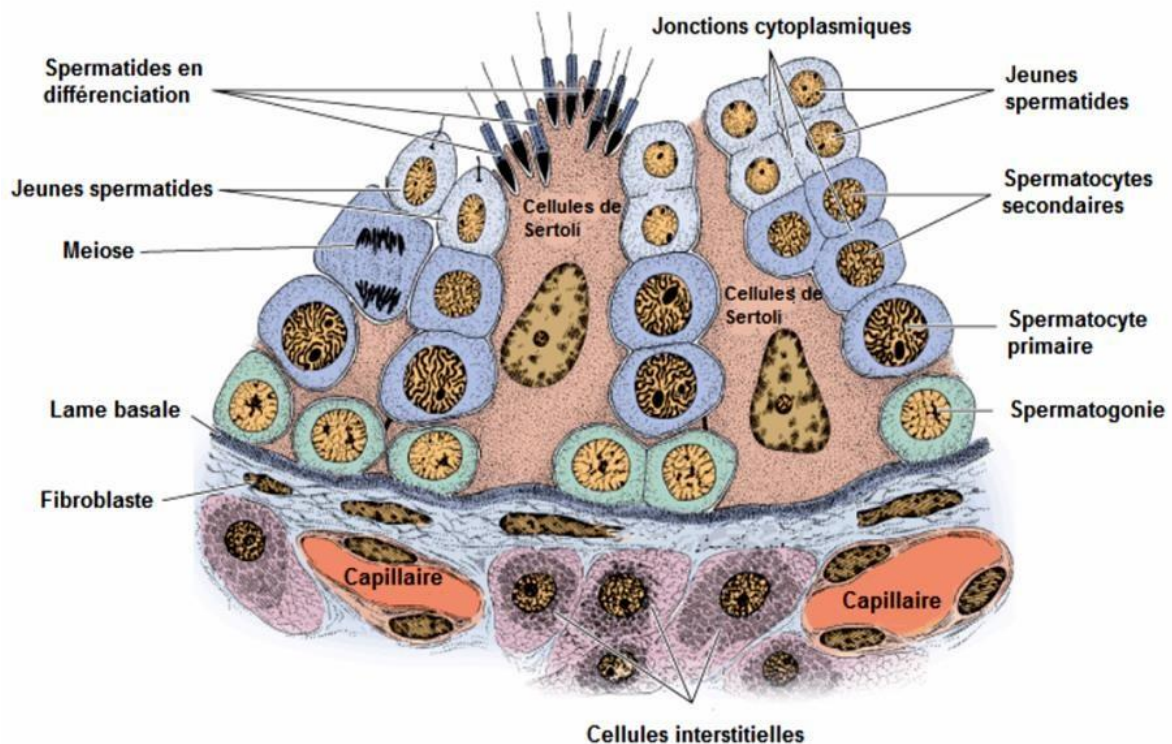


Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).

2.2.1.1. Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli sont des grandes cellules prolifératives dotées d'un grand noyau ovalaire ou triangulaire en coupe, allongé perpendiculairement à la membrane basale, fréquemment encoché, avec un volumineux nucléole et d'un cytoplasme abondant. Leurs bases reposent sur la membrane limitante du tube, tandis que leur cytoplasme apical en atteint la lumière. Le cytoplasme contient l'ensemble habituel d'organites dont les mitochondries, réticulum endoplasmique granulaire et lisse et l'appareil de Golgi (Freund et *al.*, 1973 ; Vacheret, 1999).

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

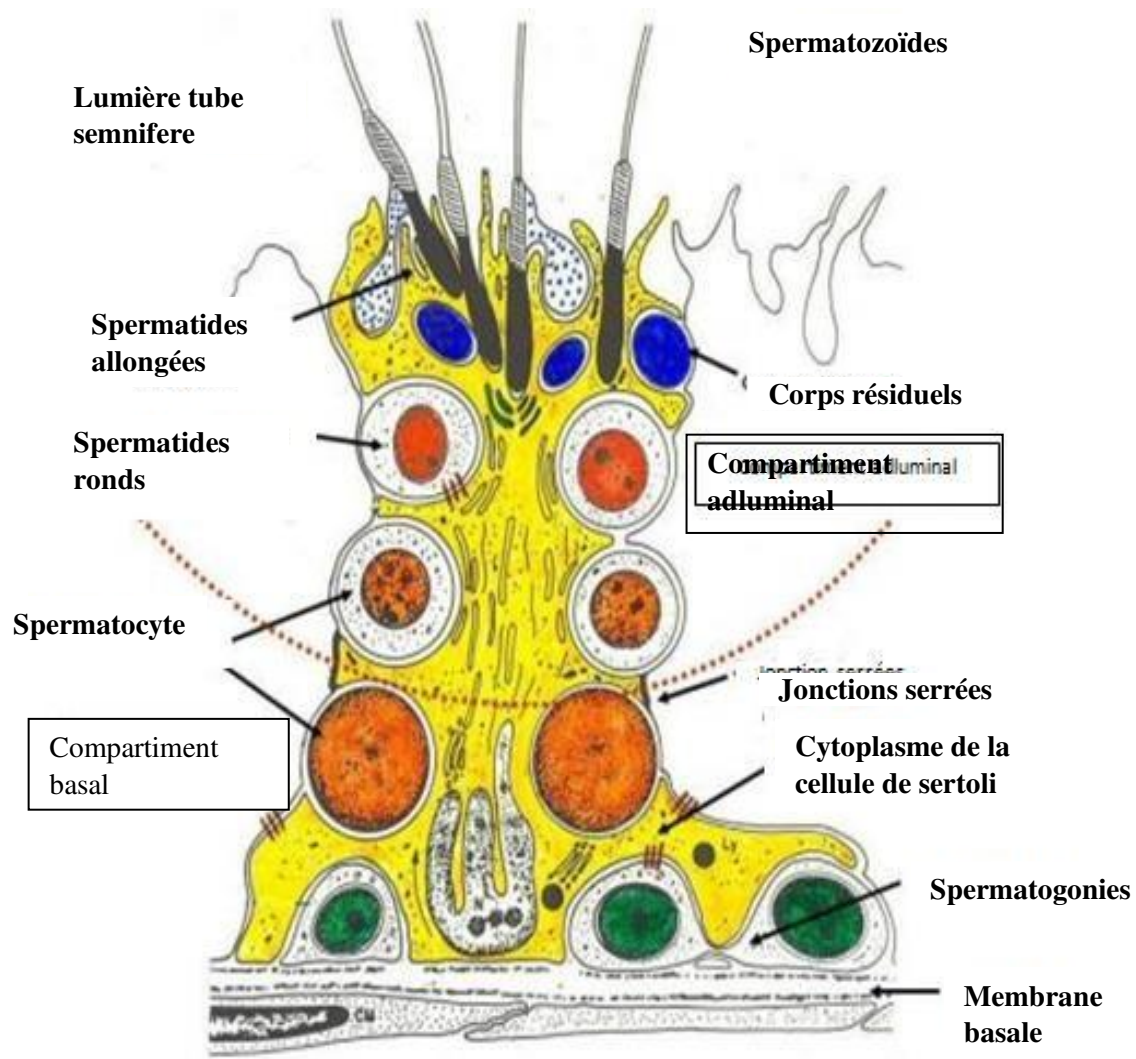


Figure 4: Schéma de l'ultra structure de la cellule de Sertoli (Fawcett, 1975).

2.2.1.2. Cellules Germinales

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère, à savoir ; les spermatogonies, les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I, les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II, les spermatides et les spermatozoïdes (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.2.1.1.1. Spermatogonies

Selon Vacheret (1999) et Siffroi (2001) les spermatogonies sont de petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 microns de diamètre, plaquées contre la membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies selon l'aspect de leur noyau :

- Des spermatogonies à chromatine fine et sombre, les spermatogonies Ad (dark) ;
- Des spermatogonies à chromatine claire, poussiéreuses ou pâles, les spermatogonies Ap ;
- Des spermatogonies à chromatine mottée et nucléole bien visible, les spermatogonies B.

2.2.1.1.2. Spermatocytes

D'après Marthin et Barry(2001), deux types de spermatocytes sont produits au cours de cette activité spermatique : le spermatocyte de 1^{er}ordre et le spermatocyte de 2^{ème}ordre. Les spermatocytes I sont des cellules déjà engagées dans les premières étapes de la méiose, se caractérisent par un cytoplasme abondant et un noyau volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments, facilement reconnaissable. Les spermatocytes II issues de la première division de la méiose des spermatocytes I, sont des cellules plus petites qui vont rapidement terminer leur deuxième division de la méiose et engendrer des cellules à n chromosomes, les spermatides.

2.2.1.1.3. Spermatides

Les spermatides sont des cellules haploïdes de petite taille, ovoïdes avec un noyau rond et clair contenant un ou deux masses nucléolaires qui se localisent à proximité de la lumière des tubes séminifères (Dadoune et *al.*, 2000 ; Junqueira et Carneiro, 2007).

Ces cellules vont subir une différenciation durant laquelle elles vont devenir plus petites et effilée, aboutissant à la formation des spermatides allongé puis des spermatozoïdes via la spermiogénèse (Ramé *et al.*, 2007).

2.2.1.1.4. Spermatozoïdes

Les spermatozoïdes, résultat final de la spermatogenèse, disposés en bouquet à l'apex des cellules de Sertoli, sont des cellules très petites dotées d'une motilité flagellaire et d'une forme filiforme constitués de trois parties distinctes la tête, la pièce intermédiaire et flagelle (Figure 5). Le spermatozoïde mûr est une cellule allongée de 55 à 57 µm de longueur chez le lapin (Robert et Vincent, 1995).

La tête ovoïde du spermatozoïde est formée par un noyau coiffé par un acrosome pourvu d'enzymes responsable de la pénétration de la membrane de l'ovocyte lors de la fécondation (Robert et Vincent, 1995 ; Barone 2001).

La pièce intermédiaire est une partie cytoplasmique, rétrécie, représente le segment qui unit la tête à la queue et renferme la majorité des mitochondries qui sont le siège de la production énergétique nécessaire aux mouvements.

La queue ou flagelle assurant la mobilité du spermatozoïde, forme la quasi-totalité de la cellule, présente une pièce principale de 45 μm de longueur constitué de neuf faisceaux de fibres denses, ainsi que d'une gaine protéique fibreuse périphérique et une pièce terminale de 1 à 2 μm de longueur qui comporte le filament axial (Figure 5) (Barone, 2001 ; Wargo et Smith, 2003 ; Turner, 2003).

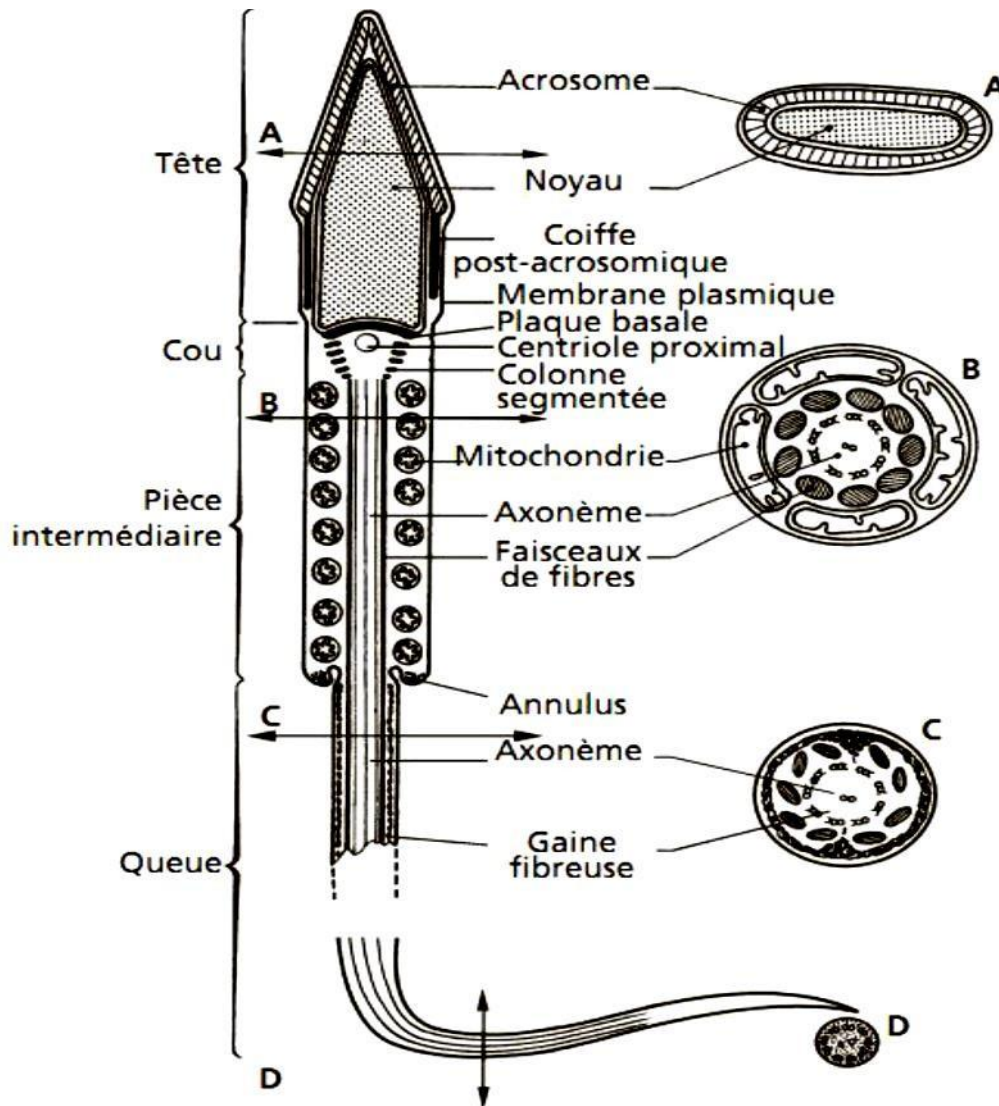


Figure 5: Schéma du spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009).

2.2.2. Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en terminaisons nerveuses, dans lequel sont réparties des cellules interstitielles en amas, appelées cellules de Leydig ainsi que diverses cellules libres de type fibroblastes, macrophages ou encore lymphocytes (Wrobel, 1990).

Les cellules de Leydig sont des cellules polygonales, qui sont soit dispersées, soit groupées en amas autour des capillaires sanguins et entourées par une lame basale discontinue (Lakabi, 2017).

Elles contiennent un noyau ovoïde dont la chromatine est périphérique et un nucléole volumineux, un cytoplasme dense riche en citernes de REL, des mitochondries peu nombreuses de taille variable garnies de crêtes tubulaires et d'enclaves lipidiques abondantes dans le cytoplasme des cellules matures. De nombreuses jonctions, de type Gap, desmosomes et plus rarement des jonctions septées ont été mises en évidence au niveau de la membrane plasmique (Dadoune et Demoulin, 2001).

Ces cellules synthétisent et libèrent des androgènes principalement la testostérone qui est essentiels pour la spermatogenèse et la masculinisation et l'apparition des caractères sexuels primaires et secondaires (Dizier et Maillard, 2014).

3. Epididyme

3.1. Anatomie

L'épididyme, organe du tractus génital mâle, est accolé à la face postérieure du testicule et relie les canaux efférents au canal déférent. Chez les mammifères, c'est un long tubule unique fortement contourné dont la taille varie selon les espèces, il mesure 1,5 à 3 cm chez les lapins (Grasse, 1995 ; Barone, 1978) et peut atteindre jusqu'à 5 mètres chez l'homme (Sullivan, 2004).

Sur la base de sa morphologie et de son histologie, cet organe peut être divisé en trois parties distinctes : la tête ou région proximale qui est reliée au hile du testicule par les canaux efférents et le *retetestis*, le corps ou région médiane, accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure et la queue ou région distale connectée au canal déférent (Abe *et al.*, 1983 ; Abou-Haila et Fain-Maurel, 1984).

Ces régions sont également subdivisées en plusieurs segments (Figure 7) (Abe *et al.*, 1983 ; Abou-Haila et Fain-Maurel, 1984 ; Johnston *et al.*, 2005), chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives ou *septa*. Cette subdivision repose sur des analyses ultrastructurales, ainsi que sur l'étude des activités enzymatiques et transrationnelles de l'organe (Takano, 1980).

Cependant, cette zonation physiologique de l'épididyme est plus complexe car aucun repère anatomique ne permet de distinguer les différentes régions épидидymaires, spécialisées dans des activités précises (Barone, 2001). Autour de ce canal, on note la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses, dont les contractions permettent le transit des spermatozoïdes (Bonnes *et al.*, 2005).

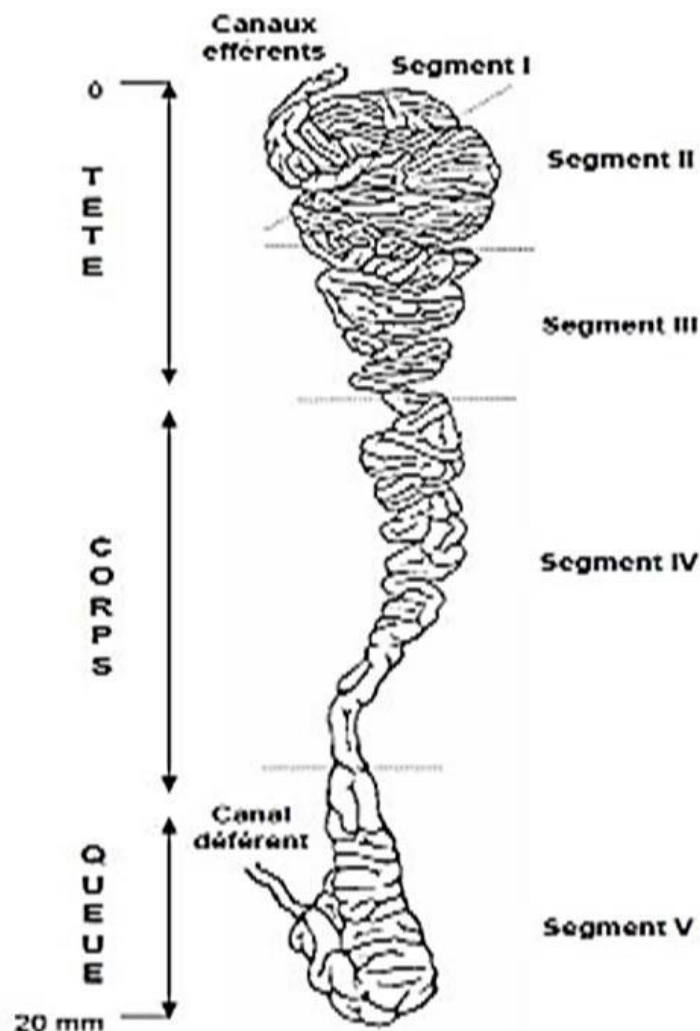


Figure 6: Schéma d'un épидидyme (Glover et Nicander, 1971 ; Hamilton, 1990).

3.2. Histologie

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : une lumière bordée par un épithélium pseudo stratifié, entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et du tissu conjonctif qui contient des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins (Hermo et Robaire, 1988).

Autour du canal épидидymaire, on note la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses, qui par leurs contractions péristaltiques régulières contrôlées par les fibres nerveuses, permettent le transit des spermatozoïdes de la tête vers la queue de l'organe (Setchellet *al.*, 1994).

3.2.1. Lumière du canal épидидymaire

Pour rejoindre le système éjaculateur depuis les gonades mâles, les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épидидymaire.

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

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

3.2.2. Epithélium épидидymaire

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

3.2.2.1. Cellules principales

Les cellules principales sont les cellules les plus abondantes de l'épithélium épидидymaire, constituent environ 80% de la population cellulaire totale dans le segment initial et ne représentent que 65% de la population cellulaire totale dans la queue de l'épididyme (Trasler *et al.*, 1988).

Ces cellules présentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre de l'épididyme, elles sont reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes. En effet, leur hauteur est plus élevée dans la tête que dans la queue, tout comme la longueur des

microvillosités qui tapissent leur pôles apical (Figure 9) (Ramos et Dym, 1977 ; Flickinger *et al.*, 1978 ; Jones *et al.*, 1979).

