

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Nutrition et Technologie Agro-alimentaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Production animale

Présenté par :

KHELFA Khitam

Thème

**Centre National de l'Insémination Artificielle et de
l'Amélioration Génétique (CNIAAG)
Techniques et races animales utilisées**

Soutenu publiquement le 04/07/2024

Jury	Grade
Président: Mr. TADJ Abdelkader	MCB
Encadrant: Mme. OUABED Asmahan	Pr
Examineur: Mr. BERRANI Abdelkader	MCB

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

QUELQUES LIGNES NE POURRONT JAMAIS EXPRIMER LA RECONNAISSANCE
QUE

J'ÉPROUVÉ ENVERS TOUS CEUX QUI, DE PRÈS OU DE LOIN, ONT CONTRIBUÉ,
PAR

LEURS CONSEILS, LEURS ENCOURAGEMENTS OU LEURS AMITIÉS À
L'ABOUTISSEMENT DE

CE TRAVAIL. MES VIFS REMERCIEMENTS ACCOMPAGNÉS DE TOUTE MA
GRATITUDE

AVANT TOUT, J'ADRESSE MA RECONNAISSANCE ET REMERCIEMENTS À
ALLAH LE TOUT PUISSANT POUR LA VOLONTÉ, LA SANTÉ ET LA PATIENCE
QU'IL M'A À DONNÉ DURANT TOUTES CES LONGUES ANNÉES D'ÉTUDES.

À MA PROMOTRICE PROFESSEUR ASMAHAN OUABED, QUI M'A
FAIT L'HONNEUR DE M'ENCADRER ET DE PRENDRE EN CHARGE LE TRAVAIL
ET LE FINALISER. POUR TOUS SES CONSEILS JUDICIEUX, SON SENS DE LA
MOTIVATION, SON APPUI INFALLIBLE. JE LUI TÉMOIGNE MA TRÈS VIVE ET
RESPECTUEUSE GRATITUDE.

J'ADRESSE AUSSI MES REMERCIEMENTS LES PLUS VIFS AU PRÉSIDENT DE
JURY, DR TADJ ABDELKADER, QUI NOUS A FAIT L'HONNEUR EN ACCEPTANT
DE PRÉSIDER LE JURY DE SOUTENANCE

JE REMERCIE ÉGALEMENT DR BERRANI ABDELKADER QUI NOUS A FAIT
L'HONNEUR D'EXAMINER CE TRAVAIL DE MÉMOIRE.

NOS CHALEUREUX REMERCIEMENTS, MOI ET PR OUABED ASMAHAN, VONT
ÉGALEMENT AU DR BLKHODJA KHADIDJA, DIRECTRICE DU CNIAG DE
TIARET, ET AUSSI À MR MISSOUM, POUR NOUS AVOIR ACCUEILLI ET D'AVOIR
MIS À NOTRE DISPOSITION TOUTES LES DONNÉES NÉCESSAIRES ET TOUTES
LES EXPLICATIONS UTILES

Dédicaces

Je dédie ce mémoire...

À ma très chère mère:

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance

À mon très cher père:

De tous les pères, tu es le meilleur.

Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi, pour tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme. En témoignage de tout d'années de sacrifices de sollicitude, d'encouragement et de prières.

Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et tous de vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse

Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

À mes frères et sœurs

Je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent et pour leur soutien, encouragements en vous souhaitant un avenir plein de succès et de bonheur. Je vous aime trop.

Khitame

Résumé

Notre étude au niveau du Centre de l'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique (CNIAAG) de Tiaret, avait pour objectifs d'explorer les techniques et races animales utilisées, notamment la synchronisation des chaleurs et l'utilisation d'hormones pour l'insémination artificielle. Le centre se spécialise dans la préparation de semences d'étalons élités destinées à la congélation, facilitant ainsi l'insémination artificielle chez les équidés. La collecte de sperme, réalisée dans un vagin artificiel, permet de recueillir un volume significatif, souvent entre 30 et 150 ml avec une fraction gélatineuse. Après filtration, dilution et parfois cryoconservation, le sperme est utilisé frais, réfrigéré sous 10 heures, ou congelé après centrifugation pour éliminer le plasma séminal. L'étude souligne les variations significatives des résultats des spermogrammes des étalons, nécessitant plusieurs évaluations pour établir des conclusions fiables sur leur fertilité. Une mention "Non congelable" dans certains cas indique la nécessité de tests complémentaires pour évaluer pleinement la capacité du sperme à être conservé. L'avis d'un vétérinaire spécialisé est recommandé pour une interprétation précise des résultats et des conseils adaptés à la gestion efficace de la reproduction des étalons.

Mots clés : Insémination Artificielle équine, semence équine congelée, étalon élite

Abstract:

Our study in the Center for Artificial Insemination and Genetic Improvement (CNIAAG) in Tiaret explores the techniques and animal breeds used, in particular heat synchronization and the use of hormones for artificial insemination. The center specializes in the preparation of elite stallion semen intended for freezing, thus facilitating artificial insemination in equines. Sperm collection, carried out in an artificial vagina, makes it possible to collect a significant volume, often between 30 and 150 ml with a gelatinous fraction. After filtration, dilution and sometimes cryopreservation, the sperm is used fresh, refrigerated within 10 hours, or frozen after centrifugation to eliminate seminal plasma. The study highlights significant variations in stallions' spermogram results, requiring multiple assessments to establish reliable conclusions about their fertility. A "Not Freezable" label in some cases indicates the need for additional testing to fully assess the sperm's ability to be preserved. The advice of a specialist veterinarian is recommended for an accurate interpretation of the results and advice tailored to the effective management of stallion reproduction.

Keywords: Equine Artificial Insemination, frozen equine semen, elite stallion

المخلص:

تستكشف الدراسة التي أجريتها في مركز التلقيح الاصطناعي والتحسين الوراثي (CNIAAG) في تيارت التقنيات والسلالات الحيوانية المستخدمة، ولا سيما تزامن الحرارة واستخدام الهرمونات للتلقيح الاصطناعي. ويتخصص المركز في تحضير نخبة مني الفحول المعدة للتجميد مما يسهل عملية التلقيح الصناعي في الخيول. إن جمع الحيوانات المنوية، الذي يتم إجراؤه في مهبل اصطناعي، يجعل من الممكن جمع كمية كبيرة، غالبًا ما بين 30 و 150 مل مع جزء هلامي. بعد الترشيح والتخفيف وأحيانًا الحفظ بالتبريد، يتم استخدام الحيوانات المنوية طازجة أو مبردة خلال 10 ساعات أو مجمدة بعد الطرد المركزي للتخلص من البلازما المنوية. تسلط الدراسة الضوء على اختلافات كبيرة في نتائج تحليل الحيوانات المنوية للفحول، مما يتطلب تقييمات متعددة للوصول إلى استنتاجات موثوقة حول خصوبتها. تشير علامة "غير قابلة للتجميد" في بعض الحالات إلى الحاجة إلى اختبارات إضافية لتقييم قدرة الحيوانات المنوية على الحفظ بشكل كامل. يوصى باستشارة طبيب بيطري متخصص للحصول على تفسير دقيق للنتائج ونصائح مخصصة خصيصًا للإدارة الفعالة لتكاثر الفحول.

الكلمات المفتاحية: التلقيح الصناعي، الخيول، الفحول، قابل للتجميد،

Liste des abréviations

DSA : Direction des services agricoles

EPIC : Etablissement Public à caractère Industriel et Commercial

ONDEEC : Office National de Développement Equin Et Camelin

**FLDDPS : Fonds pour la Lutte contre la Désertification et de Développement du
Pastoralisme et de la Steppe**

Liste des figures

<i>Figure 1: Vue sagittale situant l'appareil reproducteur de la jument.....</i>	<i>03</i>
<i>Figure 2: Lavage de la jument.....</i>	<i>15</i>
<i>Figure 3: Découpage des paillettes.....</i>	<i>17</i>
<i>Figure 4 : Méthodes d'insémination de la jument.....</i>	<i>18</i>
<i>Figure 5: Centre régional d'Insémination Artificielle de Tiaret</i>	<i>21</i>
<i>Figure 6: Ecuries et bloc dédié au laboratoire</i>	<i>23</i>
<i>Figure 7: Préparation de l'étalon pour la monte</i>	<i>24</i>
<i>Figure 8: Filtration et extraction de la fraction gel du sperme.....</i>	<i>25</i>
<i>Figure 09 : Photomètre Minitube.....</i>	<i>26</i>
<i>Figure 10 : Préparation du sperme (Contrôle de qualité-motilité massale/mesure de concentration et centrifugation)</i>	<i>28</i>
<i>Figure 11 : Remplissage et soudure des paillette / Congélation des paillettes en vapeur azote à -140 °C.....</i>	<i>28</i>
<i>Figure 12 : Immigration et stockage dans l'azote liquide -196c°.....</i>	<i>29</i>

Liste des tableaux

Tableau 01: Comportement de la jument en chaleur ou non lors du passage à la barre (en % d'apparition).....	6
Tableau 02: Comportement de l'étalon « souffleur » en présence d'une jument en chaleurs ou non.....	6
Tableau 03: Premiers essais de collecte de semance d'étalons d'élite en 2013.....	30
Tableau 04: Deuxième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2014.....	31
Tableau 05: Troisième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2015.....	32
Tableau 06: Quatrième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2016.....	33
Tableau 07: Cinquième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2017.....	34
Tableau 08: Sixième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2018.....	35
Tableau 09: Insémination fraîche au niveau du CNIAAG de Tiaret.....	37
Tableau 10: Spermogramme récapitulatif des années 2017/ 2018.....	37
Tableau 11: Nombre de semance bovine de 2017 à 2023.....	38

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction 1

Chapitre I: Rappels Anatomique et physiologique de l'appareil génital de la jument

I.1 Rappels sur l'anatomie des organes génitaux de la jument..... 3

I.2. Physiologie de la reproduction..... 3

I.2.1 Puberté 4

I.2.2 Saison sexuelle: 4

I.2.3 Cycles et chaleurs: 4

I.2.4 Gestation: 7

I.2.5 Mise bas (poulinage): 8

I.2.5.1 Préparation au poulinage: 8

I.2.5.2 Expulsion du fœtus: 8

I.2.5.3 Expulsion des membranes fœtales: 8

I.2.5.4 Postpartum: 8

I.2.5.5 Longévité: 8

Chapitre II: Modalités de préparation et de conservation de la semence

II.1 Historique 10

II.2 Introduction: 11

II.3 Types d'inséminations de semence : 11

II.3.1 Définitions: 11

II.3.2 Insémination artificielle en semence réfrigérée: 11

II.3.3 Insémination artificielle en semence congelée 11

II.4. Obligations réglementaires des inséminateurs 12

Chapitre III: Insémination Artificielle chez la jument

III .1 Introduction sur l'insémination artificielle (IA)..... 14

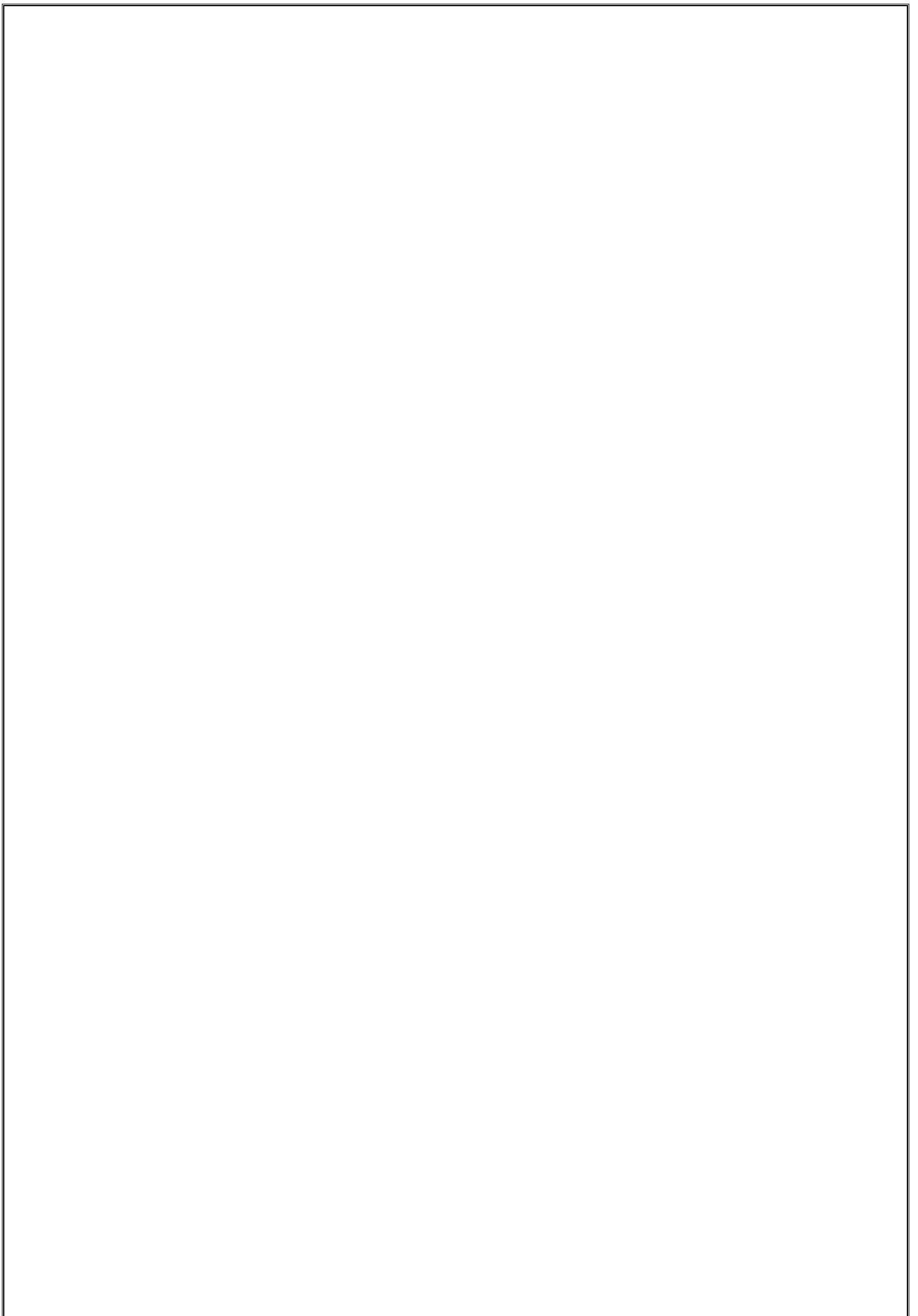
III .2 Avantage de L'IA:..... 14

III .3 Inconvénients de L'IA:..... 14

<i>III .4 Types d'insémination artificielle</i>	14
III .4.1 Conventionnelle	14
III .4.2 Vidéo par l'appareil endoscopie :	14
III .4.3 Cathéter flexible guidé par voie rectale	15
<i>III .5 Préparation de la jument</i>	15
III .5.1 A la douchette:.....	15
III .5.2 Au seau	16
III .5.3 Séchage:.....	16
<i>III .6. Préparation du cathéter</i>	16
III .6.1 Dose en tube	16
III .6.2 Dose en seringue	17
III .6.3 Dose prête.	18

Partie expérimentale

<i>1. Lieu et durée de l'étude</i>	20
<i>2. Objectifs du Travail</i>	20
<i>3. Historique du centre</i>	20
<i>4. Missions du CNIAAG</i>	21
<i>5. Matériel et méthodes</i>	22
6 Techniques d'insémination artificielle de la semence congelée de l'étalon.....	29
<i>7. Résultats et discussion</i>	Error! Bookmark not defined.
7.1 Collecte de la semence de l'espèce équine	Error! Bookmark not defined.
7.2 Semence congelée de l'espèce bovine	38
Conclusion et perspectives	39
Références	



Introduction Générale

Introduction

Les principales particularités de l'anatomie des organes génitaux femelle et mâle chez le cheval sont rappelées puis la physiologie de la reproduction des femelles et des mâles et les techniques de maîtrise de la reproduction sont envisagées. Les femelles sont mise à la reproduction généralement vers 2 ou 3 ans et les mâles vers 3 ou 4 ans. Des cycles oestriques de 3 semaines environ (sans fécondation) ont lieu pendant la ou les saisons sexuelles. L'oestrus est très long et de durée variable (6 à 8 jours le plus souvent), et l'ovulation spontanée se produit entre 48 et 24 heures avant la fin de l'oestrus. (*Bakkali et al., 2006*)

Le traitement photopériodique peut permettre d'avancer la date de sortie d'anoestrus de juments gardées en box en hiver. La synchronisation des chaleurs est possible en utilisant diverses hormones. Pour pratiquer l'insémination artificiellement, le sperm est collecté le plus souvent dans un vagin artificiel. Le volume est important, de l'ordre de 30 à 150 ml en moyenne, une partie étant constituée d'un gel. Le sperm filtré et dilué peut être utilisé soit frais, soit réfrigéré (dans les 10 heures), soit congelé après centrifugation pour éliminer le plasma séminal. En moyenne 200 millions de spermatozoïdes dans 15 à 30 ml sont mis en place par le col utérin dans le corps de l'utérus. Les résultats sont au moins équivalents à ceux de la monte naturelle avec du sperm frais et légèrement inférieurs avec du sperm congelé. (*Lahlou, 2004; Bouhadouda, 2016*)

***Chapitre I: Rappels Anatomique et physiologique de
l'appareil génital de la jument***

I.1 Rappels sur l'anatomie des organes génitaux de la jument

Chacun des 2 ovaires pèse 60 g en moyenne (20-170 g), avec une longueur moyenne de 6,5 cm (5-8 cm) et une largeur de 2 à 4 cm. Les ovaires sont ovoïdes, en forme de reins, incurvés autour de la fosse d'ovulation. Les corps jaunes sont en forme de poire d'un diamètre de 1 à 2,5 cm. La bourse ovarique facilite le passage de l'œuf vers l'oviducte (Nicolich, 1989, Tibary et al., 1994a).