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

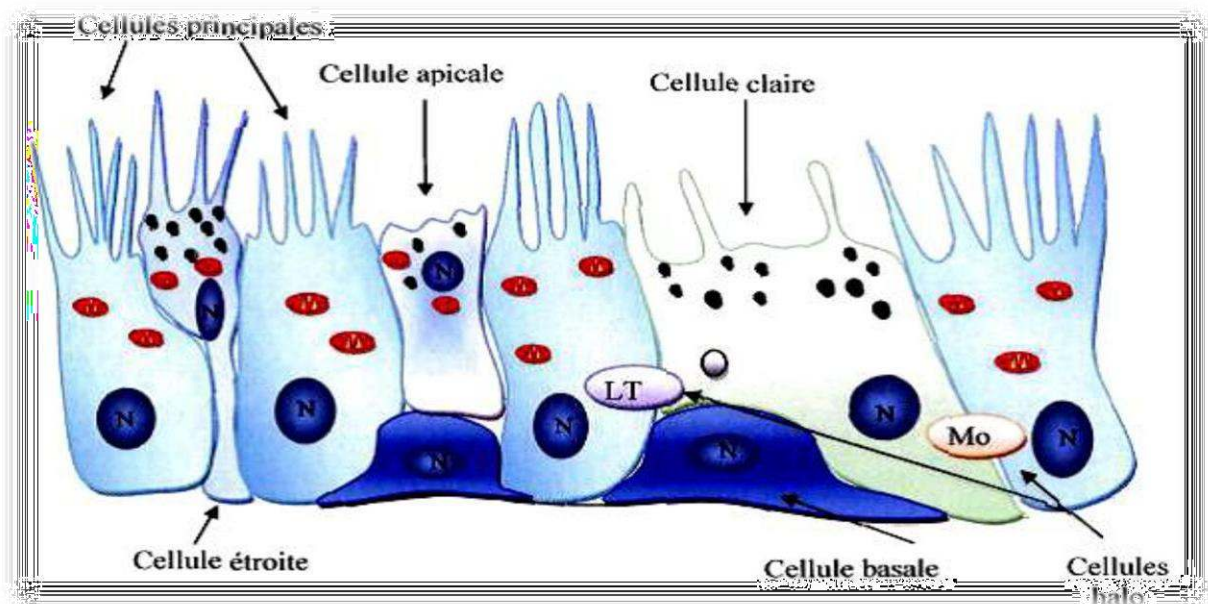


Figure 7: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).

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

3.2.2.2. Cellules basales

Les cellules basales représentant 10 à 20% de la population cellulaire totale de l'épithélium épидидymaire (Soranzo *et al.*, 1982). Ces petites cellules allongées, localisées tout le long du canal épидидymaire, reposent sur la membrane basale formant ainsi un réseau en dessous des cellules principales. Les cellules basales contiennent un noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites (Figure 8) et possèdent de longues projections pouvant s'étendre jusqu'à la lumière de l'épидидyme (Soranzo *et al.*, 1982 ; Veri *et al.*, 1993 ; Cooper, 1998 ; Seiler *et al.*, 2000).

Leur fonction est inconnue mais il semblerait qu'elles jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant

à ce qu'on appelle, la barrière hémato-épididymaire (Veri *et al.*, 1993 ; Cooper, 1998 ; Seiler *et al.*, 2000).

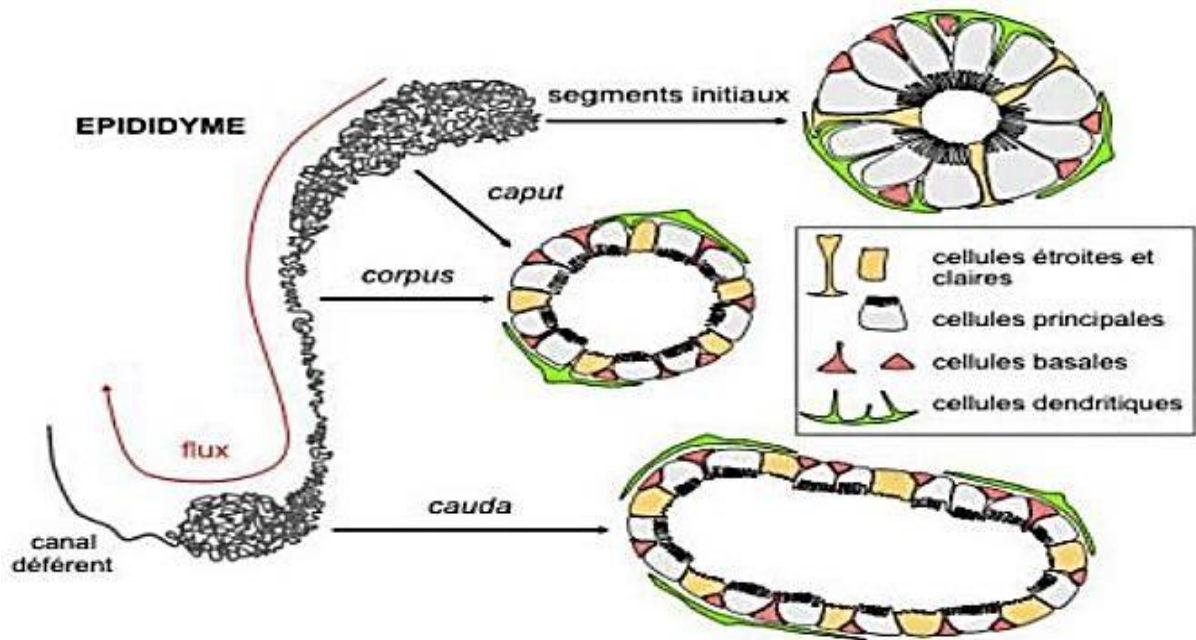


Figure 8: Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).

3.2.2.3. Cellules en halos

Les cellules en halo sont des petites cellules à bord étroit avec un cytoplasme clair et un noyau dense (Robaire *et al.*, 2006), qui sont présentes tout au long de l'épithélium et se situent vers la base de l'épithélium épididymaire (Figure 8).

Elles ont été décrites comme des cellules d'origine immunitaire et identifiées comme des lymphocytes intra épithéliaux ou des macrophages qui contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Hoffer *et al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

3.2.2.4. Cellules claires

Ces grandes cellules prismatiques sont présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo *et al.*, 1982). Elles sont caractérisées par la présence de vésicules claires en position apicale, de lysosomes en partie médiane et de nombreuses inclusions lipidiques en position basale (Figure 8) (Robaire et Hermo, 1988).

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

3.2.2.5. Cellules apicales

Qualifiées ainsi en raison de la localisation de leur noyau au pôle apical de l'épithélium, elles présentent un cytoplasme dense très riche en mitochondries, se trouvent principalement dans le segment initial où elles représentent 10% de la population cellulaire totale de l'épididyme, leur nombre diminue tout au long de l'organe pour ne représenter que 1% des cellules dans la queue de l'épididyme (Adamali et Hermo, 1996).

Elles participent à l'acidification du fluide épидидymaire ; grâce à la production d'anhydrase carbonique qui permet la sécrétion des ions H^+ et la réabsorption des bicarbonates (HCO_3^-) (Martínez-García *et al.*, 1995 ; Hermo *et al.*, 2005) et sont aussi capables d'endocyter des substances présentes dans la lumière (Robaire et Hermo, 2002).

3.2.2.6. Cellules étroites

Les cellules étroites se retrouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme, pourvue d'un noyau allongé en position apicale. Ces cellules se prolongent entre les cellules principales pour atteindre la région basale de l'épithélium épидидymaire, ce qu'elles leur confèrent un aspect en calice. Leur cytoplasme est riche en vacuole, vésicules endocytiques, lysosome et mitochondrie et leur membrane apicale émet des villosités courtes, épaisses et irrégulières (Hermo *et al.*, 2000) (Figure 8).

Elles semblent participer à l'acidification du fluide épидидymaire car elles possèdent une activité anhydrase carbonique et sont capables de sécréter des protons dans la lumière (Cohen *et al.*, 1976 ; Hermo *et al.*, 2005).

4. Canal déférent

La queue de l'épididyme se poursuit par le canal déférent qui fait suite au canal épидидymaire, il mesure 12 à 15 cm de longueur chez le lapin (Barone, 2001) et 45 cm chez l'homme (Dadoun *et al.*, 1990 ; Marieb, 2006).

Ce canal pénètre dans la cavité abdominale et atteint la face dorsale de la vessie formant un très léger renflement pelvien avant de se jeter dans l'urètre. Le canal déférent assure le transit jusqu'à l'urètre grâce à un péristaltisme basal, additionné d'une motricité brusque lors de l'éjaculat (Barone, 1978 ; Bonnes *et al.*, 2005).

5. Urètre

C'est un conduit de 12 à 13 cm de longueur, dont 8 à 9 cm tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité (Baronne, 2001).

Il fait partie à la fois du système urinaire et du système génital, assurant l'évacuation de l'urine lors de la miction et du sperme lors de l'éjaculation et il se divise en trois parties : urètre prostatique, partie membranacée qui se trouve dans le diaphragme urogénital et une partie spongieuse qui passe dans le pénis et s'ouvre vers l'extérieur par le méat urétral (Marieb, 2006).

6. Glandes annexes

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

6.1. Vésicule séminale

Chez le lapin, la vésicule séminale est impaire mais bilobée à son extrémité, avec une longueur d'environ 2,5 cm et un aspect ajouré (Abraham et Kierzembaum, 2002 ; Welsh, 2002), qui débouche dans le conduit déférent (Roger, 2002).

Sa partie caudale fusionne avec les canaux déférents pour former un canal éjaculateur impair qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre au niveau de calliculus seminalis (Barone, 1984).

6.2. Glande vésiculaire (pro prostate ou prostate crâniale)

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

6.3. Prostate

La glande prostatique est la principale glande accessoire de l'appareil génital mâle constitué de deux lobes : antérieur et postérieur, elle est oblongue et volumineuse, de couleur blanc jaunâtre (Lesson et Lesson, 1976 ; Dadoune *et al.*, 2000 et Marieb, 2008). Elle sécrète environ 1/3 du volume de sperme et cette sécrétion légèrement acide contenant divers ions exerce un rôle important dans l'activation des spermatozoïdes.

6.4. Glandes para prostatiques

Les glandes para prostatiques sont nettement plus petites, arrondies, situées de part et d'autre de l'urètre, ventralement à la prostate. Elles débouchent dans l'urètre par un nombre variable de petits conduits (Barone, 2001). Tous les lapins mâles ont au moins une paire de glandes paraprostatiques (Holtz et Foote, 1978).

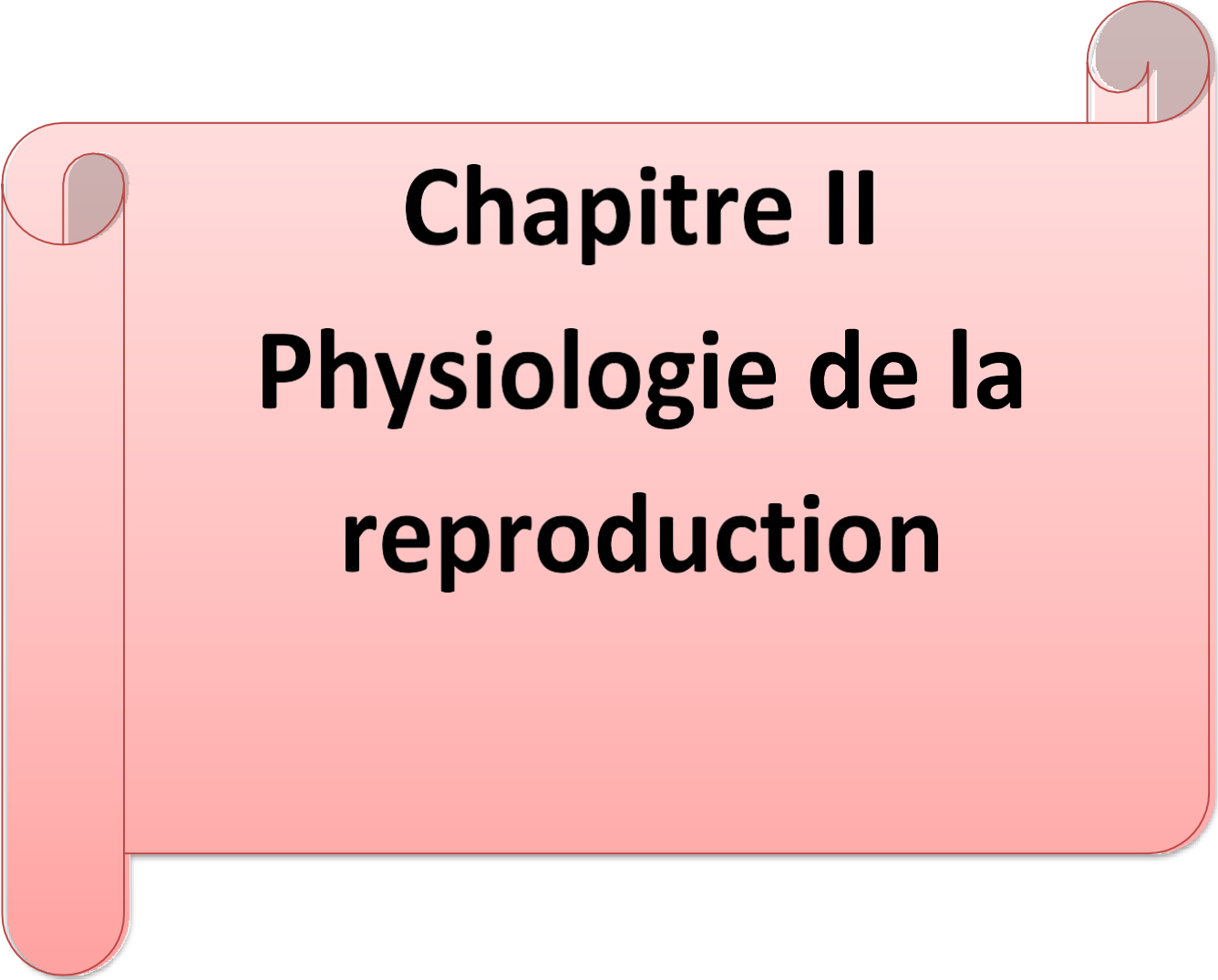
6.5. Glande de Cowper

Ce sont des formations sphériques paires, bilobées, volumineuses chez les lapins et placées postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par au moins 4 canaux (Sabbagh, 1983).

Ces glandes, entourées chacune par une capsule conjonctive (Roger, 2002), sécrètent un liquide mucoïde semblable au liquide prostatique qu'elles déversent dans la région postérieure de l'urètre membraneux (Boussit, 1989).

7. Pénis

Le lapin est une espèce à pénis rétrofléchi, logé dans le prépuce et ne sort que lors de l'accouplement. C'est un organe court, en forme de tube légèrement en pointe qui mesure environ 8 cm de long, il est dirigé caudalement au repos et cranialement à l'érection (Roger, 2002).

A decorative red scroll graphic with a light red fill and a darker red border. The scroll is unrolled in the center, with the title text positioned within this central area. The left and right edges of the scroll are rolled up, creating a 3D effect. The text is centered and written in a bold, black, sans-serif font.

Chapitre II

Physiologie de la reproduction

Le pouvoir de reproduction est une des propriétés élémentaires des êtres vivants, elle a pour but d'assurer la perpétuation de l'espèce.

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

1. Développement des gonades et puberté

La différenciation des organes reproducteurs du lapin mâle a lieu pendant la vie fœtale (figure) avec formation de l'albuginée entre le 14^{ème} et 15^{ème} jour de gestation, quelques jours plus tard les tubes séminifères apparaissent entourés de cellules germinales, au 19^{ème} jour de gestation il y a la production d'androgènes (Alvarino, 2000). Les canaux de Müller régressent à partir du 20^{ème} jour, la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour et au 24^{ème} jour le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis. Entre le 21^{ème} et 30^{ème} jours de gestation, la testostérone est présente au niveau des testicules de fœtus mâle (Skinner, 1967). A la naissance, les testicules se trouvent en position abdominale et la descente de ces derniers dans les sacs scrotaux coïncide avec la puberté (Alvarino, 1993).

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

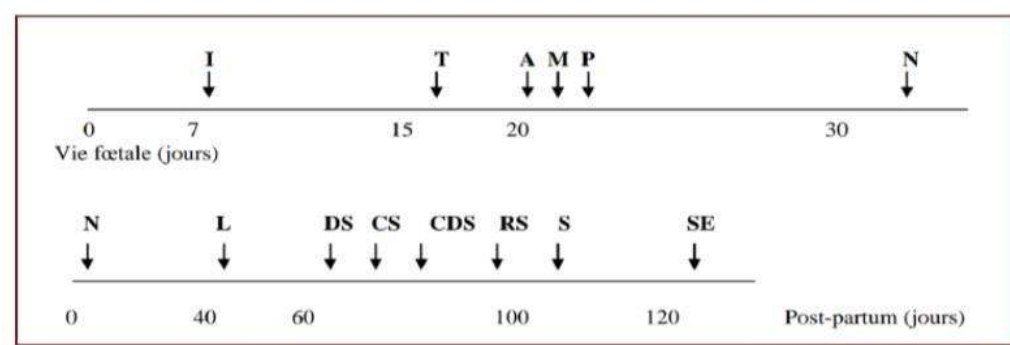


Figure 9 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

I= implantation ; N= naissance ; L= maturation des cellules de Leydig ; A= sécrétion d'androgènes ; T= différenciation des testicules ; CDS= développement complet de la spermatogénèse ; P= croissance de la prostate ; RS= premiers rapports sexuels. CS= premier comportement sexuels ; S= apparition du premier spermatozoïde ; M= dégénérescence des canaux de Müller ; DS= début de la spermatogénèse ; SE= apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

2. Développement pondéral

Le poids adulte est très variable selon les races (1 à 7 kg avec les individus atteignant les 10kg), il se situe autour de 3,5 et 4 kg pour les types génétiques couramment utilisés pour la production de viande (Roustan ,1992).

Le développement pondéral testiculaire est très long par rapport au développement du poids corporel du lapin jusqu'à l'âge de 5 mois. Le rapport entre le poids du testicule et le poids corporel augmente pour atteindre 2.86 après les 5 semaines d'âge, l'évolution de poids des testicules en fonction de l'âge montre une accélération de croissance testiculaire, entre 70 et 110 jours environs (figure) (Alvarino, 2000 ; Lebas, 2009).

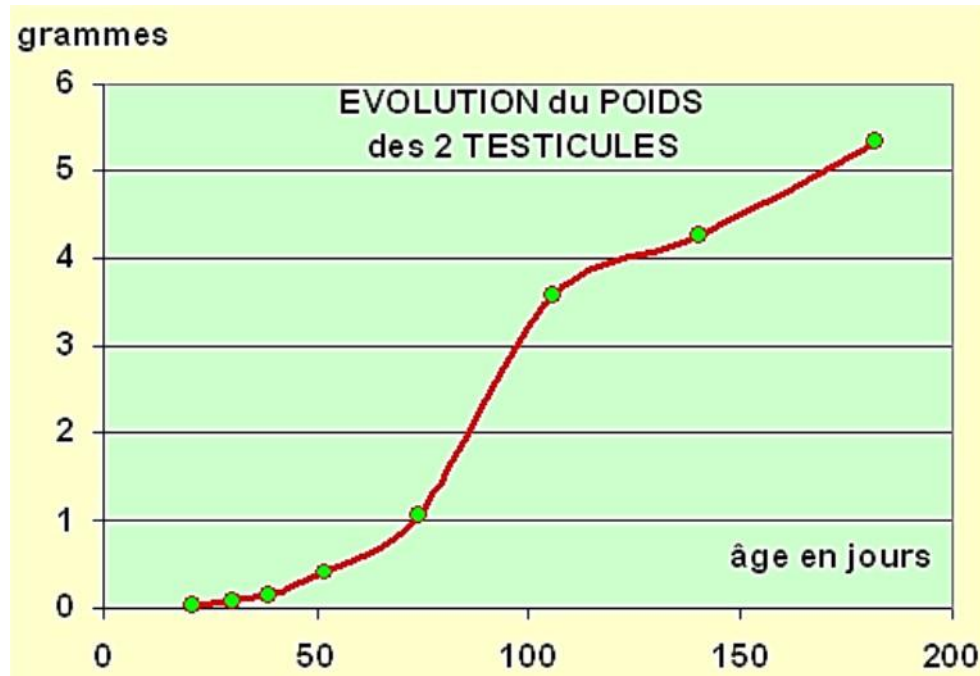


Figure 10 : Évolution du poids des testicules chez le jeune mâle entre 20 et 180 jours (Prud'hon, 1973 cités par Lebas, 2009).