Les oviductes ou trompes utérines ont une longueur de 20 à 30 cm. Le calibre externe se rétrécit de l'ampoule à l'utérus de 5-9 mm à 2-3 mm.

L'utérus de type bipartite, a 2 cornes, un corps et un col dont les longueurs sont 12 à 25 cm pour les cornes, 14 à 24 cm pour le corps et 5 à 8 cm pour le col. Le col est dur et fermé en période de repos, mou et congestionné pendant l'oestrus. Il se contracte et se relâche en alternance au moment de l'ovulation.

Le vagin a une longueur de 20 à 35 cm en moyenne. Latéralement, la glande de Bartholin sécrète un liquide visqueux plus abondant au moment de l'oestrus. (Nicolich, 1989, Tibary et al., 1994a).

I.2 Physiologie de la reproduction

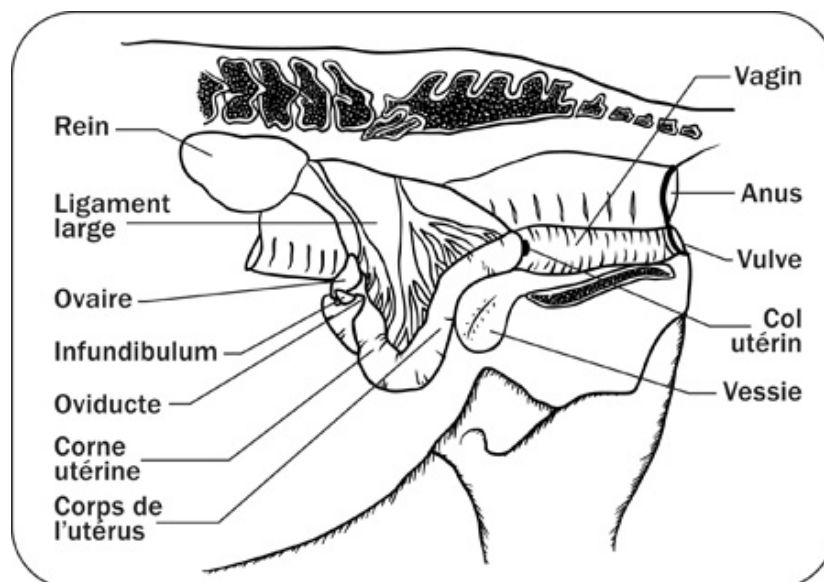


Figure 1: Vue sagittale situant l'appareil reproducteur de la jument (Nicolich, 1989, Tibary et al., 1994a).

I.2.1 Puberté

L'âge à la puberté varie de 10 à 24 mois. L'âge à la puberté d'une pouliche bien entretenue dépend de la précocité de sa race : 12 ou 17 mois (**Tibary et al., 1994**). Il dépend du mois de naissance en France. Il est de 18 mois pour les juments nées en janvier-février et de 2 ans environ pour celles qui naissent en mai-juin (**Badinand, 1985**). Une jument née en janvier-février sera pubère l'été suivant, à l'âge de 18 mois. Une jument née en mai-juin sera pubère 2 étés après vers l'âge de 2 ans.

Légalement en France, une jument de race lourde ou une ponnette peut être mise à la reproduction à l'âge de 2 ans, et une jument de sang à l'âge de 3 ans (**Nicolich, 1989**).

I.2.2 Saison sexuelle:

La jument est une espèce à polyoestrus saisonnier. Elle a une activité sexuelle plutôt saisonnière :

- **hémisphère Nord**: de février à juin et pour 50 % aussi octobre à novembre.
- **hémisphère Sud**: août à décembre (**Fontaine, 1987**) ou décembre, janvier et février (**Nicolich, 1989**).
- en France : juin, juillet et août ; mais certaines juments présentent des cycles toute l'année de durée plus ou moins longue ; la saison de monte officielle va du 15 février au 15 juillet (**Badinand, 1985**).

Les 4 phases suivantes composent le cycle sexuel annuel :

- saison sexuelle avec une activité sexuelle régulière et une fertilité maximale,
- transition vers l'anoestrus saisonnier,
- anoestrus saisonnier,
- transition vers la saison sexuelle (**Tibary et al., 1994b**)

I.2.3 Cycles et chaleurs:

La durée du cycle normal est de 3 semaines environ. Elle varie avec la durée de l'oestrus (**Fontaine, 1987**). Elle serait de 3 à 4 semaines : 16 à 30 jours (**Kolb, 1975**), $21,5 \pm 2,5$ jours (**Ginther, 1979 cité par Nicolich, 1989**), $18,5 \pm 3,4$ jours (**Stabenfeldt et al., 1971 cités par Nicolich, 1989**)

Le cycle oestral peut être divisé en 4 phases :

- pro-oestrus (lutéolyse, maturation folliculaire) : 2-5 jours,
- oestrus (rut et ovulation) : 6 (3-10) jours,
- metoestrus = posteoestrus (luteogenèse = formation du corps jaune) : 2 jours,

- dioestrus (lutéotrophie, activité du corps jaune) : 12-13 jours (**Gayard, 2008**).

La durée de l'oestrus est très variable : de 2 à 10 jours (**Fontaine, 1987**) 3 à 12 jours (**Tibary et al., 1994b**) ou même 2 à 13 jours, 6 jours en moyenne (**Kolb, 1975**), $6,8 \pm 2,3$ jours (Ginther, 1979 cité par Nicolich, 1989), $7,7 \pm 1,3$ jours (**Stabenfeldt et al., 1971 cités par Nicolich, 1989**) ou encore :

- en saison de reproduction 6-7 jours en moyenne : de 3 à 12 jours,

- en saison anovulatoire 16 jours en moyenne : de 0 à 43 jours (**Badinand, 1985**).

Deux vagues de croissance folliculaire se produisent pendant le cycle oestral : une de 5-6 jours, une autre qui commence un peu avant l'oestrus. Le follicule grandit pendant une dizaine de jours jusqu'à une taille de 3 à 8 cm de diamètre (**Badinand, 1985**).

L'ovulation est spontanée. Elle a lieu 24 à 48 heures avant la fin des chaleurs. Elle n'est donc pas prévisible à partir du début de l'oestrus (**Fontaine, 1987 ; Nicolich, 1989**). Elle se produit dans les 48 heures avant la fin des chaleurs chez 80 % des juments (Valon, 1987).

La maturation du ou des follicules de De Graaf peut être appréciée par palpation transrectale par un vétérinaire pour estimer le moment de l'ovulation. Peu avant l'ovulation, un gros follicule (de 3 à 6 cm de diamètre) se rapproche du hile de l'ovaire. Après l'ovulation, il se forme un corps rouge (corpora hemorrhagica) qui peut être senti par palpation transrectale : il donne l'impression que l'on presse un fruit mûr (Valon, 1987).

Signes d'oestrus : La jument en oestrus urine souvent, relève la queue, marche les membres postérieurs écartés. Elle approche les étalons en hennissant. Mais parfois, les chaleurs sont très discrètes. Aussi, il convient d'utiliser un étalon boute-en-train pour repérer le début des chaleurs. Les organes génitaux présentent des modifications au cours de l'oestrus (Fontaine, 1987) tels des contractions du clitoris (« clignements » de la vulve)

Le passage à la barre (Tableaux I et II) consiste à observer le comportement de la jument en présence d'un étalon ou d'un hongre « souffleur » et celui du mâle (**Nicolich, 1989**).

Tableau 01: Comportement de la jument en chaleur ou non lors du passage à la barre (en % d'apparition) (d'après Graullier, 1973 cité par Nicolich, 1989).

	Jument en Oestrus	Jument non en Oestrus	Différence
Réactions positives			
« Clignements » de vulve	60	11	49
Queue levée	52	5	47
Jets d'urine	47	9	38
Se campe	34	0	34
Réactions négatives			
Coups de botte	27	64	37
Couine	37	74	37
Fouaille de la queue	20	45	25

Tableau 02: Comportement de l'étalon « souffleur » en présence d'une jument en chaleurs ou non (d'après Ginther, 1979, cité par Nicolich, 1989).

	Oestrus (en %)	Interoestrus (en %)	Différence
Flehmen	71	17	54
Chevauchement	96	50	46
Morsure	91	82	9

Pour obtenir une saillie fécondante, une saillie toutes les 48 heures est faite à partir du 3^e ou 4^e jour de l'oestrus (Fontaine, 1987). En pratique, on ne dispose que de 2 ou 3 oestrus par an pour faire saillir une jument et les chances de fécondation sont de l'ordre de 25 % à chaque oestrus ! (Nicolich, 1989).