3. Développement comportemental

Les premières manifestations de comportement sexuel apparaissent vers 60-70 jours: le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement. A partir de la 12ème semaine d'âge, les jeunes lapins montraient un certain nombre de manifestations sexuelles (reniflement de la région ano-génitale de la femelle, agressivité et tentatives de monte) (Berger *et al.*, 1982 ; Bell et Mitchell, 1984).

Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours mais, dans ces premiers éjaculats, la viabilité des spermatozoïdes est faible à nulle, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements (Lebas *et al.*, 1996).

4. Maturation sexuelle

Chez le lapin, la maturation sexuelle s'effectue en 4 phases : infantile, pré-pubère, puberté et maturité sexuelle.

4.1 Phase infantile

La période allant de la naissance à l'âge de 40 jours est caractérisée par une croissance lente des testicules et des vésicules séminales, ainsi que par des niveaux faibles de FSH et de testostérone circulant dans le sang : c'est la phase dite infantile (Martinet, 1978).

4.2 Phase pré-pubère

La phase pré-pubère commence vers l'âge de 40 jours et se caractérise par une augmentation importante des niveaux de testostérone (+921%) et de FSH (+384%) qui se produit entre 40 et 60 jours. Durant cette phase, la croissance des testicules s'accélère et les cellules de Leydig responsable de la spermatogenèse commence à fonctionner (Martinet, 1978), entraînant les premières divisions goniales vers 45 jours qui s'accélèrent vers 70 jours, quand les niveaux d'androgène circulants sont les plus élevés et les premiers spermatozoïdes apparaissent vers l'âge de 110 jours (Skinner, 1967).

4.3 Puberté

La puberté, définie comme le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire de façon constante des spermatozoïdes féconds, est atteinte vers 4 ou 5 mois, peu après la descente des testicules dans le scrotum. En période de repos, les testicules peuvent remonter en position abdominale.

L'âge de la puberté varie avec la race et les conditions d'élevage, notamment l'alimentation et la saison de naissance (Fortun et *al.*, 2015).

4.4 Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de sperme n'augmente plus, est atteinte à 32 semaines chez la race Néo-Zélandaise en climat tempéré. En effet, la production quotidienne de sperme qui est dépendante de nombreux facteurs, est de l'ordre de 2.107 spermatozoïdes (Fortun et *al.*, 2015).

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

5. Fonctions physiologiques du testicule.

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

5.1 Spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus de différenciations cellulaire qui permet la production des gamètes mâles matures haploïdes (n) : les spermatozoïdes, à partir de cellules souches diploïdes (2n) (Figure 11) (Tortora et Derrickson, 2007). Chez le lapin, elle est d'une durée de 38 à 41 jours (Martinet, 1973), et débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans les éjaculats à 110 jours d'âge (Lebas, 2009).

Selon Amman (1993), la spermatogénèse se déroule au niveau des tubules séminifères des testicules en passant par trois grandes étapes : la spermatocytogénèse, la méiose et la spermiogénèse.

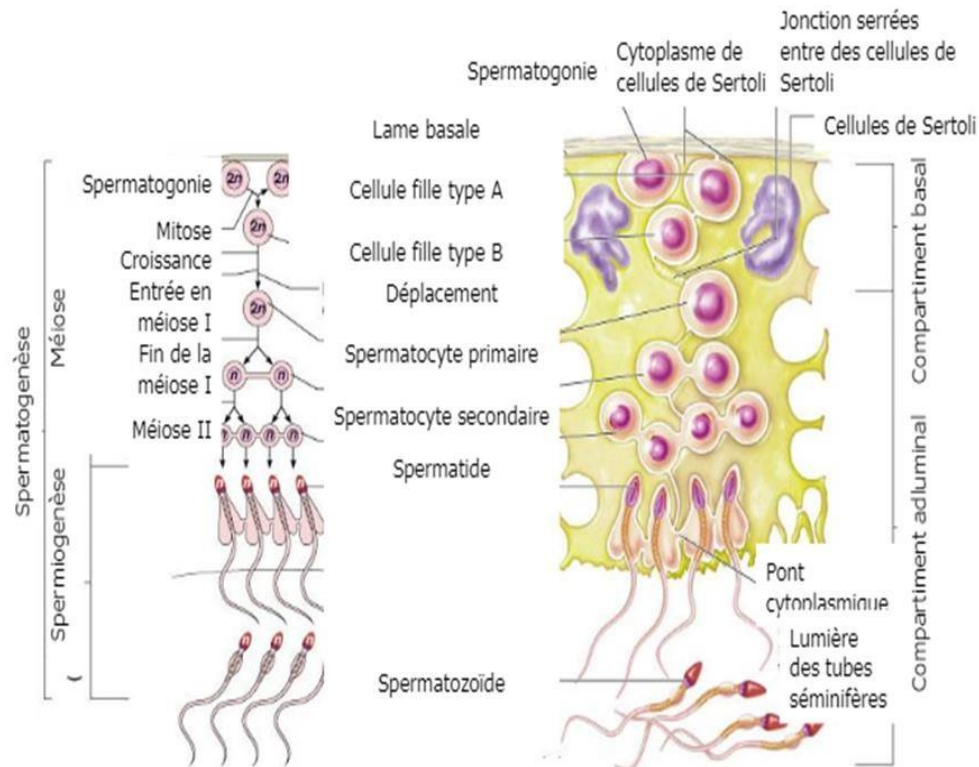


Figure 11 : Différentes étapes de la spermatogenèse (Marieb, 2006).

5.1.1 Spermatocytogenèse

La spermatocytogenèse est caractérisée par une phase de multiplication (par mitoses) et de différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes primaire, observée vers 60 jours d'âge chez le lapin (Martinet, 1973), qui possède encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristiques de l'espèce (lapin : 44 chromosomes). La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaires au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001).

5.1.2 Méiose

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

5.1.3 Spermiogénèse

C'est l'étape où les spermatides subissent une série remarquable de modifications qui aboutissent à la libération de spermatozoïdes mûrs (figure12) (Barone, 2001). A partir de ce stade il n'y a plus de divisions cellulaires, mais on observe surtout des métamorphoses extrêmement complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire (Schulz et *al.*, 2005).

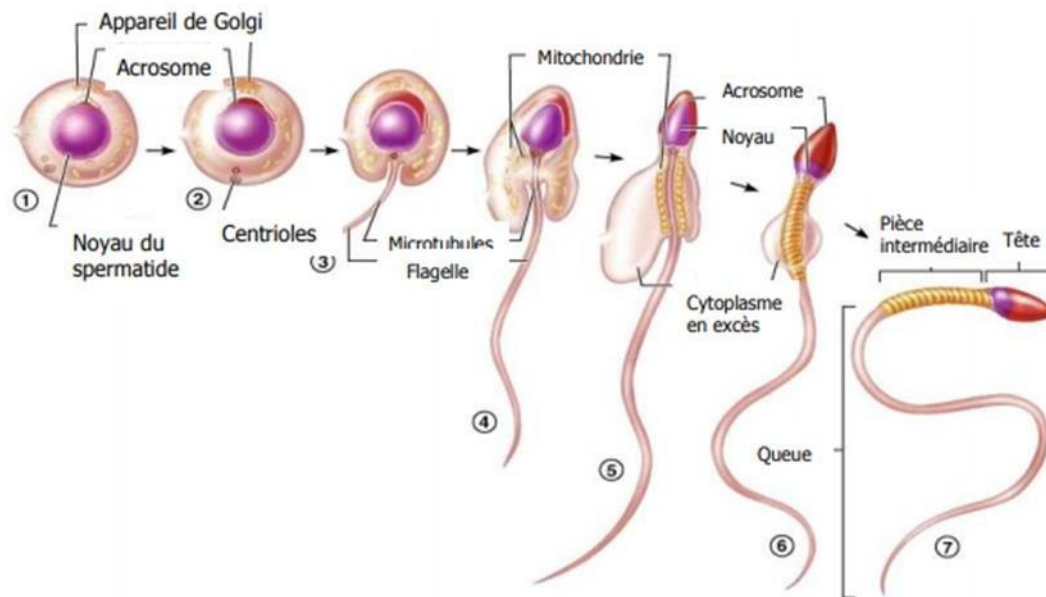


Figure 12 : Les étapes de la spermiogénèse (Gayrard, 2007).

Selon Gayrard (2007), la spermiogénèse est caractérisée par :

- La condensation du noyau et la déshydratation de la chromatine.
- La formation de l'acrosome au départ d'une vésicule golgienne.
- Le développement de l'appareil flagellaire à partir du centriole distal.
- Le glissement du cytoplasme le long de l'axe flagellaire et la différenciation de diverses structures fibreuses qui se condensent autour de celui-ci.
- Le repositionnement des mitochondries en une rangée hélicoïdale autour de la partie initiale du flagelle (pars intermedia).

- L'élimination de la plus grande partie du cytoplasme (corps résiduel).

5.2 Stéroïdogénèse

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

La biosynthèse des androgènes nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes agissant en cascade à partir d'un précurseur commun à tous les stéroïdes, le cholestérol (Saez, 1994). Au niveau de la cellule de Leydig la LH se lie à son récepteur (LHR) à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G, et stimule l'activité de l'adénylate cyclase entraînant ainsi une augmentation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). L'AMPc va stimuler la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA) qui phosphoryle et active l'expression de différentes protéines telles que STAR importante pour l'entrée du cholestérol dans la mitochondrie. Une fois dans la mitochondrie, le cholestérol est transformé par différentes enzymes aux prégnénolones et poursuit sa transformation au niveau de réticulum endoplasmique selon deux voies ($\Delta 4$ en orange et $\Delta 5$ en vert) pour aboutir à la testostérone. Le passage de la voie $\Delta 5$ à la voie $\Delta 4$ se fait par le biais de l'enzyme 3β HSD (Figure 14) (Annick, 2014).

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

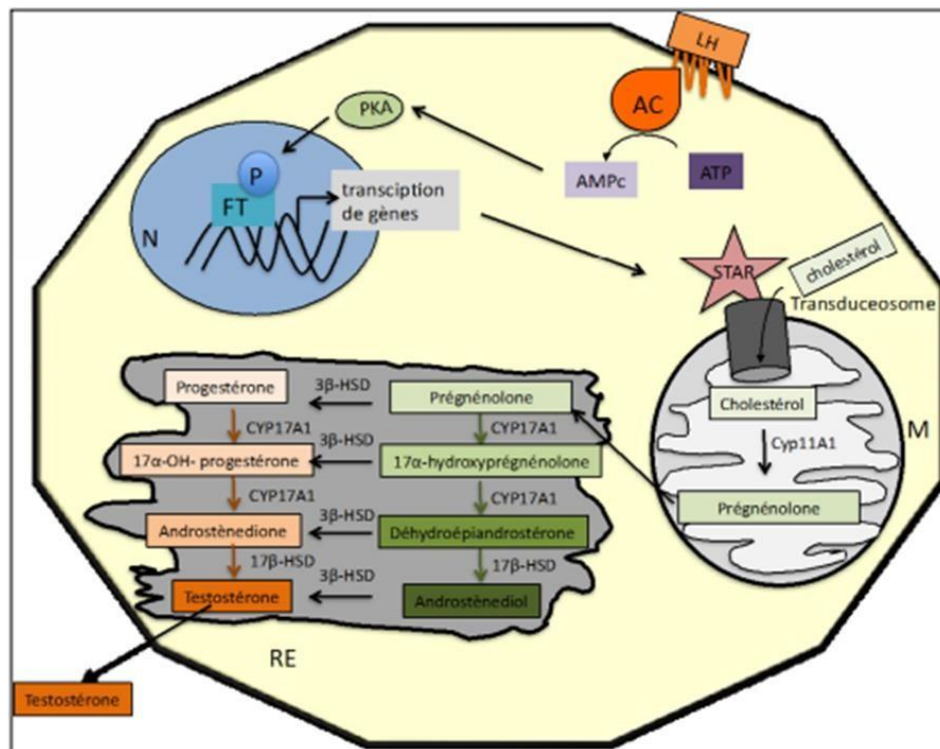


Figure 13 : La stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig (Annick, 2014).

M : mitochondrie, RE : réticulum endoplasmique, N : noyau, FT : facteurs de transcriptions,

P : groupement phosphate (Annick, 2014).

6. Fonctions physiologiques de l'épididyme

D'après Badran et Hermo (2002), l'épididyme doit assurer plusieurs fonctions : maturation des spermatozoïdes, l'acquisition de la motilité, protection, stockage des spermatozoïdes.

6.1 Maturation des spermatozoïdes

La maturation post-testiculaire des spermatozoïdes recouvre un ensemble de processus complexes qui vont progressivement modifier structurellement et fonctionnellement les gamètes en transit et ainsi leur conférer leurs aptitudes fécondantes, c'est-à-dire l'expression de leur motilité et la capacité à reconnaître la zone pellucide de l'ovule et à fusionner avec ce dernier (Noblanc et *al.*, 2012). Ces différentes propriétés sont acquises au cours de transit épididymaire.

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

6.2 Acquisition de la motilité

La durée de transit des spermatozoïdes dans l'épididyme est de l'ordre de 12 jours environ (Rowley et *al.*, 1970). Chez la plupart des mammifères les spermatozoïdes commencent à osciller dans la tête de l'épididyme avec de mouvements vibratoires de la queue alors que dans le corps il y a apparition des mouvements inefficaces, mais la mobilité progressive n'est acquise que dans la région caudale (Gaddum, 1968 cités par Boussit, 1989).

Le contrôle de cette mobilité dépend des facteurs exogènes et endogènes, L'activation de la motilité du flagelle se fait grâce aux changements de concentration de différents ions et énergie produite par les mitochondries. L'ATP produit permet la mise en place de la phosphorylation de la tyrosine sur la totalité du flagelle (Ho et Suarez, 2001 ; Mukai et Okuno, 2004), qui se produit d'une façon graduelle au cours de sa progression dans la lumière de l'épididyme pour atteindre son maximum dans la queue où le spermatozoïde est pleinement mature et acquière la capacité de se mouvoir (Aitken et *al.*, 2007). La concentration intra-spermatique en AMPc augmente aussi lors du transit épididymaire et permet d'induire la motilité.

6.3 Protection

Les spermatozoïdes matures, sont les cibles de multiples agressions. La barrière hémato-épididymaire les protège contre les attaques du système immunitaire (Pollanen et Cooper, 1994) et certaines protéines sécrétées par l'épithélium épididymaire ont une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs durant le transit épididymaire (Cornwall et *al.*, 2003 ; Cornwall et Hsia, 2003).

6.4 Stockage

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

7. Mode de sécrétion de l'épididyme :

Les sécrétions protéiques au niveau de la lumière de l'épididyme s'effectuent par les cellules principales dites aussi stéréociliées qui le composent, et ceci selon deux modes différents : mode mérocrine et mode apocrine.

7.1 Sécrétion mérocrine

Ce mode de sécrétion est le mode le plus fréquent chez les différents types cellulaires. Les protéines sécrétées selon ce mode sont issues de la traduction d'ARNm par les ribosomes au niveau du réticulum endoplasmique rugueux. Ces protéines se caractérisent par la présence d'un peptide signal au niveau de l'extrémité N-terminale de la séquence d'acides aminés, et elles sont ensuite véhiculées vers l'appareil du Golgi pour subir les modifications post-traductionnelles (Rejraji et R.drevet 2004) telles que la glycosylation et l'acylation (Thibault et Levasseur, 2001), qui seront transportées dans des granules de sécrétion. Ces granules à leur tour migrent jusqu'au pôle apical de la cellule (Figure 14) afin de libérer leur contenu à l'extérieur, ceci par fusion de leur membrane avec la membrane plasmique cellulaire (Rejraji et R.drevet 2004).

7.2 Sécrétion apocrine

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

Contrairement au mode mérocrine, la synthèse de même que les modifications post traductionnelles des protéines sécrétées selon le mode apocrine, s'accomplissent dans le cytoplasme des cellules (Sullivan et *al.*, 2005). Effectivement, puisque la séquence primaire de ces protéines est dépourvue de peptide signal, les protéines ne peuvent s'associer au réticulum endoplasmique. La synthèse a donc lieu exclusivement sur des ribosomes libres (Figure 13) (Girouard, 2009).

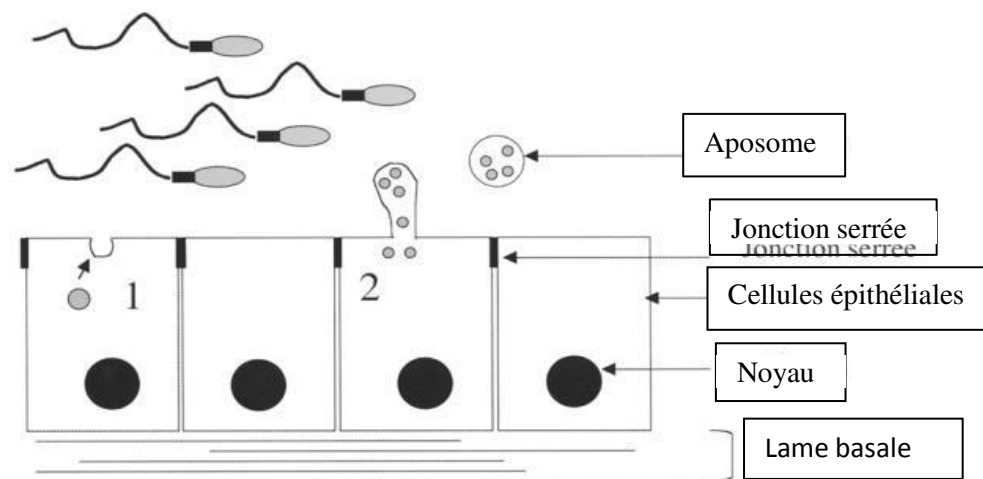


Figure 14 : Représentation schématique de l'épithélium sécrétoire épидидymaire (Rejraji et R. drevet 2004). 1-sécrétion mérocrine, 2- sécrétion apocrine.

8. Régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez les lapins

La fonction de reproduction chez les lapins mâles est sous le contrôle d'un système hormonal complexe ceci par l'intervention de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Figure 15).

8.1 Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

La régulation de la reproduction est assurée par l'axe hypothalamo-hypophyso – gonadique, la communication entre ces différents niveaux est assurée grâce à des neurohormones et hormones (Migaud et *al.*, 2016).

8.1.1 Au niveau hypothalamique

L'hypothalamus contrôle l'hypophyse par le biais de la GnRH qui est un décapeptide d'un poids moléculaire faible, non antigénique (houmad, 2007) sécrété de manière pulsatile par le noyau arqué et les noyaux pré et supra optique de l'hypothalamus, induisant la sécrétion de LH et FSH via des récepteurs membranaires spécifiques R-GnRH des cellules gonadotropes de l'antéhypophyse (Micheline et *al.*, 1999). Les neurones à GnRH sont modulés par de nombreux neurotransmetteurs et neuropeptides. Parmi les sécrétagogues du GnRH, le neuropeptide Kiss1 (Pinilla et *al.*, 2012, Beltramo et *al.*, 2014).

8.1.2 Au niveau hypophysaire

La GnRH, libérée dans l'antéhypophyse via la circulation portale hypophysaire, se lie à un récepteur spécifique (GnRH) exprimé par les cellules gonadotropes de l'hypophyse. Cette liaison déclenche la production et la sécrétion des deux gonadotrophines, la LH (Luteinizing Hormone) et la FSH (Follicle Stimulating Hormone) (Migaud et *al.*, 2016).

8.1.3 Au niveau gonadique

LH stimule la production de testostérone par les cellules de Leydig tandis que la FSH qui est le principal déterminant de la taille des testicules adultes, agit sur les cellules de Sertoli et responsable de l'initiation et du maintien de la spermatogenèse. En effet, dans la cellule de sertoli, la FSH stimule la synthèse de son propre récepteur (FSHR) et active la sécrétion d'une protéine liant les androgènes (ABP). La cellule de sertoli sécrète également l'hormone peptidique inhibine, qui inhibe la sécrétion de FSH. Dans la cellule de leydig, la LH stimule la sécrétion de testostérone qui va agir dans la cellule de sertoli en se liant à la protéine ABP (John et Amory, 2003)

8.2 Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par testicule

Le contrôle de la fonction reproductrice par le système hypothalamo-hypophysaire est accompagné d'un rétrocontrôle gonadique assuré par les sécrétions testiculaires stéroïdiennes (testostérone) et protéiques (inhibine) (Roser, 2008).

L'inhibine empêche la production de testostérone par les cellules de Leydig, alors que l'activine stimule la production de testostérone par les cellules de Leydig in vitro (Lin et *al.*, 1989). Selon l'intensité de la spermatogenèse, les cellules de Sertoli sécrètent l'inhibine β dans le sang, qui exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la FSH par l'hypophyse (Ying, 1988 ; Hancock, 1992 ; Tilbrook et Clark, 2001 ; Dohle et *al.*, 2003).

La testostérone sécrétée par les cellules de Leydig stimulées par LH exerce une rétroaction négative de deux façons sur la sécrétion de celle-ci :

- Elle réduit la production de GnRH par son action directe sur l'hypothalamus ce qui a pour effet de réduire la sécrétion de LH et de FSH par l'hypophyse antérieure.
- Elle réduit par un effet direct la réponse à la GnRH des cellules sécrétrices de LH de l'hypophyse antérieure (Sherwood, 2015).

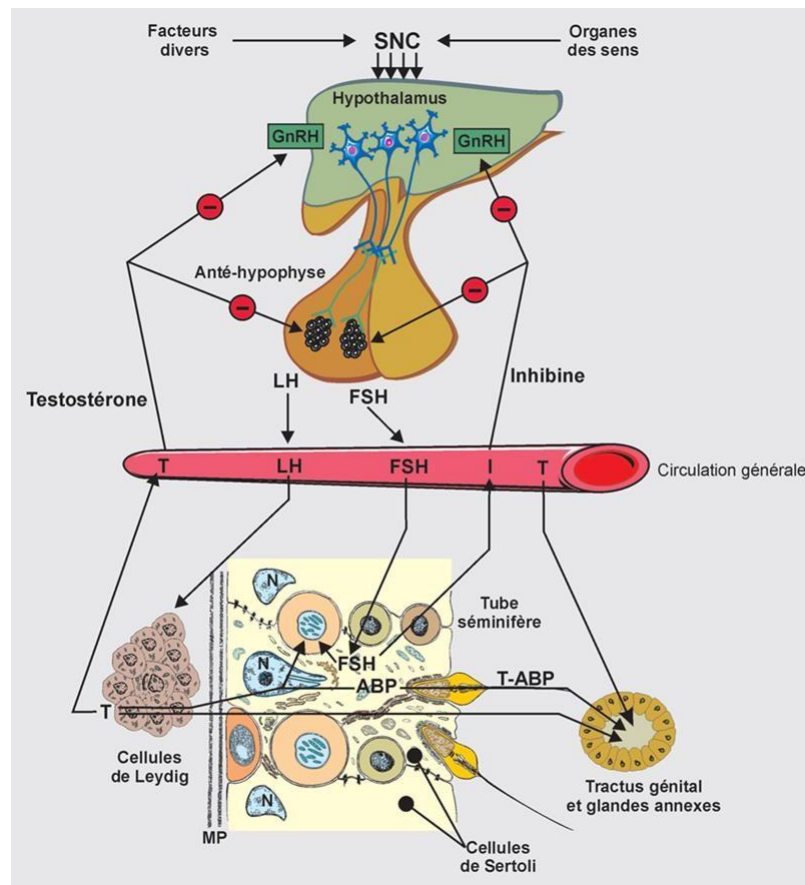


Figure 15 : Complexe hypothalamus-hypophyse-testicule (Marie Saint-Dizier et al., 2014).

SNC : système nerveux central ; T : testostérone ; I : inhibine ; ABP : Androgène Binding Protéine ; MP : membrane plasmique

8.3 Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire

La régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire fait appel à un réseau complexe de molécules biochimiquement très variées et d'origines diverses, qui vont agir spécifiquement au niveau des cellules de l'épithélium épididymaire pour réguler l'expression de gènes-cibles, et par conséquent, agir sur les fonctions physiologiques de cet organe. Selon leur proximité par rapport aux cellules-cibles, on distingue des facteurs endocrines arrivant par la voie systémique ; des facteurs lumicrines apportés par la lumière du canal épididymaire et enfin, des facteurs paracrines et/ou autocrines produits par les cellules avoisinantes ou les cellules elles-mêmes (Figure16). (Aurore Britan et J.R. Drevet.2016).

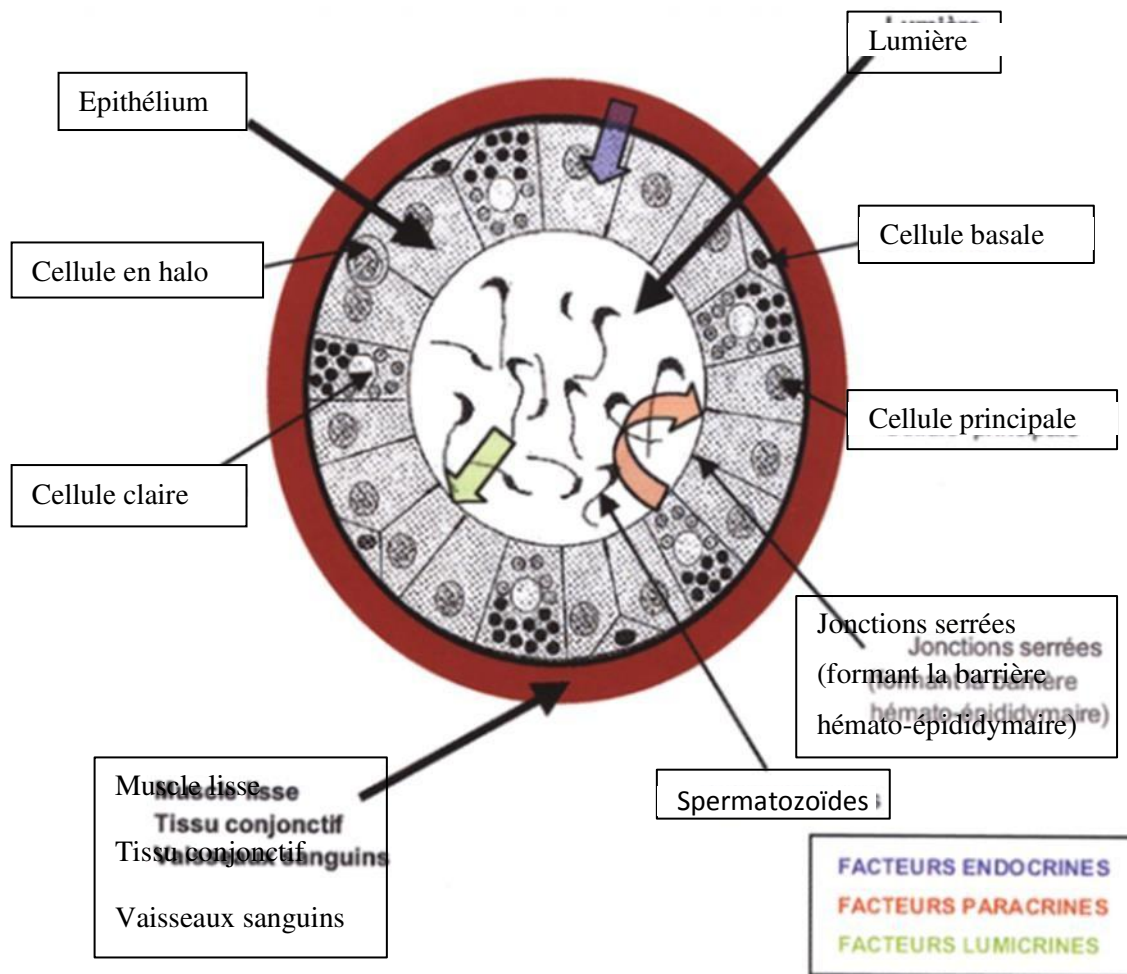


Figure 16 : Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium épидидymaire de rat en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épидидymaire. Robaire et *al.* (2002)

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

Les lapins font partis des espèces dont la fonction de reproduction peut être influencée par divers facteurs : température, saison, humidité, éclairage, âge, alimentation, état sanitaire, les huiles essentielles... (Theau-clément, 2005)

9.1 Température

La température est un facteur qui influence significativement la spermatogenèse, en affectant la qualité du sperme, la concentration et le volume des éjaculats (Joly et Theau, 2000)

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.

La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18C°, avec une humidité relative maintenue entre 55 et 80% (Lebas, 2009).

9.2 Saison

Selon Frolich (1948), le volume des éjaculats et leur concentration en spermatozoïdes atteignent le maximum en mars, et son minimum est observé en juillet (Brambell, 1944).

Ces variations s'accompagnent d'une réduction de la taille des testicules de mars à juillet, de l'ordre de 60 % du poids maximum et d'un accroissement testiculaire dès août. Il s'en suit une « stérilité estivale » associée à une augmentation du pH du sperme, une baisse de la motilité et la concentration des spermatozoïdes, une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et une baisse de la libido (Hiroe et Tomizuka, 1965).

9.3 Eclairage

Selon Boyd (1985 cités par Thau-Clément 1994), l'éclairage joue un rôle important dans la reproduction des lapins, car ils ont observé une augmentation du poids testiculaire et du pourcentage de spermatozoïdes vivants après un passage de 8 heures à 16 heures d'éclairement et une diminution du même paramètre si l'opération est inversée. De plus, les caractéristiques quantitatives et qualitatives des éjaculats étaient significativement plus élevées pour le lot de 16 heures par jour, seul le volume était plus élevé pour le lot de 8 heures d'éclairement. De ce fait, une bonne conduite de l'élevage implique un éclairage de 30 à 40 lux à condition que la lumière soit répartie de façon uniforme dans toute la pièce (Lebas et *al.*, 1990).

9.4 Humidité

Dans les normes recommandées, l'humidité relative doit être maintenue entre 60 et 70% (Lebas, 2009) car humidité relative trop basse (moins de 50%) est néfaste tandis qu'une hygrométrie trop élevée se traduit par une réduction des performances de reproduction (Finzi et *al.*, 2000) et aboutit à la prostration des animaux.

9.5 Alimentation

L'alimentation des lapins affecte les caractéristiques de la semence lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant (Joly et Theau, 2000), la libido et la quantité de sperme par éjaculat sont touchés par le facteur de l'alimentation sans toucher à la qualité de la semence. Les mâles nourris à volonté montrent une augmentation en volume de la semence, des spermatozoïdes par éjaculat, et une meilleure libido. Cependant leurs concentrations de sperme étaient comparables à celles des mâles nourris avec un régime limité. Les restrictions alimentaires sévères peuvent affecter le volume de sperme et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat. (Luzi et *al.*, 1996).

Notant aussi que 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).

9.6 Age

L'âge des mâles influence significativement sur la concentration et le nombre des spermatozoïdes motiles obtenus par éjaculat. En effet les mâles adultes de 9 à 12 mois ont une semence de concentration et un nombre de spermatozoïdes motiles plus élevé que celle des mâles jeunes de 4 à 5 mois (Theau et *al.*, 2009).

9.7 Etat sanitaire

Il a été largement vérifié que l'inflammation de l'appareil reproducteur masculin altère les fonctions testiculaires et séminales (Boiti, 2005), et qu'une forte concentration de leucocytes provoquée par une inflammation ou une infection peut altérer la spermatogenèse (Castellini, 2008).



Chapitre III

Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique et de la maturité sexuelle des lapins de la population locale. L'objectif de ce présent travail est l'étude des effets de l'huile essentielle *Eucalyptus globulus* sur la structure des épидидymes des lapins mâles infantiles à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids des gonades.

1. Matériel biologique

1.1. Modèle animal

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de la reproduction et permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques de cycle épithéliale séminifère (figure 14) (Ewuola et Equinike, 2010).

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

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

- | | |
|-----------------|------------------------------|
| - Règne | Animal |
| - Embranchement | Vertébrés |
| - Classe | Mammifères |
| - Super Ordre | Glires |
| - Ordre | Lagomorphes |
| - Famille | Léporides (lièvre et lapin) |
| - Sous-famille | Leporinae |
| - Genre | <i>Oryctolagus</i> |
| - Espèce | <i>Oryctolagus cuniculus</i> |



Figure 17 : Photographie représentant un lapin âgé infantile de la population locale issus d'un élevage cunicôle privé de la région de Djebela (Original, 2021).

1.2. Matériel végétal

1.2.1. Plante *Eucalyptus globulus*

Eucalyptus globulus, appelé aussi Gommier bleu (Figure 18 A) fait partie de la famille des Myrtacées, il a été découvert en 1792. C'est un arbre originaire de Tasmanie (Australie) mesurant 30 à 60 mètres de hauteur et peut atteindre jusqu'à 100 mètres dans certains cas. Son tronc est lisse et sa couleur varie du blanc au gris, dont l'écorce se détache facilement en longues bandes. Les jeunes feuilles sont cireuses, ovales, claires, opposées et sessiles. Mais ce sont les feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure. Ces feuilles (Figure 18 B) peuvent atteindre 25 centimètres de long. Elles sont falciformes, alternes, pétiolées, de couleur gris-vert. Les feuilles ont une nervure principale surtout distincte sur la face inférieure. La plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille (Kozioł, 2015).

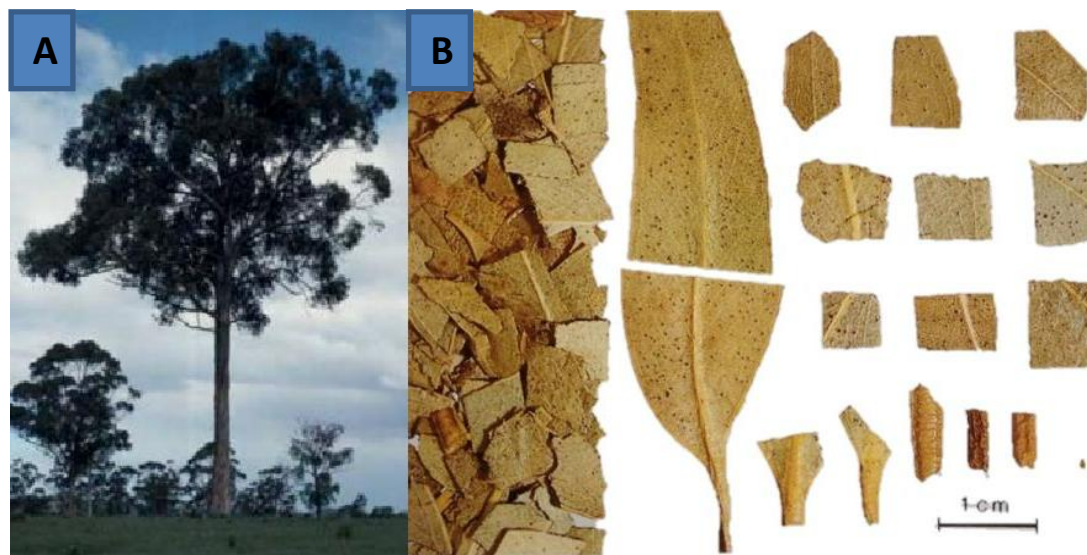


Figure 18 : A : Arbre d'*Eucalyptus globulus*. B : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* (Koziol, 2015)

1.2.2. Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (Gommier bleu)

Selon la pharmacopée européenne (2010), Les huiles essentielles (HE) sont des extraits pur et naturel provenant de substances aromatiques, produites par de nombreuses plantes sous forme de minuscules gouttelettes de quelque micron retrouvées dans les feuilles, les fruits, les fleurs, les graines, les racines, les branches et le bois (Fouzi, 1981). Elles sont liquides volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardy et *al.*, 2007), caractérisé par leur odeur, leur goût, leur couleur qui varie selon la plante dont elles sont extraites, et leurs propriétés physicochimiques et biologiques (Mc-Graw-Hill, 2007), qui peuvent être administrer par voie orale, voie transcutanée ou voie inhalatoire (Couderc, 2001).

1.3. Autres matériels

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

2. Expérimentation

La présente étude a portée sur 14 lapins mâles infantiles de la population locale, provenant d'un élevage cunicôle privé situé dans la région de Djebela, wilaya de Tizi-Ouzou.

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet 2021, l'administration de l'huile et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cunicole privée au niveau de Djevla, tandis que l'étude histologique est effectuée au niveau du laboratoire de recherche production, sauvegarde des espèces menacées des récoltes, influence des variations climatique au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

2.1 Protocole expérimental

Les expériences ont été menées sur 14 lapins mâles infantiles de la population locale d'un poids qui varie entre 500 et 800 grammes, ils ont été sélectionnés et placés dans des cages spéciales aménagées à l'élevage cunicol de djebila et répartis en 3 lots, un lot témoin et 2 lots traités par les huiles essentielles *Eucalyptus globulus* à la dose 200 μ l/kg (lot D1) et 400 μ l/kg (lot D2). (Figure 19).

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



Figure 19 : Lapins placés en groupes dans des cages spéciales (Original, 2021).

2.2. Pesée et administration de l'huile essentielle *Eucalyptus globulus*

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à administrer pour chaque animal et chaque dose. Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin à une dose unique (Figure 20).



Figure 20 : A. Pesé des lapins, B. Administration des huiles essentielles *Eucalyptus globulus* aux lapins par voie orale. (Originale, 2021).

2.3. Sacrifices et prélèvements

Une semaine après l'administration de l'huile essentielle, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9h:00 et 12h:00 au niveau de l'élevage cunicôle (Figure21).

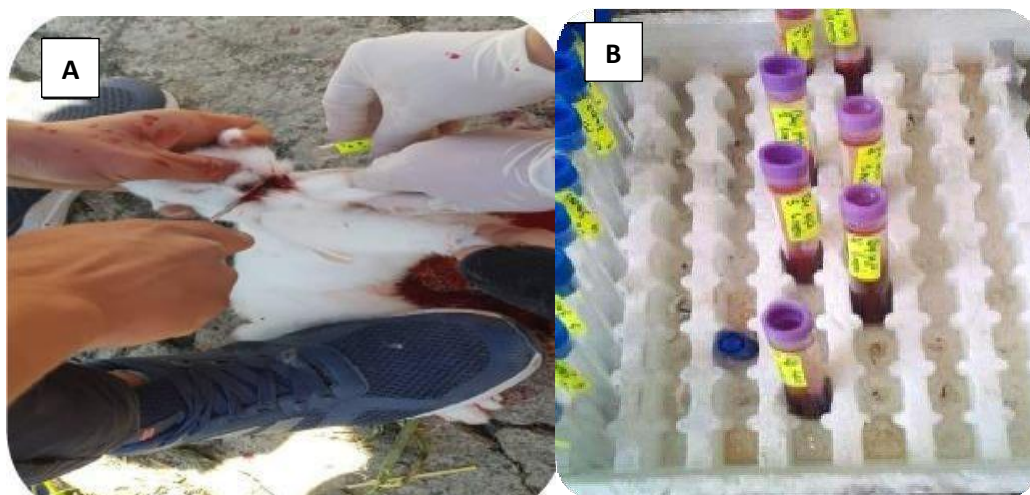


Figure 21 : A. Sacrifices des lapins. B. Prise du sang (Original, 2021).

Les animaux sont disséqués, leurs épидидymes sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g. Les épидидymes droits sont fixés au Bouin Hollande dans des cassettes soigneusement fermés étiquetés pour une étude histologique, alors que les épидидymes gauches sont placés dans des eppendorf et congelés à -20°C, jusqu'à leur utilisation ultérieure (Figure 22).