Le taux de **progestérone** augmente régulièrement après l'ovulation pendant 5 jours et diminue à partir de 13-15^eme jour du cycle oestral (Badinand, 1985).

Il existe un **pic de LH**, assez long, 12 à 24 heures avant l'ovulation (Nicolich, 1989)

Le cycle oestral peut présenter des **variations physiologiques** :

- ovulations multiples, en général doubles, donnant des jumeaux et une mortalité embryonnaire ou un avortement ; l'intervalle entre les 2 ovulations est variable, jusqu'à 5 jours.

– ovulation au cours de la phase lutéale (dioestrus), sans signe de chaleurs, pouvant allonger la durée du cycle.

– corps jaunes persistants et anoestrus, avec allongement de la durée du cycle : phase lutéale de 35 à 90 jours (Tibary et al., 1994b).

I.2.4 Gestation:

La durée de gestation normale est proche de 11 mois en moyenne, 330 ± 10 jours (Tibary et al., 1994) (Tableau III)

Tableau III : Durée de gestation de la jument

Race ou pays	Durée de gestation (jours)	Référence
Europe	310-340	Fontaine, 1987
Europe	336 (320-355)	Kolb, 1975
Monde	336-337	Payne, Wilson, 1999
Monde	330	Gayrard, 2008

La fécondation a lieu dans le tiers supérieur de l'oviducte (J0). L'embryon entre dans l'utérus 5-6 jours après au stade morula. La placentation a lieu à J45 – J120. Elle est chorio-allantoïdienne de type épithélio-chorial diffus (Chaffaux, 1985).

La progestérone est secrétée par le corps jaune puis par des corps jaunes secondaires, enfin par le placenta (rôle des cupules) qui prend le relais des ovaires. Ainsi, en cas d'ovariectomie de juments gravides :

- avant 45 jours de gestation, toutes avortent,
- entre 50 et 70 jours, 45 % des juments avortent,
- après 140 jours de gestation, toutes mènent la gestation jusqu'au terme (Chaffaux, 1985).

Le diagnostic de gestation est très important chez la jument : une jument pleine peut valoir 10 fois le prix d'une jument vide, une jument peut être abattue alors qu'elle porte un fœtus, une jument pleine peut être moins bien nourrie qu'il ne faudrait si son état est ignoré, etc. Les méthodes de diagnostic de gestation sont :

- la méthode clinique, manuelle et visuelle,
- des méthodes instrumentales : l'échographie (du 14^e au 65-70^e jours) et l'électrocardiographie (après le 150^e jour),
- des méthodes de laboratoire :
 - a. mesure de la progestéronémie (18-20 jours après l'ovulation),
 - b. détection du eCG (ou PMSG) dans le sang (entre 37-40 et 110-120 jours) par dosage ou par méthode biologique ou par méthode immunologique,

c. détection d'oestrogènes dans les urines par méthode biologique ou par méthode chimique (Esling, 1985 ; Badinand et al., 1985 ; Tibary et al., 1994c)

I.2.5 Mise bas (poulinage):

I.2.5.1 Préparation au poulinage:

Il y a agitation et des signes de coliques. La durée est de quelques heures à quelques jours.

I.2.5.2 Expulsion du fœtus:

Elle est rapide : 20-30 minutes (de 10 minutes à 1 heure).

La jument se lève et le cordon ombilical se rompt. Elle lèche le poulain qui essaye de se lever.

I.2.5.3 Expulsion des membranes fœtales:

Elle se fait normalement dans les 3 heures (Tibary et al., 1994b)

I.2.5.4 Postpartum:

Les premières tétées sont vitales. Le poulain doit consommer suffisamment de colostrum en quantité et suffisamment vite. Le colostrum apporte des anticorps, des nutriments et permet de chasser le méconium de l'intestin. Les anticorps ne traversent la barrière intestinale que pendant les premières heures de la vie (Meyer, 2009b).

L'oestrus réapparaît 5 à 12 jours après la mise bas (chaleur postpartum ou chaleur de lait), mais souvent le 1er et le 2e oestrus sont peu visibles (Fontaine, 1987). L'intervalle poulinage-1re ovulation est en moyenne de $10,2 \pm 2,4$ jours (Tibary et al., 1994b)

La saillie peut être effectuée après le poulinage si :

- le poulinage est tardif dans la saison sexuelle,
- la mise bas a été normale,
- le post-partum a été normal,
- la jument est connue pour présenter des cycles erratiques après le poulinage (**Tibary et al., 1994b**).

L'involution utérine est très rapide (**Tibary et al., 1994b**).

I.2.5.5 Longévité:

La production utile peut dépasser l'âge de 20 ans (**Payne, Wilson, 1999**)

***Chapitre II: Modalités de préparation et de
conservation de la semance***

II.1 Historique

Au XIV^e siècle les Arabes ont utilisé l'insémination artificielle chez le cheval. Les premières tentatives en France ont eu lieu en 1887 avec Benoit et Repiqué. Ivanov Et l'école russe en 1912 sont à l'origine des premières applications pratiques (Nicolich, 1989). La reproduction du cheval a été étudiée dans les années 1950 par Nishi kawa au Japon qui a mis au point les premier dilueurs pour la semence d'étalon (**Nishi kawa, 1975**). En France, l'INRA a mené des recherches sur l'insémination Artificielle des équidés à partir de 1978, dans le laboratoire d'Eric Palmer à la station de physiologie de la reproduction de Nouzilly (près de Tours). A partir de 1980, des Juments ont été inséminées en **Bretagne (Fauquenot, 1987; Magistini, 1990)**. La congélation du sperme a été étudiée dès 1951-1953 par Skatin de l'Institut du cheval

À Moscou (**Nicolich, 1989**). En 2009, 70% des juments sont inséminées en France. Les haras nationaux hébergent des étalons et ont parfois une jumenterie annexe pour assurer la reproduction des équidés soit par insémination, soit par saillie naturelle. Ils interviennent au niveau de 24 pôles hippiques répartis sur la France.

En Algérie l'insémination artificielle équine est pratiquée à moindre échelle dans les différents secteurs qui s'occupent du cheval mais des tentatives par les instituts vétérinaires et les centres de reproduction des équidés font l'objet de différentes études et pratiquent l'insémination artificielle et la congélation des semences d'étalons élités.

Ces centres sont actuellement des prestataires de service pour les éleveurs, les organisations socioprofessionnelles et les collectivités territoriales. (**Meyer, 2009**).

II.2 Introduction:

Les chercheurs s'intéressant à la conservation de la semence ont très vite remarqué la nécessité de diluer la semence dès sa récolte, sans quoi sa durée de vie ne dépasse pas une heure ou deux et son pouvoir fécondant est en grande diminution.

Ceci est dû à deux phénomènes d'importance égale:

- la compétition entre spermatozoïdes pour les éléments nutritifs ou une accumulation de métabolites nocifs lorsque la concentration en gamètes est trop élevée.
- les effets délétères du plasma séminal.

II.3 Types d'inséminations de semence :

II.3.1 Définitions:

- **IA en frais:** l'IA est réalisée sur place, immédiatement après la récolte de sperme,
- **IA réfrigérée:** concerne en fait toutes les IA différées mais non congelées. Il est alors nécessaire de préciser le temps pendant lequel les doses ont été conservées (12h, 24h, 48h...), sachant qu'en France, la majorité des doses sont utilisées dans les 12h. (**ifce, avril 2014**)
- **IA congelée:** la semence est congelée dans l'azote liquide (-196°C) et utilisée après avoir été conservée plus ou moins longtemps, (**ifce, avril 2014**)

II.3.2 Insémination artificielle en semence réfrigéré:

La température de 4 °C est couramment utilisée lors d'IA de semence fraîche différée.

Cependant la réfrigération de la semence de 37 °C à 4 °C met en jeu des remaniements des membranes des spermatozoïdes qui sont regroupés sous le terme de " choc froid " (" cold stock ").

Ceci provoque une cascade d'événements qui aboutissent à la perte du pouvoir fécondant et à la mort des cellules. Une des conséquences de ce choc froid" est l'oxydation des membranes des spermatozoïdes. (**Equine, 1999**)

II.3.3 Insémination artificielle en semence congelée:

Les orientations actuelles portent sur l'apport de différentes molécules dans le milieu de congélation.

L'addition d'un acide aminé, la glutamine, améliore significativement la mobilité post décongélation des spermatozoïdes in vitro; un éventuel effet sur la fertilité est actuellement testé. Cependant le mécanisme d'action de cet acide aminé n'est pas élucidé. (**Equine, 1999**)

Une autre approche consiste à modifier la Composition de la membrane des spermatozoïdes afin de la rendre plus résistante aux effets du froid.

L'apport de liposomes composés de cholestérol-phosphatidylserine dans le milieu donne des résultats contradictoires tant en terme de mobilité que de fertilité.

Récemment l'incubation de spermatozoïdes avec une molécule "transporteur" de cholestérol a permis d'améliorer la mobilité des spermatozoïdes à la décongélation, mais l'effet sur la fertilité n'a pas encore été testé.