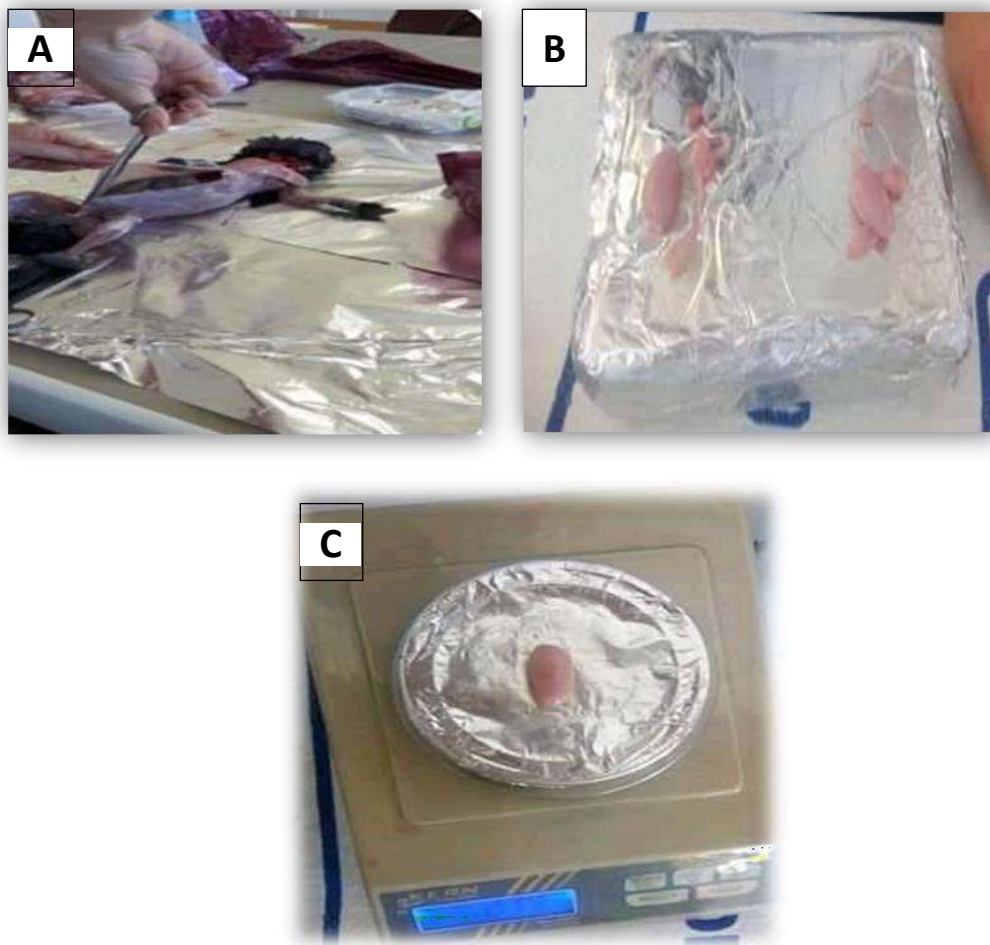


Figure 22 : Photographie de la dissection, prélèvement des épидидymes ainsi que leurs pesées et fixation (Originale, 2021).

A : Dissection d'un lapin mâle ; **B** : Prélèvement des épидидymes droits et gauches ;

C : Détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g.

3. Étude histologique

L'étude histologique est une étude importante qui permet une observation microscopique des tissus, elle se réalise en suivant certaines étapes spécifiques qui ont été mises en évidence par Martoja et Martoja (1967) dont : la fixation des échantillons, déshydratation et éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes et collage, déparaffinage et réhydratation, coloration topographique, observation des lames.

3.1 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 dommages pour les structures cellulaires. Elle permet notamment de les conserver dans un état aussi proche

que possible de l'état vivant et d'éviter les raccourcissements et les distorsions possibles, mais aussi de protéger les cellules de l'attaque bactérienne ou encore de celle des enzymes.

Le fixateur utilisé est le Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) appartenant à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Les organes sont placés dans des cassettes d'inclusion puis déposés dans un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement. Les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur à température ambiante (Figure23).



Figure 23 : Fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé (Original, 2021).

3.2 Déshydratation et éclaircissement

Les échantillons ont été déshydratés dans une série d'alcool éthylique à titre croissant (50°, 70°, 90°, 100°) pendant 40 min chacun, ceci permet d'éviter la désorganisation des structures, puis transférés dans des bains de xylène pendant 40 min pour l'éclaircissement (Figure 24).



Figure 24 : Série de bain d'alcool éthylique (Originale, 2021).

3.3 Imprégnation

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

3.4 Inclusion

L'inclusion est l'opération qui consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C. Les organes sont placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes respectives, identifiant chaque échantillon ont été placées à la surface des moules avant de faire couler la paraffine jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante (Figure 25).



Figure 25 : Organes placés dans des moules de paraffine et blocs de paraffine obtenue après inclusion (Originale, 2021).

3.5 Confection des coupes et collage

Des coupes fines de 2 à 5 μm d'épaisseur sur les blocs d'organes sont réalisées, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica au niveau de laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront incubées tout une nuit à 38°C dans une étuve pour fixer l'échantillon à la lame (Figure 26).



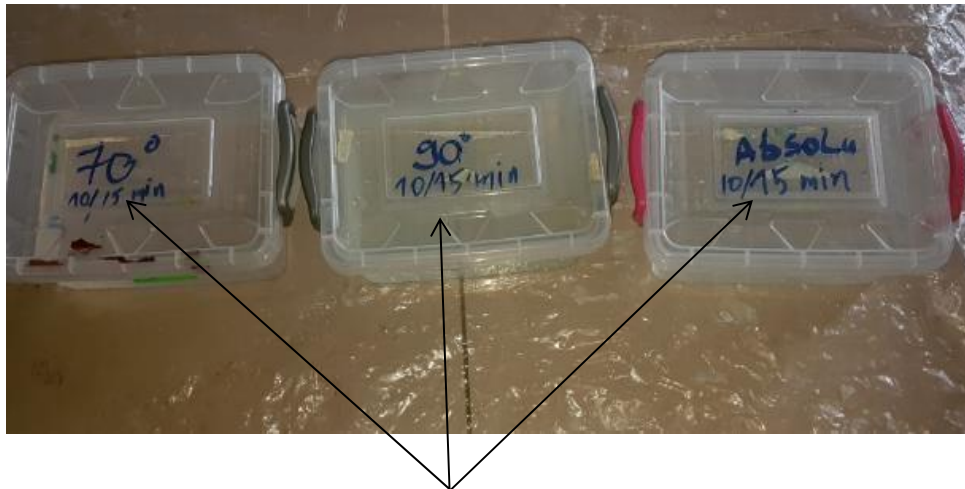
Figure 26 : Photographie d'un microtome à gauche et du bain Marie à droite. (Lakabi, 2017)

3.6 Déparaffinage et réhydratation

Avant de procéder à la coloration, les lames doivent être déparaffinées et placées 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, qui consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à des degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°) (Figure 27 et 28).



Figure 27 : Photographie de déparaffinage et hydratation en deux bains de xylène (Originale, 2021).



Bains d'alcool à degrés décroissants

Figure 28 : Photographie de déparaffinage et hydratation en bains d'alcool éthylique à des degrés décroissants (Originale, 2021).

3.7 Coloration topographique et Déshydratation

La coloration topographique a été choisie pour la coloration des échantillons de Trichrome de Masson (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Cette coloration permet de mettre en évidence (grâce aux colorants utilisés) le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes. Cette coloration est suivie d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 90°, 100°).



Figure 29 : Série d'une coloration topographique (Originale, 2021).

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

3.8. Montage

Le montage consiste à fixer à l'aide d'une goutte d'Eukitt une lamelle de verre sur l'échantillon histologique ce qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle puis effectuer une légère pression sur la lamelle pour chasser les bulles d'air (Figure30).

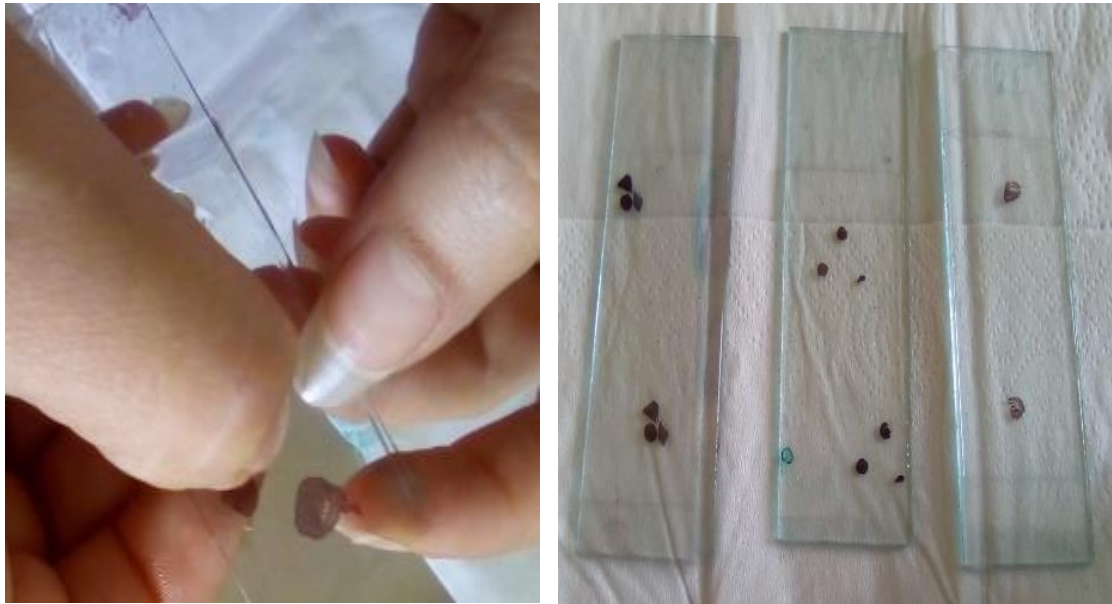


Figure 30 : Fixation d'une lamelle sur l'échantillon (Originale, 2021).

3.9 Observation des lames

L'observation des lames se fait à l'aide d'un microscope photonique de type optica qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des épидидymes (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Des photographies sont prises grâce à un appareil photo numérique, de ce fait le grossissement de l'observation change et est calculé de la manière suivante :

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

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



Figure 31 : Photographie de l'observation des lames (Original 2021)

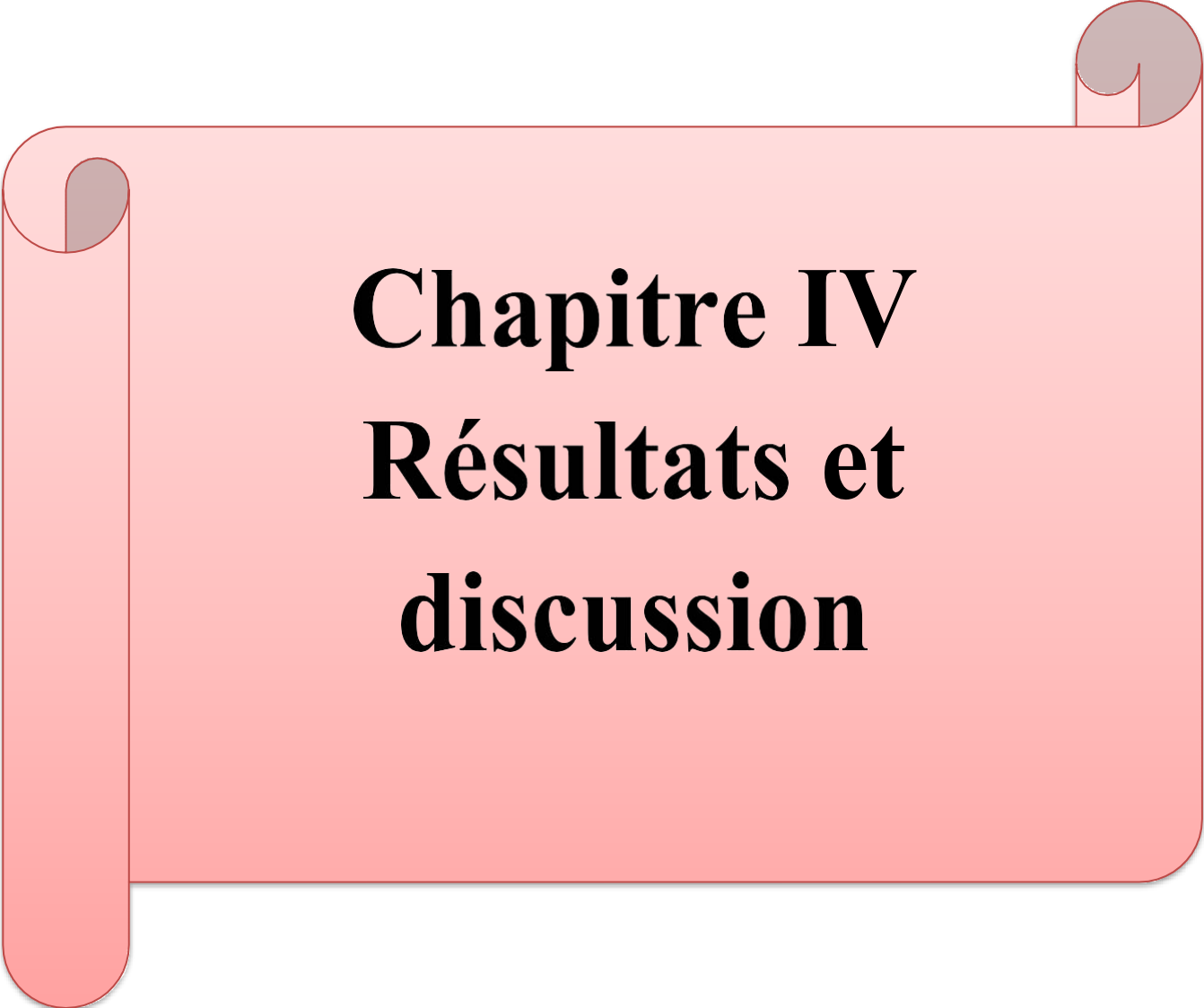
4. Étude statistique

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

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre, suivie par la valeur de l'erreur standard liée à la moyenne « ESM ».

La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logiciel informatique « OriginLab,2007 » et la valeur des probabilités « P » :

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



Chapitre IV

Résultats et discussion

Les résultats obtenus portent sur des paramètres macroscopiques avant et après administration de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, à savoir le poids corporel, le poids épididymaire et le poids épididymaire relatif, ainsi que sur des paramètres microscopiques révélant la structure histologique des épидидymes.

1. Résultats de l'étude macroscopique

L'étude macroscopique porte sur le poids corporel avant et après administration de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globuleuse*.

Ainsi que les poids épидидymaires et le poids épидидymaire relatif des lapins infantiles traités à deux doses différentes (dose 1 : 200µl/kg, dose 2 : 400µl/kg).

1.1. Poids corporel

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

La Figure 32, représente la valeur moyenne du poids corporel des lapins infantiles avant et après l'administration de 2 doses de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus*.

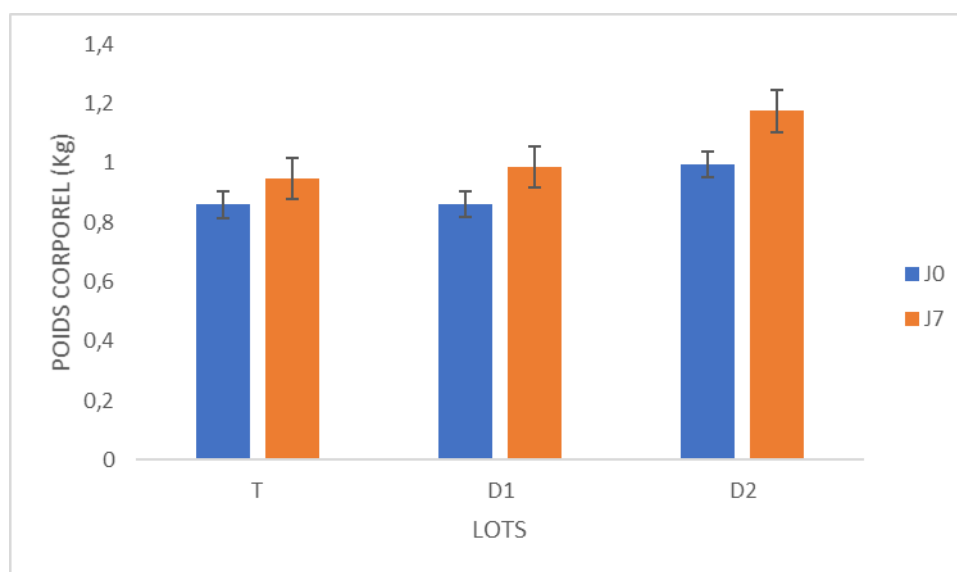


Figure 32 : Représentation graphique des poids corporels des lapins infantiles de la population locale avant et après traitement par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses différentes.

T : Témoin ; **J0 :** Poids corporel avant traitement ; **J7 :** Poids corporel après traitement ; **D1 :** Traité par l'*Eucalyptus globulus* à la dose 200µl /kg ; **D2 :** Traité par l'*Eucalyptus globulus* à la dose 400µl /kg.

Selon les résultats obtenus, une évolution du poids corporel des lapins est observée, en effet chez les différents lots entre le début et la fin de l'expérimentation avec un écart faible chez les témoins (0,088) et élevée chez les animaux traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à la dose 2 avec un écart de 0,18.

Le poids corporel à J7 est plus élevé chez les lots traités par rapport au lot témoin dont la valeur est de $0,948 \pm 0,104$ kg. Cependant, entre les lots traités par l'huile essentielle d'*eucalyptus globulus* à la dose 2 ($1,175 \pm 0,119$ kg) présente des valeurs plus élevées par rapport à ceux traités à la dose 1 ($0,986 \pm 0,108$ kg).

1.2. Poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles

Le poids de l'épididyme, en gramme, est exprimé par la valeur moyenne $\pm$ l'erreur standard liée à la moyenne (ESM).

Le poids moyen de l'épididyme gauches et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* administrée pour les lapins infantiles est représenté dans la (figure 33).

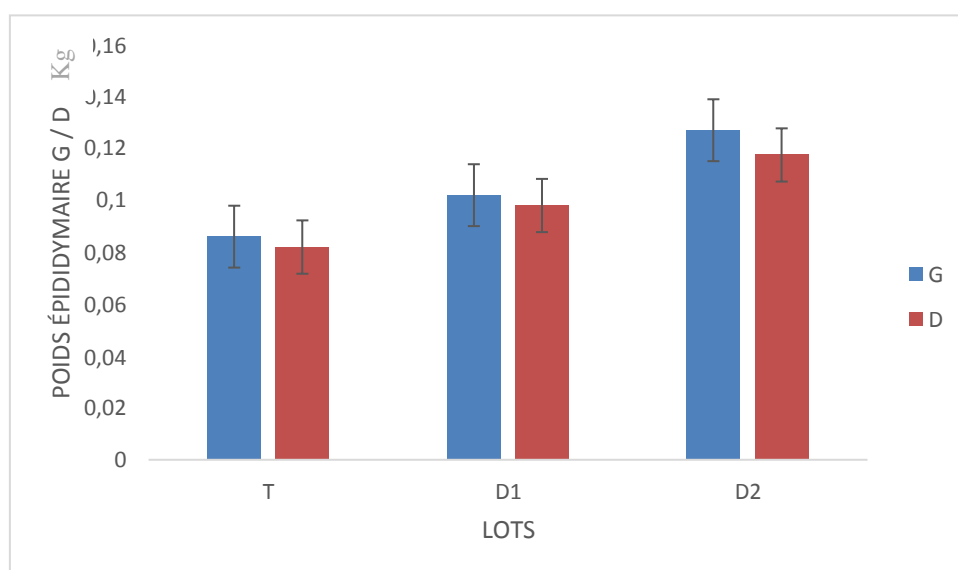


Figure 33 : Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles de la population local avant et après traitement par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses.

G : Epididyme Gauche ; **D :** Epididyme Droit ; **T :** Témoin ; **D1 :** Traité par l'*Eucalyptus globulus* à la dose 200µl /kg ; **D2 :** Traité par l'*Eucalyptus globulus* à la dose 400µl /kg.

La comparaison entre l'épididyme droit et gauche a révélé que ceux du lot témoin sont presque identiques alors que chez ceux traités par l'*Eucalyptus globulus* aux deux doses 200µl/kg et 400µl/kg, l'épididyme gauche est plus élevé que l'épididyme droit (Figure 33).

1.3. Poids total épидидymaire

Le poids total de l'épididyme pour les lapins infantiles en fonction de la dose de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* administrée est présenté dans la Figure 34.

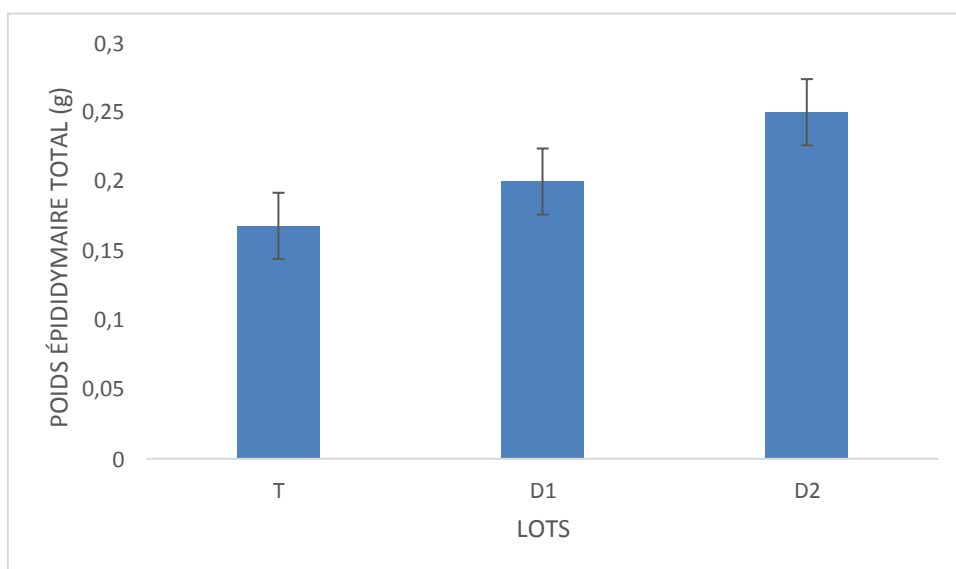


Figure 34 : Représentation graphique du poids total de l'épididyme des lapins infantiles de la population locale avant et après traitement par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses.

T : Témoin ; **D1 :** Traité par l'eucalyptus globuleuse à la dose 200µl /kg ; **D2 :** Traité par la dose l'eucalyptus globuleuse 400µl /kg.

La valeur moyenne du poids total de l'épididyme des lapins infantile enregistré durant notre expérimentation après l'administration de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (J7) est élevée chez les lapins traités par rapport aux témoins, dont la valeur est de $0,17 \pm 0,012g$, $0,20 \pm 0,031g$. Toutefois les animaux traités par ces les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* ont une valeur plus importante chez ceux traités par la dose 2 (400µl/kg) par rapport à ceux traités par la dose 1 (200µl/kg) avec les valeurs respectives de $0,25 \pm 0,040g$ et de $0,20 \pm 0,031g$ (Figure 34).

1.4. Poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel

Le poids relatif à 100 g du poids corporel des épидидymes des lapins infantiles est représenté dans la (Figure 35).

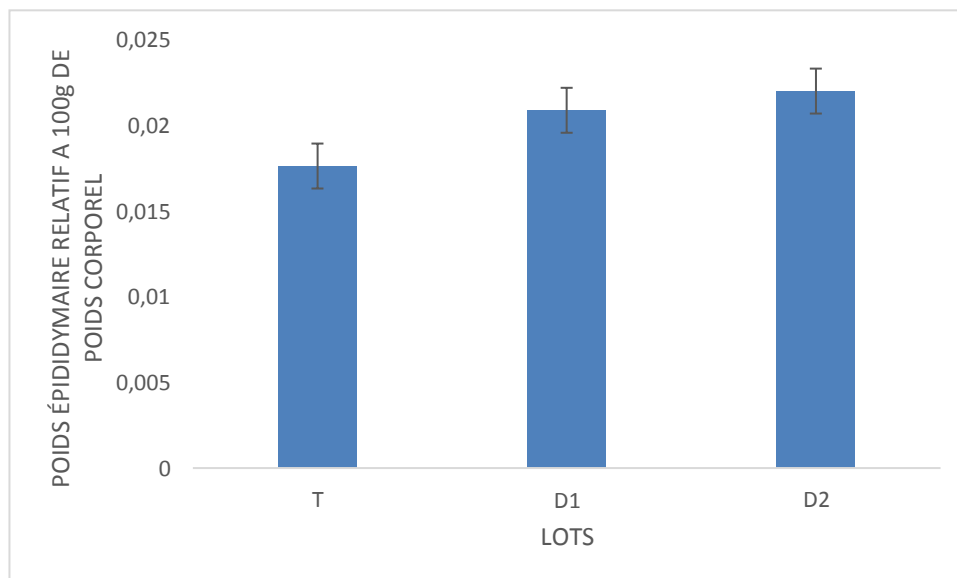


Figure 35 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins infantile de la population locale avant et après traitement par l’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* à deux doses.

T : Témoin ; **D1 :** Traité par l’*eucalyptus globulus* à la dose 200µl/kg ; **D2 :** Traité par l’*eucalyptus globulus* à la dose 400µl/kg ; PER : poids épидидymaire relatif.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes des lapins âgés de 1 mois présente une élévation chez les lapins traités par l’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* par rapport aux témoins. En effet la valeur est de 0.018±0.002g des lapins de lot témoin (T) alors qu’elle est de 0.020±0.0028g chez les lapins traités par la première dose (D1) et de 0.021±0.003g chez ceux traités par la dose 2. Les poids relatifs à la dose 2 (400µl/kg) sont plus importants que ceux traité a la dose 1(200µl/kg) (Figure 35).

2. Résultats de l’étude microscopique

Au cours de notre travail, nous avons réalisé une étude histologique des épидидymes chez les lapins infantiles appartenant à la population locale.

L’observation microscopique a été enregistrée, pour tous nos échantillons, avec le fort grossissement (x400) pour une observation plus détaillée des structures histologiques et cellulaires.

2.1. Épididymes des lapins témoins

L'observation au microscope photonique de la coupe histologique de l'épididyme des lapins témoins représentée dans la (Figure 36), montre des tubes maintenus entre eux par un tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives éparpillées, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

La lumière des tubes épидидymaires apparaît vide et dépourvue de spermatozoïdes et est entourée d'un épithélium cubique simple constitué exclusivement de cellules principales dépourvues de stéréocils émanant de leurs parties apicales.

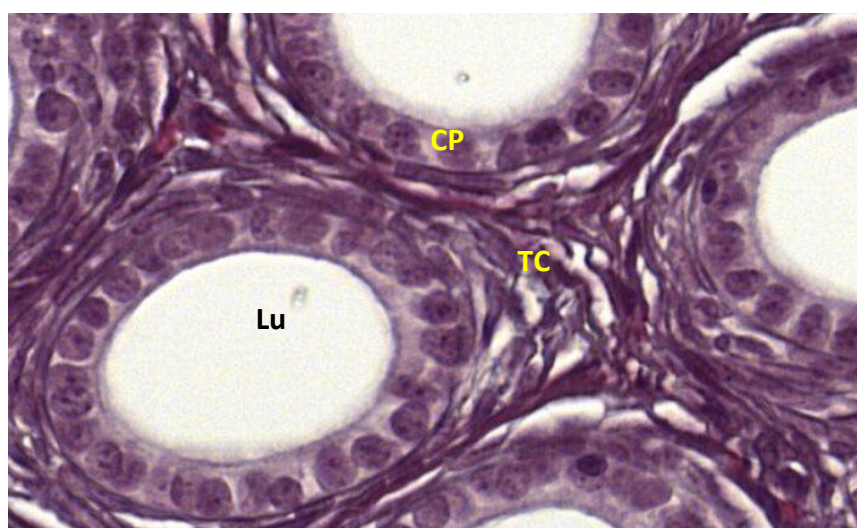


Figure 36 : Coupe histologique de l'épididyme des lapins infantiles témoins de la population locale (Originale, 2021)

Lu : lumière ; **TC** : tissu conjonctif ; **CP** : Cellule Principale

2.2. Épididymes des lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à la dose 1

L'observation de la structure histologique de l'épididyme des lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à la dose 1 a indiqué une transformation de l'épithélium épидидymaire de cubique chez les témoins vers un épithélium prismatic pseudostratifié avec apparition de quelques stéréocils au niveau du pôle apicale vers la lumière, ainsi un nombre considérable de cellule basale sont apparues tandis qu'elles sont totalement absentes chez le lot témoin (Figure 37).

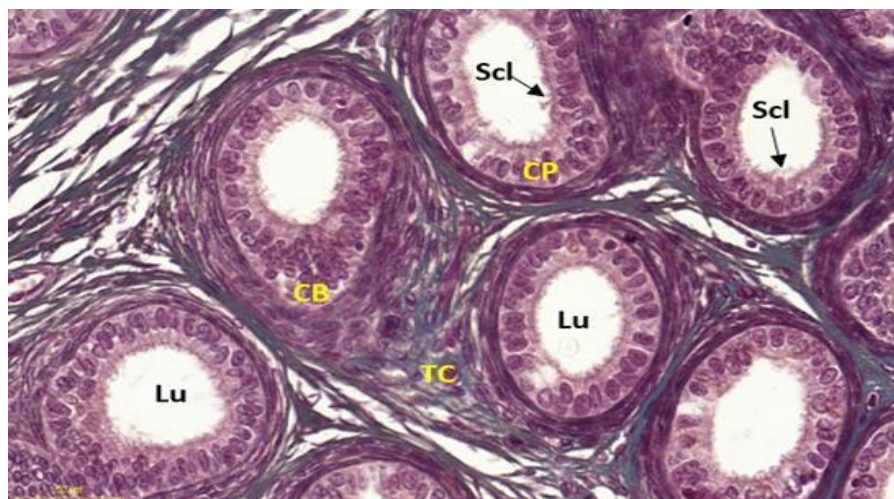


Figure 37 : Structure histologique de l'épididyme de lapin traite par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a la dose 1 (Originale, 2021)

Lu : lumière ; **TC** : tissu conjonctif ; **CP** : Cellule Principale ; **CB** : Cellule Basale ; **Scl** : stéréocil

2.3. Épididymes des lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à la dose 2

La structure histologique de l'épididyme des lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à la dose 2 est similaire avec ceux traités par la dose 1 avec un épithélium prismatique pseudostratifié. Toutefois, la hauteur de l'épithélium, la hauteur des stéréocils et leurs nombres ainsi que le nombre des cellules basales sont plus marqué chez ceux traités par la dose 2.

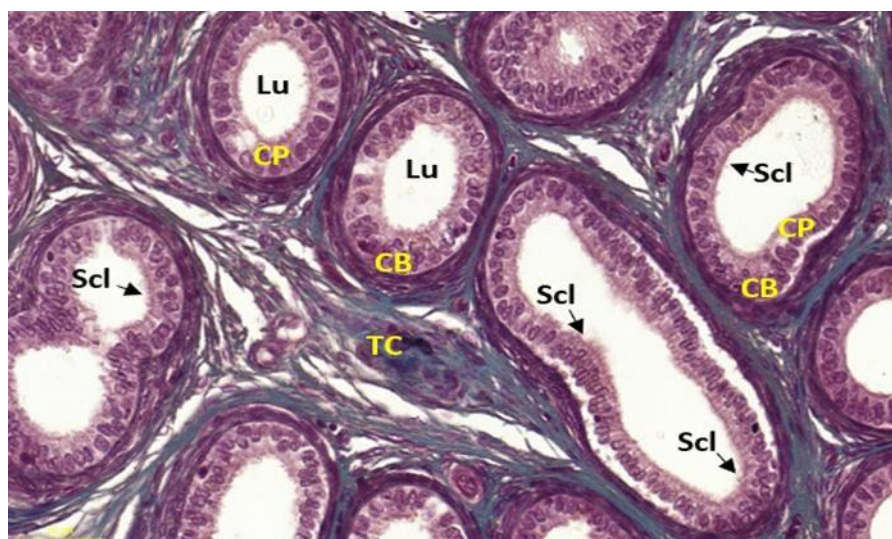


Figure 38 : Structure histologique de l'épididyme de lapin traite par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à la dose 2 (Originale, 2021)

Lu : lumière ; **TC** : tissu conjonctif ; **CP** : Cellule Principale ; **CB** : Cellule Basale ; **Scl** : stéréocil

3. Discussion des résultats

Les résultats obtenus portent sur les paramètres macroscopiques dont le poids corporel et le poids épидидymaire ainsi que sur la structure histologique des épидидymes chez les lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses différentes.

3.1. Paramètres macroscopiques

L'étude des paramètres macroscopiques (poids corporel et poids épидидymaire) montrent des valeurs plus importantes chez les lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par rapport à celles des témoins, de ce fait on constate que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a un effet sur le poids corporel et le poids épидидymaire.

L'augmentation du poids corporel et du poids épидидymaire est en corrélation avec l'augmentation de la dose administrée. En effet, ces paramètres macroscopiques sont plus importants chez les lapins traités par la dose 2.

Les résultats obtenus corroborent avec ceux obtenus par Abdi et Meziani (2019), et Bensalem et Rabia (2020) sur les huiles essentielles de la Menthe poivrée et du Romarin à verbénone qui ont engendré une hausse des paramètres macroscopiques (Poids corporel, poids et volume testiculaire et épидидymaire) qui est un indicateur de fertilité chez le lapin mâle.

Selon Micol et al. (1993) et Allrich et al. (1983), la croissance pondérale d'un animal résulte du développement du poids de chaque élément constitutif de son corps et les dimensions des testicules et de l'épididyme sont très corrélées avec l'âge, le développement et le poids corporel.

Soy et al. (2016) ont observé une augmentation du poids des rats traités par un extrait éthanolique des feuilles de *Mentha piperita* pendant 60 jours.

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

Selon Piles et al. (2003), la croissance pondérale d'un animal est un caractère extrêmement variable en fonction des facteurs génétiques, alimentaire et/ou environnementaux. Après la naissance la régulation de la croissance pondérale chez le lapin n'atteint la pleine efficacité qu'au bout de 100 jours (Vézinhet, 1968).

Haeri et al. (2006) ont noté une amélioration considérable de tous les paramètres évalués tels que la puissance, la fécondité, l'indice de fertilité et la taille de la litière après le traitement des rats par l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*), aux doses de 75, 150 et 225 mg / kg / jour pendant 45 jours.

Les recherches de Nantia et *al.* (2007) ont montré que le poids corporel des rats accroît avec le temps suite à un traitement par les extraits éthanolique des feuilles de *Mentha piperita* pendant 60 jours et méthanolique de la baselle appelée également épinard de Malabar « *Basella alba* L. » à la dose de 80µl pendant 30 jours qui ont été utilisés respectivement.

Selon Nassem et *al.* (1998), des extraits de graines de la margose appelée aussi melon amer « *Momordica charantia* » testés chez des rats pendant 35 jours ont montré une augmentation du poids épидидymaire, ce qui suggère que cet extrait possède des propriétés androgéniques.

3.2. Paramètres microscopiques

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a induit une transformation de l'épithélium épидидymaire cubique vers un épithélium plus développée de type prismatique pseudostratifiée riches en stéréocils. Ces modifications sont plus importantes chez ceux traité par cette huile essentielle à la dose 2 par rapport à la dose 1.

Les résultats obtenus corroborent avec ceux obtenus par Bensalem et Rabia (2020) qui a constaté que l'huile essentielle de la Menthe poivrée a engendré le déclenchement de la spermatogenèse chez le lapin mâle de la souche synthétique.

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

Al-Sa'aidi et *al.* (2009) observent lors de leurs études sur l'effet des extraits alcoolique de *Nigella Sativa* sur la fertilité du rat une augmentation significative du poids de l'épididyme, du diamètre et de l'épaisseur des tubes épидидymaires, ainsi qu'une augmentation de la hauteur des cellules épithéliales entourant l'épididyme chez les groupes expérimentaux.

Ainsi une autre étude sur l'effet de l'extrait aqueux de *Nigella sativa* sur la fertilité des rats mâles albinos à une dose de 300mg /kg qui a entraîné des effets similaires à celle de l'huile essentielle de *Satureja khuzestanica* (SKEO) et une augmentation du nombre des spermatocytes I et II et l'augmentation du nombre des cellules de Leydig ce qui reflète l'augmentation des taux d'androgènes (Mukhallad et *al.*, 2009).

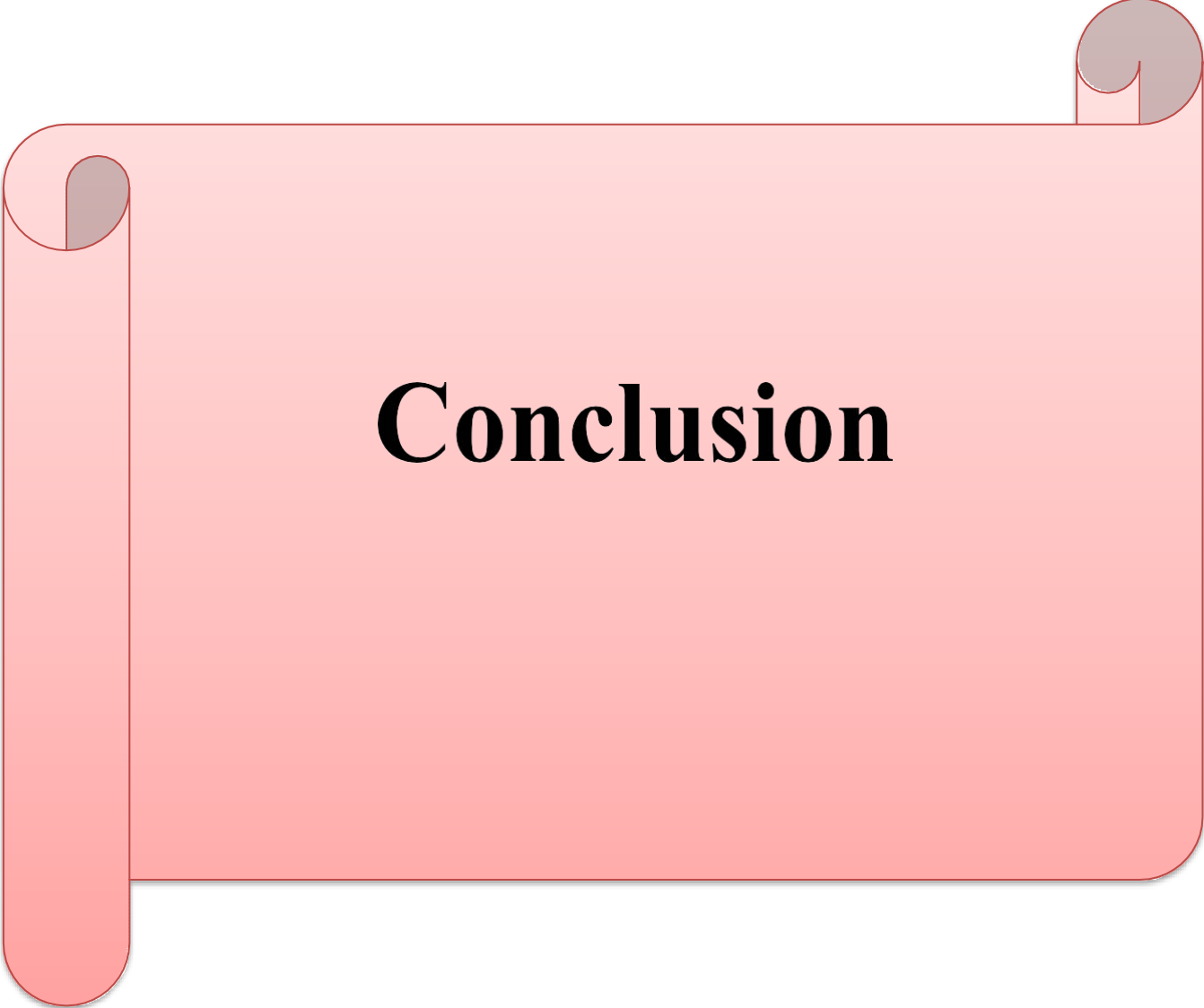
Par ailleurs, l'extrait de fleurs de benzène de *Hibiscus rosa sinensis* a une activité antifertilité. D'ailleurs l'administration de cet extrait à des rats albinos mâles, à la dose de 200

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 (Kumar *et al.*, 2014).

Une réduction dose-dépendante est observé pour le nombre de spermatozoïdes testiculaires, du nombre de spermatozoïdes épидидymaires la motilité et la numération anormale des spermatozoïdes chez les rats traités avec L'extrait aqueux de feuilles *Andrographis paniculata*. L'étude a révélé que cette extrait aqueux de les feuilles d' *Andrographis paniculata* est un puissant agent spermicide et anti-fécondité (Sathiyaraj *et al.*(2011).

L'administration de l'extrait aqueux de gousses sèches d'*Acacia nilotica* a été donné à des rats Wistar mâles à la dose de 200 mg/kg de poids corporel 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, possédant ainsi une activité antifécondante (Lampiao 2013).