II.4. Obligations réglementaires des inséminateurs

Lors de l'insemination d'une jument, avant la mise en place de la semence, l'inséminateur doit s'assurer (**P. Doligez, 2014**):

- L'identification de la jument à saillir.
- Le statut sanitaire de la jument appartiendra le poulain à naître relation avec les exigences du stad-book auquel.
- L'identification des doses de semence utilisées.

Une fois la monte réalisée, l'inséminateur est responsable de la gestion administrative de la saillie. Il doit donc tenir à jour les documents de monte et les transmettre aux parties concernées dans les délais impartis. Chaque jument reçoit une carte de saillie comprenant (**P. Doligez, 2014**):

- La déclaration du premier saut dans les 15 jours suivant la première saillie.
- L'attestation de saillie à remettre au propriétaire de la jument suite au dernier saut ou la dernière insemination.
- Le certificat de saillie ou formulaire de déclaration de naissance à remettre au propriétaire une fois le paiement de la saillie versé, et qui sera ensuite renvoyé à l'éta lonnier dans les 15 jours suivant la naissance du poulain.
- La déclaration de saillie renvoyée au centre d'insemination artificielle en fin de saison.

Chapitre III: Insémination Artificielle chez la jument

III .1 Introduction sur l'insémination artificielle (IA):

L'insémination Artificielle équine est autorisée en France depuis décembre 1986. Elle consiste à récolter la semence d'un étalon, à la conditionner en doses et à la déposer en suite dans l'utérus - de la jument en chaleur - Cette technique, peut être mise en œuvre par des inséminateurs, des chefs de centre d'insémination équine ou des Vétérinaires (**Cognié et Boillevault, 2011**).

III .2 Avantages de L'IA:

- Limitation des risques physiques inhérents à la saillie.
- Absence de contact entre la jument et l'étalon donc diminution de la contamination inhérente à chaque dépôt de semence dans l'utérus.
- L'étalon est économisé puisqu'en moyenne un éjaculat permet de servir 25 juments sans limitation du nombre d'IA par chaleur. De plus, il peut poursuivre parallèlement une carrière sportive. (**Cognié et Boillevault, 2011**).
- Augmentation du choix des étalons disponibles à proximité "éventuelle diminution des frais de transport de de pension, grâce à la circulation des doses d'IA.

L'IA de semence congelée, permet l'exportation de la semence plutôt que de l'étalon, et l'utilisation de la semence plutôt que l'étalon (**Cognié et Boillevault, 2011**).

III .3 Les inconvénients de L'IA:

Les surcoûts liés à la technique de la récolte au conditionnement des doses (la formation du personnel, l'investissement matériel, le temps pour la formation et les frais de transport (**Cognié et Boillevault, 2011**).

III .4 Types d'insémination artificielle (OMS, 2010)

III .4.1 Conventionnelle

Semence déposée dans le corps de l'utérus

Dose : 300-500 x 10⁶ spz (**OMS, 2010**).

III .4.2 Vidéo par l'appareil endoscopique :

- Semence au bout de la corne utérine dont l'ovaire présentant le follicule dominant.
- Très petite dose : jusqu'à 1 million de spz.

- Nécessite 3 opérateurs. (OMS, 2010).

III .4.3 Cathéter flexible guidé par voie rectale

Semence au bout de la corne utérine dont l'ovaire présente le follicule dominant.

Petite dose : $< 5 \times 10^6$ spz

Possibilité d'utilisation d'un appareil à ultrasons

Moins cher que par vidéo endoscopique (OMS, 2010).

III .5 Préparation de la jument

- Mettre la jument dans la barre d'insémination ou l'entraver.
- Mettre un protège-queue ou une bande de queue à usage unique. Attacher la queue (OMS, 2010).



Figure 2: Lavage de la jument (OMS, 2010)

III .5.1 A la douchette:

Mettre 1 gant à usage unique.

Ler lavage arroser la vulve de la jument à l'eau (tiède si possible), mettre un savon antiseptique (par exemple: Vétédine SavonND) sur le gant. Laver la vulve de haut en bas, puis les côtés de la vulve, le dessous du clitoris et terminer par l'anus et la base de la queue.

Attention à ne pas introduire de l'eau savonneuse à l'intérieur du vagin en appuyant trop fort sur la vulve. Ne jamais revenir sur la vulve après avoir nettoyé la région alentour.

Arroser abondamment à l'eau le gant qui a servi à laver la vulve jusqu'à ce que l'eau qui s'écoule soit claire puis rincer la région vulvaire (OMS, 2010).

III .5.2 Au seau

Mettre 2 gants à usage unique.

Mettre suffisamment de papier à usage unique (6 feuilles) dans un seau d'eau et réserver la main gauche pour prendre ce papier dans le seau afin que cette main soit toujours propre et ne souille pas l'eau. Effectuer le premier lavage de la jument (avec la main droite). Avec la main gauche, faire écouler l'eau du papier absorbant sur le gant de la main droite pour le rincer (se positionner à côté du seau). Mouiller à nouveau le papier, le prendre dans la main droite afin de rincer la vulve.

Recommencer un deuxième lavage, puis un deuxième rinçage, puis un troisième lavage et enfin un troisième rinçage. Ne pas laver l'anus, ni la base de la queue lors du 3ème lavage afin de ne pas souiller la vulve avec les eaux d'écoulement (OMS, 2010).

III .5.3 Séchage:

Prendre une feuille de papier absorbant sec et essuyer la vulve, puis les côtés de la vulve, puis le dessous et enfin l'anus et la base de la queue. La feuille de papier absorbant doit être propre à la fin de l'essuyage. Ne pas oublier d'essuyer les gouttes présentes sur la poche de la queue.

Afin de préserver l'appareil génital de la jument, il est important de veiller à ne pas y introduire de germes externes. Dans ce but ce protocole de lavage-rinçage-séchage doit être respecté (Equine, 1999).

III .6 Préparation du cathéter

Le cathéter et son extrémité souple pour fixer la seringue ont un volume intérieur de 4,8 ml. Pour pousser toute la dose de sperme à l'extérieur du cathéter, il faut prévoir dans la seringue un volume d'air de 6 ml correspondant à l'air qui restera dans le cathéter résidu de sécurité pour comprimer l'air et pousser tout le liquide hors du cathéter. Au cours de ces manipulations, la dose d'I.A ne doit rentrer en contact qu'avec du matériel stérile (Equine, 1999).

III .6.1 Dose en tube

1) Découper aux ciseaux l'enveloppe du cathéter d'I.A du côté embout seringue Laisser le cathéter dans son enveloppe de transport.

- 2) Ouvrir l'enveloppe de la seringue en séparant les deux feuillets, la sortir de son étui. Aspirer 2 ml d'air et la monter sur le cathéter.
- 3) Prendre un gant stérile ou un gant à usage unique en le retournant pour l'enfiler. Veiller à ce que la face externe ne touche à rien jusqu'à la pénétration dans le vagin.
- 4) Sortir le cathéter de son enveloppe. Une fois sorti, il ne doit toucher à aucun objet, hormis l'intérieur du tube stérile contenant la dose d'insémination ou le gant stérile de l'insémineur **(Equine, 1999)**.
- 5) Remonter la gaine sanitaire à l'aide du gant stérile une dizaine de centimètres, introduire le cathéter dans le tube contenant la dose. Aspirer toute la dose et un peu d'air sur les 10 derniers centimètres du cathéter (afin d'éviter de perdre de la semence par simple gravité lorsque l'on retire le cathéter du tube).
- 6) Remettre la gaine sanitaire sur l'extrémité du cathéter. La dose est prête **(Equine, 1999)**.

III.6.2 Dose en seringue



Figure 3 : Découpage des pailletes (Equine, 1999)

- 1) Découper aux ciseaux l'enveloppe du cathéter d'IA du côté embout seringue. Laisser le cathéter d'IA, dans son enveloppe de transport.
- 2) Sortir la dose. Monter la seringue sur l'embout du cathéter et aspirer 6 ml d'air.
- 3) Prendre un gant stérile ou un gant à usage unique en le retournant pour l'enfiler. Veiller à ce que la face externe ne touche à rien jusqu'à la pénétration dans le vagin.
- 4) Sortir le cathéter de son enveloppe. Repousser la semence dans le cathéter jusqu'à une dizaine de centimètres de l'extrémité et remettre la gaine sanitaire sur l'extrémité du cathéter **(Equine, 1999)**.

III .6.3 Dose prête.