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



Conclusion

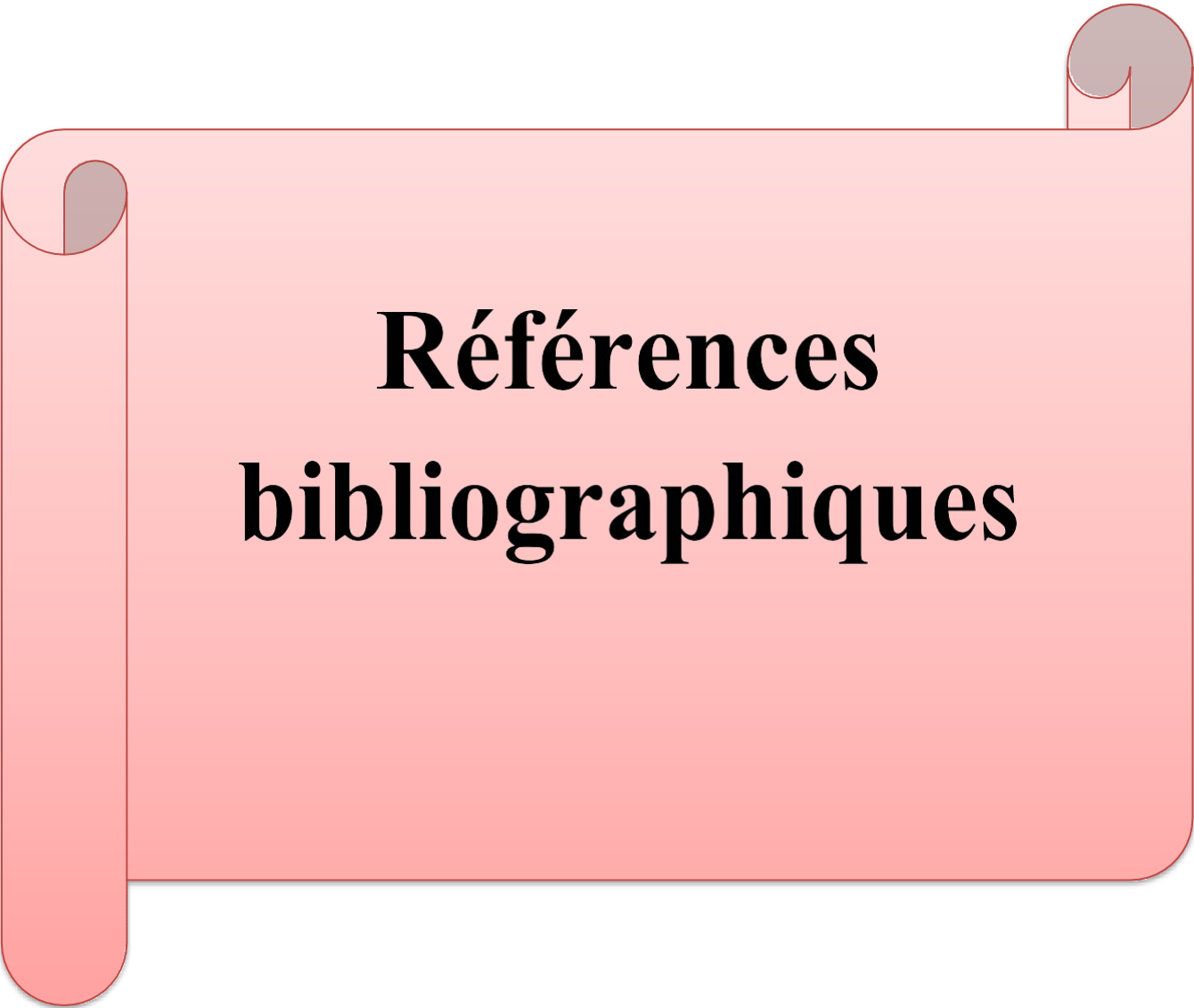
La présente étude a porté sur l'effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses différentes (200 µl/kg, 400 µl/kg) sur des lapins mâles infantiles de la population locale, nous a permis d'évaluer de façon expérimentale les changements qu'elle apporte au niveau macroscopique et microscopique, à savoir le poids corporel, le poids épидидymaires ainsi que leur structure histologique.

Les résultats obtenus ont permis de constater que les effets de l'huile essentielle *Eucalyptus globulus* sont dose dépendant car le poids corporel et épидидymaire augmente en fonction de la dose administrée avec un effet maximal à la dose 2 (400 µl/kg).

Sur le plan histologique, au niveau épидидymaire l'épithélium cubique des lapins témoin est devenu prismatique pseudo stratifié chez les lapins traités avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* avec développement des stéréocils à la dose 1(200ul/Kg), l'activité sécrétoire débute et un nouveau type cellulaire apparaît (cellules basales). A la dose 2 (400ul/Kg) les cellules principales deviennent plus abondantes avec une plus forte activité sécrétoire laissant une lumière d'un diamètre étroite, les stéréocils deviennent plus nombreux, les cellules basales sont plus nombreuses.

De ce fait il semblerait que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* administré aux doses de 200 µl/kg et 400 µl/kg a un effet positif sur le développement de l'épидidyme, la spermatogenèse et la fertilité des lapins infantiles. Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt :

- D'analyser la semence pour identifier les caractéristiques de la fertilité des lapins traités avec l'huile essentielle ;
- Étudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus ;
- D'effectuer cette expérimentation sur la fertilité féminine ;
- De réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand.



Références bibliographiques

A

- **Abe K., Takano H. et Ito T. (1983).** Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. *Archiv. Histo.Jap.*, 46 (1) : 51-68.
- **Abou- Haïla A., et Fain-Maurel, M. A. (1984).** Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: morphological and histochemical characterization. *The Anat.Rec.*, 209 (2) : 197-208.
- **Abraham L. et Kierszenbaum M.D. (2002).** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. *Éditions Boeck*, Paris : 529 p.
- **ABDI T. et MEZIANI F. (2019).** Effet de deux huiles essentielles ; Menthe Poivrée et Romarin à Vérébnone à de doses différentes (300µl/kg ; 400µl/kg) sur les structures gonadiques (testicules et épидидymes) chez les lapins mâles infantiles, mémoire de Master UMMTO, Algérie : 76 p.
- **Adamali H.I. et Hermo L. (1996).** Apical and narrow cells are distinct cell types differing in their structure, distribution, and functions in the adult rat epididymis. *J. Androl.*, 17 : 208-222.
- **Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Gravel R.A., Trasler J.M. et Hermo L. (1999).** Characterization and development of the regional- and cellular specific abnormalities in the epididymis of mice with beta-hexosaminidase a deficiency. *J. Androl.*, 20 : 803-824.
- **Aitken R.J., Nixon B., Lin M., Koppers A.J., Lee Y.H. et Baker M.A. (2007).** Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation. *Asian J. Andro.*, 19: 554-564.
- **Allrich R.D., Christenson R.K., Ford J.J. et Zimmerman D.R. (1983).** Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17 beta. *Bio. Reprod.*, 28 (4) :902-909.
- **Al-Saaidi JA., AL-Khuzai ALD.et Al-Zobaydi NFH. (2009).** Effect of alcoholic extract of Nigella Sativa of fertility in male rats. *Supplement*:123-128.
- **Alvarino J.M.R. (1993).** Control de la reproduction en el conejo. Édition *Mundi-Prensa* :137 p.
- **Alvarino J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In : Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia : 135 p.

- **Amann R.P. (1993).** Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL (eds), Equine Reproduction, 1ed., Lea et Febigereds, Philadelphia: 1137-1154.
- **Annick N. (2014).** Mécanismes moléculaires impliqués dans la répression de la stéroïdogenèse des cellules de Leydig par les plastifiants et les organochlorés. Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire. Université LAVAL, Canada : 282 p.
- **Aurore Britan J.R. (2016).** Drevet androgeinie. *Andrologie*, 16: 197-227.

B

- **Badran H.H. et Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the testis efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *J.andro.*, 23: 358-373.
- **Dadoune R., Pavaux C., Blin P.C. et Cuq P., (1973).** Atlas d'anatomie du lapin, *éditions Masson*, Paris : 220 p.
- **Barone R. (1978).** Color atlas of veterinary anatomy. *Anat. Rec.*, 1-2: 59-64
- **Barone R. (1984).** Anatomie comparée des mammifères domestique, tome 2 : Splanchnologie 1, appareil digestif, appareil respiratoire. Editions Vigot, Paris : 853p.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot Frères, Paris : 896 p.
- **Bashandy S. (2007).** Effect of fixed oil of nigella sativa of male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *internatinal journal pharmacology* 14 (1):27-33.
- **Bedford J.M. (1979).** Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. In : fawcett dw, Bedford JM (éd). The spermatozoa. Baltimore : 138 p.
- **Bell, Diana J. et Susan Mitchell. (1984).** Effects of female urine on growth and sexual maturation in male rabbits. *Reproduction*, 71: 155-160.
- **Beloued A. (1998).** Medicinal plants of Algeria. Alger: Office of University Publications, 62.
- **Beltramo M., Dardente H., Cayla X. et Caraty A. (2014).** Cellular mechanisms and integrative timing of neuroendocrine control of GnRH secretion by kisspeptin. *Mol. Cell. Endocrinol.* 382 : 387-399.
- **Benazzouz A., Hamdane A.** Etude et analyse des plantes médicinales Algérienne : *Mentha pulegium*, *Mentha rotundifolia* et *Mentha spicata* L Juillet 2012 UNIVERSITE DE UMMTO, Algérie ; 222 p).

- **Bensalem K. et Rabia H. (2020).** Effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée (*Mentha piperita*) à cinq doses différentes sur la structure épидидymaire des lapins mâles infantiles de la population blanche, mémoire Master UMMTO, Algérie : 66 P.
- Bechiche M. et ZERROUKI N., (2000). Reproduction des femelles des populations locale : Essai d'évaluation de quelques paramètres en élevage rationnel. 3^{ème} journée de recherches sur les productions animales « *conduite de performance d'élevage* ». Université de Tizi-Ouzou : 293 p.
- **Berger M., Jean-Faucher C.H., De., Turckheim M., Veyssiere G., Ianc M.R., Pairier J.C. et Jean C. (1982).** Testostérone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* 99 : 459-465.
- **Bonnes G., Des Claude J., Drogoul., Gadoud R., Jussian R., Le lo'h A., Montémas L. et Robin G. (2005).** Reproduction des animaux d'élevage. 2^{ème} Ed. Edition du Cagri : 470 p.
- **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, *oryctolagus cuniculus*. *proc. zool. Soc. lond.* 114, 1-114.
- **Boiti C. (2005).** Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Sci, WRSA*, UPV, 2003 : 72-8.
- **Breton S. et Da Silva N. (2012).** Rôle de l'épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer.* 1 : 1-20.
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edition Association Française de Cuniculture, France : 240 p.
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. Edition Association française de cuniculture, France, diffusion Lavoisier TEC & DOC : 17-34. Iculture.info/docs/indexbiol.htm. (Accès 03/2009).
- **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, *oryctolagus cuniculus*. *proc. zool. Soc. lond.* 114, 1-114.

C

- **Castellini C. (2008).** Semen production and management of rabbit bucks. Dept. Of Applied Biology, University of Perugia, Italy, *9th World Rabbit Congress-June* 10-13

- **Chemes H.E. (2001).** Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*, 24 : 2-7.
- **Cheung K.H., Leung G.P., Leung M.C., Shum W.W., Zhou W.L et Wong P.Y. (2005)** Cell–cell interaction underlies formation of fluid in the male reproductive tract of the rat. *J. Gen. Physiol*, 125: 443-454.
- **Cohen J.P., Hoffer A.P. et Rosen S. (1976).** Carbonic anhydrase localization in the epididymis and testis of the rat: histochemical and biochemical analysis. *Biol. Reprod.* 14 : 505-517.
- **Cooper T.G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *Journal Reproduction and Fertility Suppl*, 53: 119-136 p
- **Cornwall G.A., and Hsia N. (2003).** A new subgroup of the family 2 cystatins. *Mol Cell Endocrinol* 200, 1-8.
- **Couderc V. (2001).** Toxicité des huiles essentielles. Thèse Méd. Vét. Ecole Nationale vétérinaire de toulouse n°4106.
- **Cyr D.G., Gregory M., Dube E., Dufresne J., Chan P.T., Hermo L. (2007).** Orchestration of occludins, claudins, catenins and cadherins as players involved in maintenance of the blood-epididymal barrier in animals and humans. *Asian J. Androl.*, 9: 463-475.

D

- **Dadoune J.P., Hadjhsy P. et Vendlly J.P.S. (1990).** Histologie. Edition Médecine Science Flammarion, France : 352-353.
- **Dadoune J P., Hadjhsy P., Siffroi J P et Vendrel E. (2000).** Histologie. Edition Médecine Science Flammarion (2^{ème} Edition) : 229-246 p.
- **Dadoune J.P. et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et chez l’homme. *Ed INRA*, Paris : 256-289.
- **Damien baudiffier. (2012).** Modes de perturbation de la stéroïdogénèse testiculaire et de la spermatogénèse chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) par des fongicides azolés. Thèse : biologie école doctorale VAS, université de RENNES : 192 p.

- **Dohle GR., Smit M., et Weber RF. (2003).** Androgens and male fertility. *World J. Urol.*, 21 (5):341-345.

E

- **EL kalamouni C. (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. 2010. Thèse de Doctorat à Université de Toulouse, INPT, France : 263 p.
- **Ewula E.O. et Equnike G.N. (2010).** Effects of dictaryfumonisin B1 on the onset of puberty, semenquality, fertlityrates and testicularmorphologyin male rabbts. *Reproduction*. 139 :439-45.

F

- **Fawcett D.W. (1975).** Le spermatozoïde mammifère. *Biologie du développement*, 44 (2), 394-436.
- **Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000).** Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.
- **Flickinger C.J, Howards S.S et English H.F. (1978).** Ultrastructural differences in efferent ducts and Several regions of the epididymis of the hamster. *Am J Anat* 152, P557-585.
- **Fortun-Lamothe, L., Gidenne, T., Lebas, F., Savietto, D., Dorchies, P., Duperray, J., Davoust, C. (2015).** Nutrition et alimentation. *Le lapin. De la biologiea l'élevage*, 152-196.
- **Frolich A. (1948).** Some factors affecting semen production in rabbits. Primo. congo intern. fisiopat. h.iprod. Animal fecond. artif., milano.
- **Frend R., Bogerd J., França L. et Vilela D.A.R. (1973).** La fonction reproductive masculine. *Organisation de la Santé*, Genève, 520 : 6-11.

G

- **Gaddum P. (1968).** Maturation du sperme dans l'appareil reproducteur masculin : développement de la motilité. *Le dossier anatomique*, 161 : 471-482.

- **Gayrard V. (2007).** « Physiologie de la reproduction des mammifères ». Thèse de Doctorat, école vétérinaire de Toulouse :198 p.
- **Girouard J. (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes b vins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC : 218 P.
- **Glover T. D. et Nicander L. (1971).** Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. *Journal of reproduction and fertility. J Reprod Fertil Suppl*, 13: 39-50.
- **García-Tomás, M., J. Sánchez, and M. Piles. (2009).** Postnatal sexual development of testis and epididymis in the rabbit: Growth and maturity patterns of macroscopic and microscopic markers. *Theriogenology*, 71 : 292-301 p.
- **Grasse P. (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie. Paris : Édition. *Masson et Cie* : 979 p.

H

- **HAMILTON D.W. (1990).** Anatomy of mammalian male accessory reproductive organs. *Marshall's physiology of reproduction*, vol. 2: 691-746.
- **Hazard J. Et Perlemuter L. (2000).** Endocrinologie, Abrégé. Edition Masson, Paris : 363- 375.
- **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.
- **Hermo L., Adamali H. I. et Andonian S. (2000).** Immuno localization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J. Androl.*, 21: 376- 391.
- **Hermo L. et Robaire B. (2002).** Epididymal cell types and their functions. In: Robaire B., Hinton B.T. *The epididymis: From Molecules to Clinical Practice*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York : 81-102.
- **Hermo L., Chong D.L., Moffatt P., Sly W.S., Waheed A. et Smith C.E. (2005).** Region- and cell-specific differences in the distribution of carbonic anhydrases II, III, XII, and XIV in the adult rat epididymis. *J. Histochem. Cytochem.*, 53 : 699–713.

- **Hiroe K. et Tomizuka T. (1965).** Effets d'un environnement à température élevée sur la production de sperme chez les animaux domestiques. (Jap.) - bulletin of the national Institute of animal industry, japan no 9, 27-3s.
- **Hinton B.T., Palladino, M.A., Rudolph, D., & Labus, J. C. (1995).** The epididymis as protector of maturing spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development.*, 7(4): 731-745.
- **Ho H. C. et Suarez S. S. (2001).** Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and regulation. *Reproduction* 722: 519-526.
- **Hoffer A. P., Hamilton D. W. et Fawcett D. W. (1973).** The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat. Rec.* 175 : 169-201.
- **Holtz W., Foote RH. (1978).** The Anatomy of the reproductive system in male Dutch Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with special emphasis on the accessory sex glands. *J. Morph.*, 58: 1-20.
- **Houmadi A.,Décembre .(2007).** Maitrise des cycles sexuels chez les Bovins : application de traitements combinés à base de progesterone-PGF2-PMSG et progestagene-PGF2-PMSG.Mémoire de Master2, Zootechnie.,IPR/IFRA de Katibougou Mali : 60 p.

J

- **Johnston D.S., Jelinsky S.A., Bang H., Di Candeloro P., Wilson E., Kopf G.S. et Turner T.T. (2005).** The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biol.Reprod.* 73 : 404-413.
- **John K., Amory, and William J. Bremner. (2003).** Regulation of testicular function in men: implications for male hormonal contraceptive development. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* 85: 357-361.
- **JOLY T. et THEAU C.M. (2000).** Reproduction et Physiologie de la Reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture, ISARA–FESIA, 31 place Bellecour - 69288 Lyon
- **Jones R., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1979).** Morphology of the epithelium of the extra testicular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am J Anat.* 156 : 373-400.

K

- **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 Intoxications chez les animaux de compagnie. Edition Maloine, Paris : 986 p.
- **Kamtchouing P., Fandio GYM., Dimo T. et jasta HB. (2002).** Evaluation of androgenic activity of *Zingiber officinale* and *pentadiplandra drazzeana* in male rats. *Asian J Androl.*4:299-301.
- **Kasa I.W. et Thwaites C.J. (1992).** Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8h on either 1 or 5 days. *J.App. Rabbit Res.* 15: 500-568.
- **Koziol N. (2015).** Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité, et toxicité. Thèse doctorale à l'université de Lorraine. 2015 : 97p.
- **Kuçukyilmaz K., Kigma Z., AKdag A., çetinKaya M., AtalayH., Ates A., Gursel F.E.et BOZKurt M.(2017).** effet of lavender (*Lavandula stoechas*) essential oil on growt animal. *Reprod.* 47: 178-186.
- **Kumar V., Kural MR., Pereira BMJ. Et Roy P. (2008).** Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food ChemToxicol*, 46: 3563.
- **Kumar. D., Agrawal. C.P, Mishra D.D et Singh V. (2014).** Effet anti-fertilité de l'extraïtde benzène de fleurs d'*Hibiscus rosa sinensis* L. sur le système reproducteur chez des rats mâles albinos. *Indian J.Applied Pure Bio.*,29 (2): 215-217

L

- **Lakabi L. (2017).** Etude développement postnatal des structures gonadiques et qualité de la semence du lapin mâle de la population blanche. Thèse de doctorat, UMMTO, Algérie : 148 p.
- **Lampiao F. (2013).** Les effets anti-fertilité d'*Acacia nilotica* chez les rats mâles Wistar. *Journal de Reproduction Infertilité*, 14 (1) : 39-42.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H., (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, Rome : 1984-298 p.
- **Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** Le lapin : élevage et pathologie. Collection F.A.O : *producton et santé animale* : 1-210.
- **Lebas F., Coudert p., Derochambeau H. et Thibault R.C. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie. *Nouvelle édition FAO, Rome* : 227 p.

- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle.
<http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (Accès 06/2020).
- **Lebas F., Gacem M., Meftah I., Zerrouki N. et Bolet G. (2010).** Comparison of reproduction performances of a rabbit synthetic line and of rabbits of local populations in Algeria, in 2breeding locations - First results.
- **Leesson T.S et Leeson R.C. (1976).** Histologie. Masson. Barcelone Milan pages : 388-403. Luminal content. *Biol Reprod* 61, 705-714.
- **Le Moigne A. et Foucrier J. (2009).** Biologie du développement. 7ème Edition. DUNOD Inc, Paris : 200 p.
- **Lin T., J.K. Calkins,P.L.Morris, W.Vale et C.W.Bardin(1989).**Regulation of Leydig cell function in primary culture by inhibin and activin. *Endocrinology* 125(4): 2134-40.
- **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 8 (1): 1-29.
- **Lunstra D.D. et Cundiff L.V. (2003).** Growth and pubertal development in Brahman-, Boran-, Tuli-, Belgian Blue-, Hereford- and Angus-sired F1 bulls. *J. Anim. Sci.* 81 (6): 1414- 1426.
- **Luzi F., Maertens L., Mtjten P.et Pizzi F. (1996).** Effect pf feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. In *Processe. : 6th Word Rabbit Congres., Toulouse, 2,87-92.*

M

- **Mandal D.K., Singh K. et Tyagi S. (2004).** Age related changes in body size and gonadal development of growing Frieswal bulls. *Indian J. Anim. Sci.* 74 (1) : 31-34.
- **Marieb E.N. (1999).** Anatomie et physiologie humaines 2ème édition.DeBoeck université.
- **Marieb N.E. (2006).** Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd. Renouveau pédagogique, France : 1096 p.
- **Marieb E.N (2008).** Biologie humaine : Principe d'anatomie et de physiologie. Edition Pearson / Education (8ème édition) : 571-578 p.
- **Marie Saint-Dizier et Sylvie Chastant-Maillard (2014).** La Reproduction animale et humaine. Éditions Quae, Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France *tome 167 n°4*, 2014. 355-357.
- **Marthin H. J. et Barry J. E. (2001).** Reproduction. De Boeck, Paris : 298 p.

- **Martinet L. (1973).** Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, Session ITAVI Toulouse, sept : 1973.
- **Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R. et Nistal M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andr.*, 27: 195-206.
- **Marie Saint-Dizier et Sylvie Chastant-Maillard (2014).** La Reproduction animale et humaine. Éditions Quae, Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France tome 167 n°4, 2014. 355-357.
- **Martoja R. et Martoja M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et cie, Paris : 343.
- **Mc Graw-Hill (2007)** Eyclopedia of science and technology, 10 th Edition,
- **Micheline M., Bernard V., Marie-Laure K., Serge C. Et René H. (1999).** GnRH et récepteur du GnRH dans les gonades du rat : expression et régulation de leurs ARN messagers chez les fœtus et chez le mâle adulte, Thèse de doctorat : Endocrinologie et interactions cellulaire. Université de Paris-Sud. Faculté de médecine (Le KremlinBicêtre, Val-de-Marne) :121-154 P.
- **Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993).** Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Production Animale*. 6 (1) :6169.
- **Migaud M., Dardente H., Keller M., Batallier M., Meurisse M., Pillon D., PRC, CNRS, IFCE, et INRA. (2016).** Contrôle neuroendocrinien de la reproduction chez les mammifères. Université de Tours, 37380, Nouzilly, France.
- **Mohammad M.A., Mohamad M.M., et Dradka H. (2009).** Effects of black seeds (*Nigella sativa*) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences.*, vol. 4 (2): 386-390.
- **Moore H.P. et Kelly R.B. (1985).** Secretory protein targeting in a pituitary cell line: differential transport of foreign secretory proteins to distinct secretory pathways. *J. Cell. Biol.* 101:1773 1781
- **Morakinyo A O., Adeniyi OS. Et AriKawe AP., 2008.** Effects of Zingiber Officinale on r productive functions in the male rat. *Journal biomedicalresearch.*, Vol. II : 329-334.
- **Muller Y. et Clos J. (1997).** La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris : 9-31. Paris, 220 p.

- **Mukai C. et Okuno M. (2004).** Glycolysis plays a major rôle for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *BiolReprod.*, vol. 71 : 540-547.
- **Mukhallad A., Mohamad A. et Hatham D. (2009).** Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med MedSci*, 4 (2), 386-390.

N

- **Nantia E.A., Moundipa P.F., Beboy NS., Moussees TK. et Carreau S. (2007).** Etude de l'effet androgénique de l'extrait au méthanol de *Basella alba* L. (Basellaceae) sur la fonction de reproduction du rat mâle. *J. andro*, 2: 129-133.
- **Nassem M.Z., Patil S.R. et Patil S.B. (1998).** Anti-spermatogenic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albino rats. *Journal of ethnopharmacology*, 61 : 9-16.
- **Noblanc A., Kocer A., et Drevet J. (2012).** Protection post-testiculaire des gamètes mâles contre les dommages radicalaires. *Médecine Science*. 28: 519 – 525.

O

- **Olson G.E. et Hinton B.T. (1985).** Regional differences in luminal fluid polypeptides of

P

the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J. Androl.*, vol. 6: 20–34.

- **Pariest C.C., Feinberg J.M., Dacheux J.L. et Weinman S.J. (1985).** Changes in calmoduline level and cAMP dependent protein kinase activity during epididymal maturation of spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 74: 105-112.
- **Pollanen P. et Cooper T.G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J Reprod Immunol.* 26, 167-216.
- **Piles M., Gianola D., Varona L. et Blasco A. (2003).** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J. Anim. Sci.* 81: 2714–24.

- **Pinilla L., Aguilar E., Dieguez C., Millar R.P. et Tena-Sempere M. (2012).** Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.*, 92, 12
- **Prins SG; Brich L. et Greene GL. (1991).** Androgen receptor localization in different cell types of the adult rat prostate. *endocrinology*. 129: 3187-99.
- **Prud'hon M. (1973).** La reproduction des lapins cours photocopié : 25p

R

- **Ramé, Alain., Sylvie T. et Héron N. (2007).** Anatomie et physiologie. Elsevier Masson SAS, Paris : 592 p.
- **Ramos A.S. et Dym M. (1977).** Fine structure of monkey Epididymis. *Am J Anat.* 149 : 501-531.
- **REJRAJI H. et DREVET R. (2004).** Sécrétions apocrines dans le tractus génital mâle : Rôles potentiels dans la maturation des gamètes. *Andrologie*. 14, N°22-33.
- **Robaire B., Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In *The Physiology of Reproduction* 999- 1080 Eds E Knobil et J Neill. Raven Press, New-York
- **Robert C. et Vincent P. (1995).** Biologie Physiologie Humaine. Edition Vuibert, Paris : 700 p.
- **Robaire B. et Viger R.S. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol Reprod.* 52 :226-236.
- **ROBAIRE B., SYNTIN P., JERVIS K. (2000):** The coming of age of the epididymis. Springer-Verlag, New-York: 229-262.
- **Robaire B., Hinton B.T. et Orgebin-Crist M.C. (2006).** The epididymis. In: Neill J.D. *Édition Physiol. of Reprod*, New York: 1071-1148.
- **Roger T. (2002).** Contribution à l'étude anatomique de l'appareil Uro-Genital mâle du grand aulacode. Université Cheikh Anta Diop De Dakar : 20 p.
- **Roser J.F. (2008).** Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. *Anim.Reprod.Sci.* 107 (3-4) : 179- 196.
- **Russel L.D. et Griswold M.D. (1993).** The Sertoli cell. Cache River press, Clearwater, FL. 826 p.
- **Roustan A. (1992).** L'amélioration génétique en France : le contexte et les acteurs. Le lapin. *Productions animales*, 45-47.

- **Rowley M.J. Teshima F. et Heller C.G. (1970).** Duration of transit of spermatozoa through the human male ductular system. *Fertil. Steril.* 21: 390–396.

S

- **Sabbagh M. (1983).** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de DAKAR, Ecole Inter-Etats des Sciences et Vétérinaires : 113 p.
- **Saez, J.M. (1994).** Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocr. Rev.*, 15 (5) : 547-626.
- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J. Androl.*, 13: 11-17.
- **Salhab S.A., Zarkawi M., Wardeh M.F., Al-Masri M.R. et Kassem R. (2001).** Development of testicular dimensions and size, and their relationship to age, bodyweight and parental size in growing ram lambs. *Small Ruminant Res.* 40: 187- 191.
- **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.
- **Schinckel A., Johnson R.K., Pumfrey R.A. et Zimmerman D.R. (1983).** Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 56 (5) : 1065-1076.
- **Schulz R.W., Menting S. Bogerd J., França L.R. et Vilela D.A.R. (2005).** Sertoli cell proliferation in the adult testis—evidence from two fish species belonging to different orders. *Biology of reproduction.* 73 (5): 891-898.
- **Seiler P., Cooper T.G. et Nieschlag E. (2000).** Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int. J. Androl.* 23 : 65-76.
- **Setchell B.P., Maddocks S. et Brooks D.E. (1994).** Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. *The physiology of reproduction* : 1063-1175.

- **Serre V. et Robaire B. (1999).** Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol. Reprod.*, 61 : 705-714.
- **Sherwood I. (2015).** Fundamentals of human physiology, 4th edition. De Boeck Supérieur, Belgique, 750 p.
- **Siffroi J.P. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. 1-45 p
- **Soranzo L., Dadoune J.P. et Fain-Maurel M.A. (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod. Nutr. Dev.* 22 : 999-1012.
- **SOY A., SAHU R. et Rath S. (2016).** A Histomorphological study of the effect of Mint on the testes of albino rats. *J. den. Med. Sci.*, 4 : 32-35.
- **Soy A., Sahu R. K. et Rath S. (2018).** A histomorphological study of the effect of mint on the testes of albino rats. *Journal of the Anatomical Society of India.* 67 : 35.
- **Skinner J. D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.* 14 : 151-154.
- **Sullivan R. (2004).** Male fertility markers, myth or reality. *Anim. Reprod. Sci.*, 83 : 341-347.
- **Sullivan R., Saez F., Girouard J. and Frenette G. (2005).** Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cells Mol Dis.*

T

- **Takano H. (1980).** Qualitative and quantitative histology and histogenesis of the mouse epididymis, with special reference on the regional difference. *Acta Anat Nippon.* 55 : 573-587.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition, édition. Ellipses Paris : 258-260-276 p
- **Theau-clemen M. (2005).** Préparation de la lapine à l'insémination : *analyse bibliographique*. 11èmes journées de la recherche cunicole, Paris, 9-30 novembre 2005, 67-82.
- **Tilbrook A.J., Clarke I.J. (2001).** Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males. *Biology of reproduction* 64, issue 3, 1 march 2001, Pages 735-742.

- **Tortora G. J., Grabowski S. R. et Parent J.C. (1995).** Biologie humaine Cytogénétique régulation-reproduction. Edition CEC, collégial et universitaire : 311- 322 p
- **Tortora A., Gerard J. (2007).** Principe d'anatomie et de physiologie. Edition de boeck. Canada 11ème édition : 1341 p.
- **Trasler J.M., Hermo L. et Robaire B. (1988).** Morphological changes in the testis and epididymis of rats treated with cyclophosphamide: a quantitative approach. *Biol. Reprod.*,38: 463–479
- **Turner R.M. (2003)** Tales from the tail: what do we really know about sperm motility. *J Androl*, 24(6):790-803.

V

- **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec.-Université Claude Bernard - Lyon 1 France: 1-4.
- **Veri J.P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocyto chemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J. Androl.* 14 : 23-44.
- **Vézinhet A. (1968).** Effets de l'hypophysectomie sur la croissance pondérale du lapin. *Acad. Sci. Ser.*, 266 : 2348-2351.
- **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

W

- **Wargo M.J., Smith EF. (2003).** Asymmetry of the central apparatus defines the location of active microtubule sliding in chlamydomonas flagella. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(1) : 137- 142.
- **Welsch U. (2002).** Précis D'histologie. Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique. Édition. Médicales internationales, Tournai (Belgique) : 260 p.
- **Wosnitzer M.S. et Paduch D.A. (2013).** Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 163. (1) :16-26.

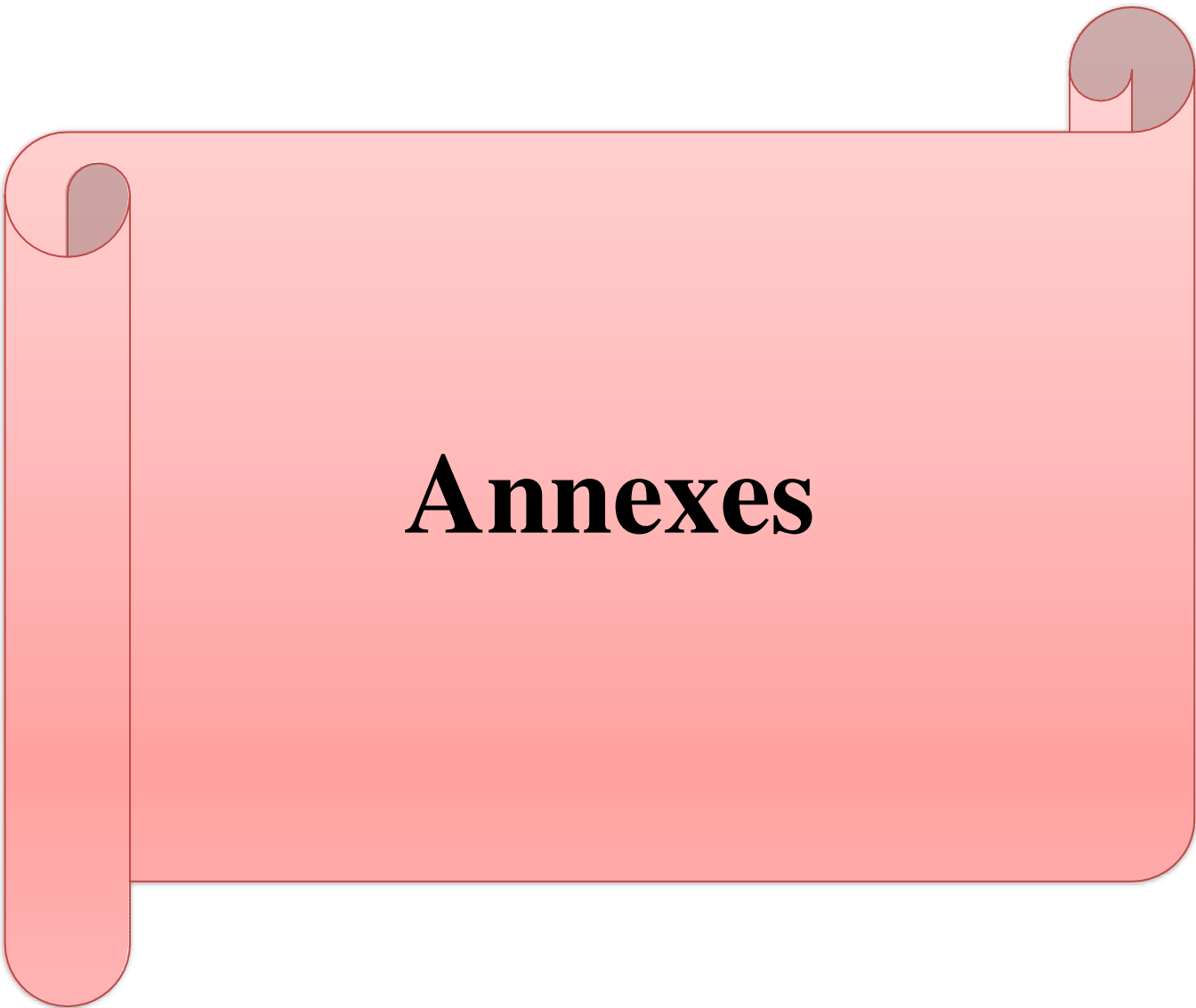
- **Wrobel K.H. (1990).** Male reproduction system. 2ème Edition in: Textbook of Veter. Histo., France: 665 p.

Y

- **Yayaoui M. (2018).** Etude préliminaire sur l'effet de l'huile essentielle « Mentha piperita » sur la structure histologique des épидидymes des lapins mâle « Oructolagus cuniculus » de la souche synthétique pubères et prépubères (3 et 5 mois). Mémoire de Master en Biologie et physiologie de la reproduction, Département de Biologie, UMMTO, Algérie : 73 p.
- **Yeung C.H., Sonnenberg-Riethmacher E. et Cooper T.G. (1998).** Receptor tyrosine kinase crosknock out mice as a model for the study of epididymal regulation of sperm function. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 53:137-147.
- **Ying S.Y. (1988).** Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle stimulating-hormone. *Endocrinology Rev* vol. 9 : 267-293.
- **Young B., Heath J.W., Lowe J. et Stevens A. (2008).** Histologie fonctionnelle de Whaeter. De Boeck université. 467 p.

Z

- **Zerrouki N. (2006).** Caractérisation d'une population locale de lapin en Algérie : évaluation des performances de reproduction des lapines en élevage rationnel. Thèse Doctorat, Université de Tizi Ouzou (Algérie).



Annexes

Fiche technique d'histologie

Fiche technique N° 1 :

Bouin hollandaise : fixateur (GABE, 1968)

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre.....2,5 g

Eau distillée.....100 ml

Agiter puis ajouter peu à peu :

Acide picrique... .. 4 g

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

Formaldéhydes 36- 40% (en solution saturée)..... 10ml

Acide acétique cristallisable 1ml

Fiche technique N° 2 :

Eau gélatinée de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967).

Gélatine en poudre0,1 à 0,5g

Eau distillée..... 100 ml

Verser la poudre dans l'eau distillée et laisser gonfler pendant un moment puis tiédir sur une platine chauffante.

Conservation limitée.

Fiche technique N° 3 :

Trichrome de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967)

Mode opératoire :

Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

L'hématoxyline de Grocott.....3 minutes.

Lavage à l'eau courante.....5 minutes.

Mélange fuchsin ponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rincage.

Orange G..... 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rincage.

Vert lumière5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rincage.

Ensuite les coupes sont déshydratées et montées au baume de Canada.

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

Première solution :

Acide sulfurique concentré0,8 ml

Alun de fer 1g

Eau distillée..... 50 ml

Deuxième solution :

Hématoxyline...0,5g

Alcool à 95° 50 ml

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant une heure et filtrer. Se conserve pendant trois mois environ.

Mélange fuchsine acide ponceau (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

Fuchsine acide...0,1g

Ponceau0,2g

Eau distillée..... 300 ml

Après dissolution ajouter :

Acide acétique...0,6 m

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Acide phosphomolybdique ou phosphotungstique... 3 à 5g

Eau distillée..... 100 ml

Orange G 2g

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Vert lumière1g

Eau distillée..... 100 ml

Acide acétique... 0,2 ml

Conservation illimitée

Résumés

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses différentes sur des paramètres macroscopiques (poids corporel et poids épидидymaire) et sur les paramètres microscopiques (structure histologique des épидидymes) chez les lapins mâles infantiles appartenant à la population locale. Cette étude est menée sur 15 lapins répartis en 3 lots dont 1 lot témoin et 2 lots pour les traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à deux doses différentes. Ces animaux ont été pesés puis traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par voie orale en une prise unique. Une semaine après l'administration de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, les lapins ont été sacrifiés et les épидидymes sont prélevés, pesés et fixés pour effectuer l'étude histologique. Les résultats obtenus montrent que les paramètres macroscopiques (poids corporel et poids épидидymaire) sont plus élevés chez les lapins traités par l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par rapport aux témoins, dont ceux traités à la dose 2 (400µl/Kg) présente des valeurs plus importantes que ceux traités à la dose 1 (200µl/Kg). Sur le plan histologique, cette huile a induit, la mise en place d'un épithélium prismatic pseudostratifié alors qu'il est cubique chez les témoins, cet épithélium est plus développé avec l'apparition des stéréocils plus nombreuses chez le lot traité à la dose 2 par rapport aux animaux du lot traités par la dose 1. De ce fait, il semblerait que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* utilisée a un effet positif sur la structure des épидидymes, la spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles infantiles de la population locale.

Mots clés : huile essentielle, *Eucalyptus globulus*, épидидyme, lapins infantiles, fertilité, reproduction.

Summaries

The objective of this study is to determine the effects of the essential oil of *Eucalyptus globulus* at two different doses on macroscopic parameters (body weight and epididymal weight) and on microscopic parameters (histological structure of the epididymis) in male rabbits. children belonging to the local population. This study was carried out on 15 rabbits divided into 3 batches, including 1 control batch and 2 batches for those treated with the essential oil of *Eucalyptus globulus* at two different doses. These animals were weighed and then treated with the essential oil of *Eucalyptus globulus* orally in a single dose. One week after the administration of the essential oil of *Eucalyptus globulus*, the rabbits were sacrificed and the epididymis are removed, weighed and fixed for histological study. The results obtained show that the macroscopic parameters (body weight and epididymal weight) are higher in the rabbits treated with the essential oil of *Eucalyptus globulus* compared to the controls, including those treated at dose 2 (400 µl / Kg) present values greater than those treated at dose 1 (200µl / Kg). Histologically, this oil induced the establishment of a pseudostratified prismatic epithelium while it is cubic in the witnesses, this epithelium is more developed with the appearance of more stereocilia in the batch treated at the dose 2 compared to the animals of the batch treated with dose 1. Therefore, it would appear that the essential oil of *Eucalyptus globulus* used has a positive effect on the structure of the epididymis, spermatogenesis and fertility of infantile male rabbits in the population. local.

Keywords: essential oil, *Eucalyptus globulus*, epididymis, infant rabbits, fertility, reproduction.