Insémination proprement dite

Il s'agit d'apporter la dose de sperme jusque dans l'utérus et sans y apporter les germes de la vulve ou du vagin :

- 1) Protéger l'ensemble extrémité du cathéter-gaine sanitaire en la plaçant dans le creux formé par la paume de la main et les 3 doigts opposés au pouce et à l'index qui se rabattent sur le cathéter.
- 2) Mettre 2 ou 3 giclées d'huile sur le dos de la main et en lubrifier les lèvres de la vulve. L'index destiné à être introduit dans le col ne doit pas être lubrifié et doit toucher la vulve le moins possible.
- 3) Introduire l'ensemble main-gaine-cathéter jusqu'au fond du vagin. Retenir la gaine à l'entrée du col. Dégager l'index et l'introduire dans le col. Faire progresser le cathéter en dessous de l'index, puis devant en l'orientant vers le bas. Le cathéter pénètre dans l'utérus sur une longueur d'environ 10 cm (**Equine, 1999**).
- 4) Mettre la seringue en position verticale. Pousser doucement la dose.
- 5) Retirer l'ensemble gant cathéter. Placer le cathéter dans le gant retourné et jeter l'ensemble. Détacher la queue, enlever le protège-queue.

N'inséminer que des juments en chaleurs. Ne pas se contenter de l'état du col pour estimer l'**oestrus** mais effectuer un passage à la barre systématique avant chaque insemination (**Equine, 1999**).



Figure 4 : Méthode d'insémination de la jument (Equine 1999)

Partie Expérimentale

1. Lieu et durée de l'étude :

Notre étude a été réalisée dans le Centre National (Régional) de l'Insémination Artificielle et de l'Amélioration Génétique (CNIAAG) de Tiaret, durant la période allant du 10 au 25 Mai de cette année 2024.

Avant d'accéder à l'évaluation, tout le matériel entrant en contact avec la semence, ainsi que les milieux de dilution étaient préchauffés à la température corporelle, et la fraction sans gel récupérée a subi les tests suivants:

2. Objectifs de l'étude:

Les objectifs de notre étude étaient :

- Connaître les différentes techniques pratiquées au niveau du Centre (CNIAAG) de Tiaret.
- Connaître les espèces animales utilisées.

3. Historique du centre :

La Wilaya de Tiaret dispose d'un environnement agricole important. Parmi les organismes et instituts techniques implantés à travers son territoire agricole, nous citons le Centre National de l'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique (CNIAAG) de Tiaret, qui est un établissement public à caractère industriel et commercial (EPIC), et a pour objectif principal la production de semence congelée. Cette semence congelée, préparée au niveau du centre, ne concerne actuellement que celle de l'espèce équine.

Le centre est localisé dans la commune de Tiaret, qui a été réalisé dans le cadre FLDDPS. Il est doté d'un terrain d'une superficie de 5300 m² et un capital de 70.000.000 DA.

Le projet de construction du centre a été lancé en Avril 2009, et la date d'achèvement des constructions était en Mai 2012. La date d'acquisition des équipements et la remise définitive par la DSA était en Juin 2015.



Figure 5 : Centre régional d'Insémination Artificielle de Tiaret (Photo CNIAAG, 2024)

4. Missions du CNIAAG:

Le centre a plusieurs missions, parmi elles:

- Expertise des étalons.
- Etablissement individuel des spermogrammes.
- La collecte et la congélation de la semence des étalons d'élites appartenant à l'ONDEEC, la ferme pilote chaouchaoua et les Haras privés.
- Création d'une banque de semence du patrimoine génétique des étalons afin de lancer un programme d'insémination artificielle dans la même espèce.
- Collecte, conservation et distribution de sa semence fraîche, réfrigérée et congelée.
- Diffusion et distribution des semences équine destinées à l'insémination artificielle à travers le pays (zones éloignées en semence congelées, zones limitrophes en semences réfrigérées (Djelfa, laghouat, Tissemsilt, Bayedh et Tiaret).
- Formation de vétérinaires en échographies équine pour pouvoir inséminer.
- Formation d'un réseau d'inséminateur en équine à travers le pays.

5. Matériel et Méthodes:

Au cours de notre étude, nous avons assisté à toutes les techniques pratiquées au niveau du centre, à savoir, la récolte de la semence des étalons, les différentes étapes de la congélation de la semence équine et parfois l'insémination de quelques juments ramenées par leurs propriétaires.

N.B : Nous attirons votre attention sur deux points essentiels :

D'une part, les étalons utilisés pour l'insémination artificielle, dont leur semence est congelée, sont des étalons d'élite dont la fertilité est connue et qui appartiennent à l'ONDEEC, la ferme pilote chaouchaoua et les haras privés.

D'autre part, le centre propose des paillettes de semence congelée bovine de plusieurs races, mais qui n'est pas produite au niveau du centre de Tiaret. Cette semence bovine a été réalisée et produite par le CNIAAG de Baba Ali d'Alger.

Le centre de Tiaret, concernant, la semence bovine congelée, est une antenne régionale pour desservir les régions de Tiaret, tissemsilt et El Bayedh.

En plus de la semence congelée des étalons et des bovins, le centre met en vente et à la disposition des éleveurs, de tout produit consommable, tel que l'azote liquide et d'autres produits et matériel.

Afin de réaliser notre étude, en plus d'avoir assisté à toutes les techniques réalisées au niveau du centre, nous avons pu accéder aux données déjà disponibles, dans les registres et les fichiers électroniques, des années précédentes, et qui sont présentés dans la partie résultats. Ces données recueillies montrent les bilans annuels des semences congelées des deux espèces, bovine et équine, et aussi de quelques spermogrammes.

Le centre est dirigé par un Docteur Vétérinaire, en l'occurrence Dr BELKHODJA Khadidja, qui est assistée par un biologiste qui a été formée au niveau de notre Faculté, en l'occurrence Mr Missoum.

Le centre dispose de plusieurs blocs cités comme suit :

- Un bloc administratif
- Un bloc dédié au laboratoire
- Un bloc où se trouve une Air de collecte
- 02 Bergerie (14 compartiments)
- 02 Ecuries (17 BOXES)

Potentiel hydrique :01 Forage (2 litres/s)



Figure 6 : Ecuries et bloc dédié au laboratoire (photo personnelle CNIAAG, 2024)

Durant notre présence au niveau du centre, nous avons pu assister à toutes les étapes de récolte et de congélation de la semence de l'étalon et dont les étapes sont détaillées comme suit:

5.1 Matériel et Méthodes de récolte de la semence équine et sa préparation:

5.1.1 Préparation de l'étalon:

- L'étalon est maintenu dans son boxe individuel (avant la récolte de spermes)
- laver l'organe génital de l'étalon à l'eau tiède puis sécher avec des serviettes en papier.
- Ensuite déplacement le cheval par un opérateur de son boxe vers la zone de récolte.
- Faire une petite séance d'échauffement pour le cheval pour le préparer à la monte.

5.1.2 Matériel de récolte:

La récolte du sperme a été faite à l'aide d'un vagin artificiel de type Missouri, immédiatement avant la récolte la chambre à eau du vagin artificiel est remplie avec de l'eau à **45-50°C**, et la pression à l'intérieur du vagin artificiel est ajustée d'une manière à ne pas gêner la pénétration ou la dilatation de la verge à l'intérieur du vagin artificiel, où elle doit être favorable à l'éjaculation, et ceci est en fonction des besoins de chaque étalon.

Avant le prélèvement, la surface interne du vagin artificiel est lubrifiée avec un lubrifiant stérile et non spermicide (vaseline naturelle) et le biberon de récupération du sperme avec un filtre à sperme est placé à la température corporelle qui a été maintenue constante pendant la durée du prélèvement et de l'acheminement de l'échantillon jusqu'au laboratoire, et ceci afin d'éviter d'éventuels chocs thermiques.

Le filtre à sperme placé à l'entrée du biberon de récupération du sperme été utilisé afin d'augmenter le nombre de spermatozoïdes récupérés dans chaque éjaculat en permettant de séparer la partie liquide de l'éjaculat, qui renferme les spermatozoïdes, de la partie épaisse et gélatineuse, le gel, qui correspond à la dernière fraction de l'éjaculat.

5.1.3 Récolte:

La récolte est faite dans une zone de monte spéciale. Une fois qu'il est monté, la verge du cheval est alors détournée par l'opérateur qui l'insère dans le vagin artificiel et le sperme est recueilli dans le biberon de récupération du sperme. Cela dure quelques secondes, le vagin est ensuite retiré soigneusement du pénis, il est mis en position verticale et vidé de l'eau chaude pour essayer de récupérer la totalité de l'éjaculat et éviter un contact prolongé de l'éjaculat avec la paroi interne chaude du vagin, puis il est directement acheminé vers le laboratoire.



Figure 7: Préparation de l'étalon pour la monte (Photo personnelle, 2024)

5.1.4 Manipulation de la semence et préparation des doses :

5.1.4.1 Evaluation des semences après la récolte:

Une fois arrivé au laboratoire, le biberon de collecte était retiré du vagin artificiel et le filtre contenant le gel était immédiatement retiré du biberon afin d'éviter toute infiltration de gel dans la portion sans gel de l'échantillon de sperme récolté.



Figure 8 : Filtration et extraction de la fraction gel du sperme (Photo CNIAAG, 2024)

5.1.4.2 Examen macroscopique:

Une fois la semence au niveau du laboratoire le volume sans gel, la couleur et l'aspect sont estimés

5.1.4.2.1 Volume:

Le volume en ml a été évalué par lecture directe sur les graduations du tube de collecte. La mesure du volume était nécessaire pour calculer le nombre total de spermatozoïdes contenus dans l'éjaculat.

5.1.4.2.2 Couleur et aspect :

La couleur et l'aspect des éjaculats étaient évalués à l'oeil nu, afin de détecter la présence éventuelle de sang, d'urine ou de pus dans l'éjaculat.

5.1.4.3 Détermination de la concentration :

La concentration en spermatozoïdes par ml de sperme était déterminée en utilisant un photomètre Minitube (SDM1) calibré sur la semence équine, où un échantillon de sperme

bien mélangé est chargé au niveau de l'extrémité de la micro cuvette en utilisant une pipete jetable, la surface externe de la cuvette est bien nettoyée pour éliminer tout excès du sperme et la micro cuvette est insérée par la suite au niveau de l'appareil, une fois le tiroir est fermé la lecture et le calcul de la concentration sont activés.



Figure 9: Photomètre Minitube (Photo ISV Tiaret, 2020)

5.1.4.4 Examen microscopique:

5.1.4.4.1 Mobilité massale:

Immédiatement après évaluation macroscopique, le volume de la semence exempte de gel était analysé par le dépôt d'une goutte de sperme entre lame et lamelle propre et sec.

Dans un premier temps, le sperme est évalué au faible grossissement (x10) afin d'apprécier de façon subjective la mobilité massale, c'est-à-dire les mouvements de réunion et de dispersion de spermatozoïdes. Une note variant de zéro à cinq est attribuée par l'observateur.

5.1.4.4.2 Mobilité individuelle :

Une dilution au 25×10^6 SPZ/ml est nécessaire pour l'estimation de la mobilité individuelle, cela à été fait par l'ajout d'une goutte de sperme dans un épendorphe rempli de 1.5 ml de diluant.

Le sperme est examiné au fort grossissement (x40). Le taux des spermatozoïdes mobiles est calculé en examinant 100 spermatozoïdes dans quatre champs microscopiques. Ce taux s'exprime en pourcentage (note de 0 à 100%).

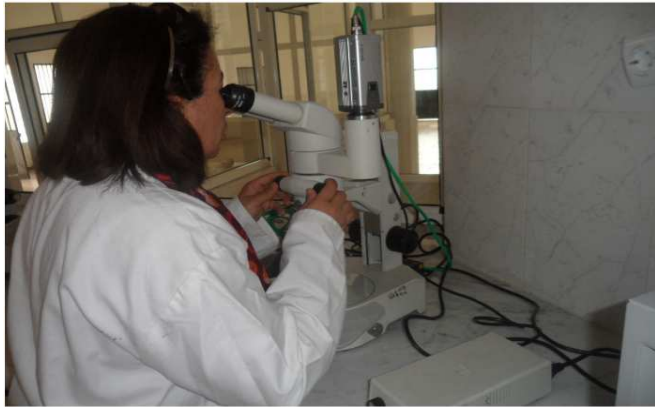


Figure 10: Préparation du sperme (Contrôle de qualité-motilité massale/mesure de concentration et centrifugation) (Photo CNIAAG de Tiaret, 2024)

5.1.4.5 Emballage:

Après élimination du plasma séminal et ajout de dilueur approprié, le sperme doit être emballé. Actuellement, le sperme est conditionné dans des paillettes en plastique d'un volume de 0,5 ml ou 0,25 ml. Le sperme est chargé dans les paillettes à l'aide d'un équipement automatisé ou manuel. Une fois remplies, les paillettes doivent être scellées en utilisant l'une des techniques disponibles, telles que poudre d'alcool polyvinylique, billes de métal et de verre ou scellant à ultrasons. Est important d'avoir une bulle d'air au centre de la paillette pour permettre l'expansion du fluide la cryoconservation et éviter la rupture de la paillette lors de la décongélation.

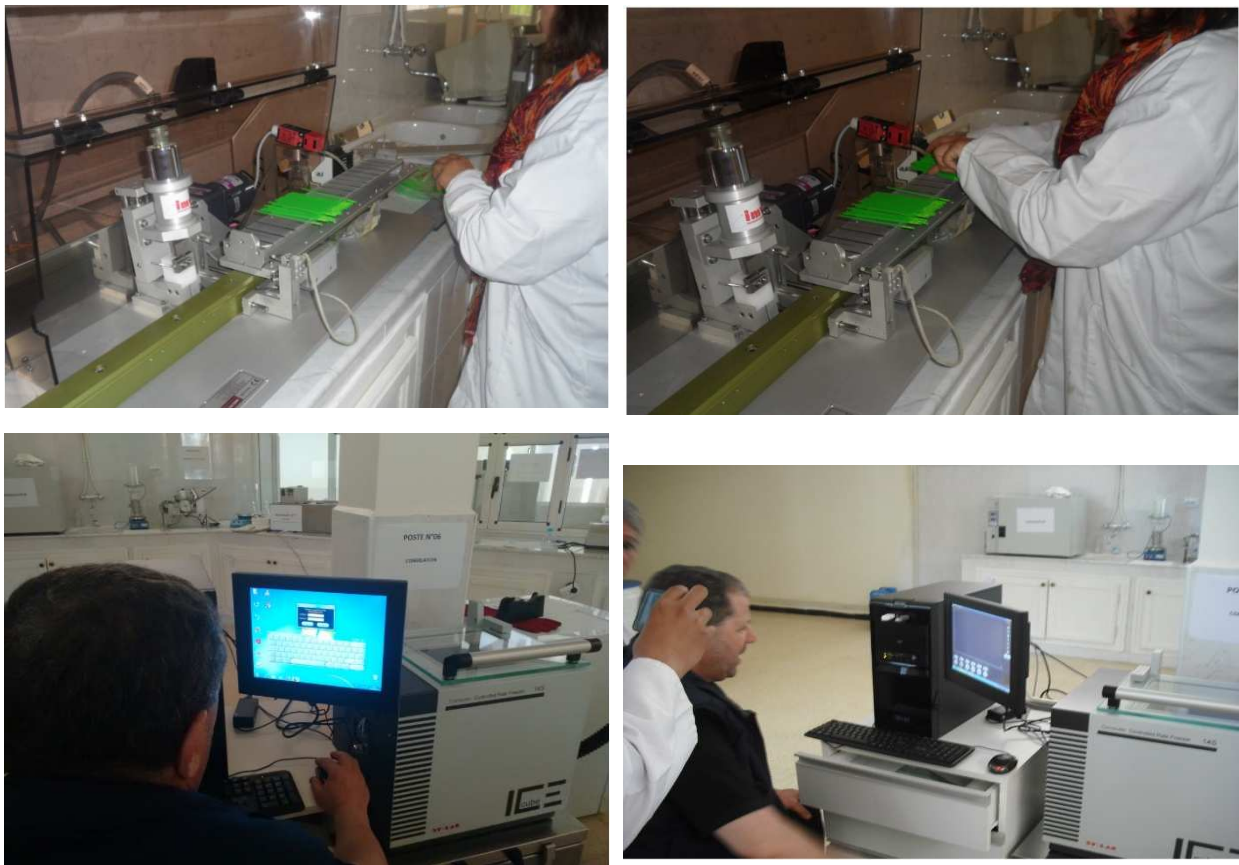


Figure 11: Remplissage et soudure des paillette / Congélation des paillettes en vapeur azote à -140 °C (Photo CNIAAG de Tiaret, 2024).

Enfin, après toutes ces étapes, dont nous avons assisté, du début à la fin, les paillettes sont prêtes pour être stockées dans l'azote liquide à -196°C , pour des années.

Nous pouvons dire que ces tests décrits ci-dessus sont sûrement des moyens efficaces pour juger l'état de la semence après conservation, mais aucun test n'est pour l'instant corrélé directement à la fertilité des étalons.



Figure 12: Immigration et stockage dans l'azote liquide -196°C (Photo personnelle, 2024)

La semence est congelée en paillettes de 0.5 ml, contenant 50 millions de spermatozoïdes par paillette.

N.B : Chez la jument, il faudrait huit (8) paillettes pour une seule insémination.

La directrice du centre nous a indiqué que l'insémination se faisait 3 heures après ovulation, au niveau de leur centre, et c'était leur choix pour avoir un ovocyte jeune.

6. Technique d'Insémination Artificielle de la semence congelée de l'étalon:

Nous n'avons pas trop détaillé cette partie car au niveau du CNIAAG de Tiaret, l'insémination artificielle, au niveau du centre, n'est plus très appliquée. En revanche, la récolte de la semence de l'étalon et sa congélation s'avèrent, actuellement, la tâche principale

du centre. Et le chapitre concernant l'insémination artificielle a été détaillé dans la partie bibliographique.

7. Résultats et discussion

Après avoir assisté à toutes les techniques utilisées au niveau du CNIAAG de Tiaret, à savoir la récolte de la semence équine et sa congélation, et puisque le centre réalise la production de cette semence destinée à la congélation et à l'insémination par la suite, nous avons demandé à consulter les données disponibles concernant la semence congelée des étalons et les semences congelées des bovins, dont la production est réalisée au niveau du CNIAAG de Baba Ali d'Alger. Ces données recueillies sont rapportées dans les tableaux qui suivent :

7.1 Collecte de la semence de l'espèce équine

7.1.1 Première collecte

Selon les données recueillies et montrées dans la tableau 01, les 1^{ères} récoltes ont été effectuées en décembre 2013.

A cette époque, le **nombre des étalons était de 4** et ils étaient hébergés au niveau du Haras National Chaouchaoua de Tiaret et **les doses produites étaient de 50**.

Tableau 03 : Premiers essais de collecte de semence d'étalons d'élite en 2013

Etalons	Race	Date de naissance	Appartenance	Nombre de doses
BAROUDEUR D IBOS	Pûr sang arabe	25/03/1999	ONDEEC	19
NK TOUSSON	Pûr sang arabe	01/04/2000	ONDEEC	12
BALOUBET	Barbe	2006	ONDEEC	07
RAMZ	Pûr sang arabe		Jumenterie (Haras chaouchaoua)	12

Les premières collectes de sperme ont été réalisées en décembre 2013. Les étalons appartenaient principalement à l'ONDEEC, à l'exception de RAMZ qui appartenait au haras national chaouchaoua. Les races incluent principalement des Pûr sang arabes et un Barbe. Les

doses produites par chaque étalon varient d'un étalon à un autre, avec des doses allant de 7 à 19.

Ces doses étaient traitées, comme expliqué dans la partie méthode, et étaient conservées dans l'azote liquide à -196°C . Il s'agit d'essais de congélation de spermatozoïdes des étalons d'élite, donc les semences de ces 4 étalons ont été toutes congelées et stockées.

7.1.2 Deuxième collecte

Selon les données recueillies et présentées dans le tableau 04, la 2^{ème} récolte a été effectuée en juin 2014.

A cette époque, le **nombre des étalons était de 6** et ils étaient hébergés au niveau du Haras National Chaouchaoua de Tiaret et **les doses produites étaient de 107**. Les semences de ces SIX (6) étalons, dont les noms figurent dans le tableau, ont été congelées avec succès et stockées.

Tableau 04 : Deuxième essai de collecte de semence d'étalons d'élite en 2014

Etalons	Race	Date de naissance	Appartenance	Nombre de doses
SHEERLOKOUM	Pur sang arabe	1999	ONDEEC	20
DORWAN DE LA PARADE	Pur sang arabe	2000	ONDEEC	18
NK TOUSSON	Pur sang arabe	01/04/2000	ONDEEC	20
DJIHAD	Pur sang arabe	15/02/1997	ONDEEC	16
BALOUBET	Barbe	2006	ONDEEC	17
GOGET UMM	Pur sang arabe	2001	JUMENTERIE	16

Les doses produites par chaque étalon varient d'un étalon à un autre avec des doses qui varient de 16 à 20. Il s'agit là aussi de semence destinée à la congélation, d'étalons d'élite. La majorité des étalons appartient à l'ONDEEC.

7.1.3 Troisième collecte

Selon les données recueillies que montrent le tableau 05, la 3ème récolte a été effectuée en 2015.

A cette époque, le **nombre des étalons était de 27, mais sur ces 27 présélectionnés et récoltés, seulement quatre (4) d'entre eux, dont les noms figurent sur le tableau, leur semence a été congelée avec succès et stockée.** Ces quatre étalons, étaient hébergés au niveau du CNIAAG. Les doses produites étaient de 75.

Tableau 05 : Troisième essai de collecte de semence d'étalons d'élite en 2015

Etalons	Race	Date de naissance	Appartenance	Nombre de doses
SALAH	PSA		ONDEEC	15
CAMBRIDJ	PSA		Privé	24
NK tousson	PSA		ONDEEC	22
NOBEL	BARBE		HARAS CHAOUCHAOUA	14

Cette collecte illustre une sélection d'étalons variée, potentiellement choisie pour leur pedigree ou leur capacité reproductrice spécifique. La quantité de doses produites par étalon varie d'un étalon à un autre. Cette petite différence pourrait refléter des différences dans la fertilité.

7.1.4 Quatrième collecte

Selon les données recueillies que montrent le tableau 06, la 4ème récolte a été effectuée en 2016.

A cette époque, le **nombre des étalons était de 27, mais sur ces 27 présélectionnés et récoltés, seulement sept (7) d'entre eux, dont les noms figurent sur le tableau, leur semence a été congelée avec succès et stockée.** Ces 7 étalons, étaient hébergés au niveau du CNIAAG et le haras National Chaouchaoua. Les doses produites étaient de 113.

Tableau 06 : Quatrième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2016

Etalons	Race	Date de naissance	Appartenance	Nombre de doses
NK TOUSSON	Pur sang arabe	01/04/2000	ONDEEC	15
DJIHAD	Pur sang arabe	15/02/1997	ONDEEC	21
CAMBRIDJ	Pur sang arabe		PRIVE	32
GOGET-UMM	Pur sang arabe	2001	JUMENTERIE	11
MAZAFRAN	Barbe		JUMENTERIE	15
CHIRAK	BARBE		JUMENTERIE	08
BALOUBET	BARBE		ONDEEC	11

Cette collecte, présentée par le tableau 06, illustre une augmentation du nombre d'étalons utilisés par rapport aux collectes précédentes, ce qui pourrait indiquer une stratégie visant à diversifier les lignées génétiques utilisées dans les élevages de Pur Sang Arabes et de Barbes. Les doses produites par chaque étalon varient, avec CAMBRIDJ produisant le plus grand nombre de doses (32), suivi de DJIHAD (21), MAZAFRAN (15), NK TOUSSON (15), BALOUBET (11), GOGET-UMM (11) et CHIRAK (8).

7.1.5 Cinquième collecte

Selon les données recueillies que montrent le tableau 07, la 5ème récolte a été effectuée en Janvier 2017.

A cette époque, le **nombre des étalons était de 27, mais sur ces 27 présélectionnés et récoltés, seulement douze (12) d'entre eux, dont les noms figurent sur le tableau, leur semance récoltée n'a pas été congelée ni stockée suite à la faible concentration.**

Cette collecte a été précédée par une formation du vétérinaire du CNIAAG de Tiaret, en France, dans un haras spécialisé dans la collecte, la congélation et l'insémination équine.

• L'opération de collecte et congélation a été nettement améliorée.

Cette année 2017, le centre a pris en charge le suivi échographique pour la première fois des 04 juments appartenant à des éleveurs privés ce qui a permis aussi la formation du vétérinaire recruté récemment au niveau du centre.

Tableau 07 : Cinquième essais de collecte de semence d'étalons d'élite en 2017

Etalon	Race	Date de naissance	Appartenant à	Nombre de doses
BALOUBET	BARBE		ONDEEC	/
MADRID	MADRID		ONDEEC	/
QUAMAR ELIL	ARABE		HARAS CHAOUCHAOUA	/
DORWAN	PUR SANG ARABE		ONDEEC	/
GO GET UM	PUR SANG ARABE		HARAS CHAOUCHAOUA	/
TAFSIR	BARBE			/
CHAMEL	BARBE		H.N.C	/
CHIRAK	BARBE		HARAS CHAOUCHAOUA	/
BAROUDEUR	ARABE		ONDEEC	
COMBRIDGE	ARABE		PRIVE	
SEIR	BARBE		H.N.C	
SHEERLOKOU	ARABE		ONDEEC	

N.B : Au cours de cette année 2017, le centre a pris en charge le suivi échographique pour la première fois 04 juments appartenant à des éleveurs privés, ce qui a permis aussi la formation du vétérinaire recruté récemment au niveau du centre.

7.1.6 Sixième collecte

Lors de la collecte de Janvier 2018, la formule de dilution du photomètre a été corrigée suite au contact pris avec les techniciens de l'IMV de France.

Sur 24 étalons sélectionnés, 14 semances d'étalons ont été collectées et les doses produites sont de 195, avec la réalisation de leurs spermogrammes.

Tableau 08 : Sixième essai de collecte de semance d'étalons d'élite en 2018

Etalons	Races	Date de naissance	Appartenant à	Nombre de doses
BALOUBET	BARBE		ONDEEC	/
MADRID	BARBE		ONDEEC	/
QUAMAR ELIL	ARABE		HARAS CHAOUCHAOUA	/
DORWAN	PUR SANG ARABE		ONDEEC	/
GO GET UM	PUR SANG ARABE		HARAS CHAOUCHAOUA	/
TAFSIR	BARBE			/
CHAMEL	BARBE		H.N.C	/
CHIRAK	BARBE		HARAS CHAOUCHAOUA	/
BAROUDEUR	ARABE		ONDEEC	
COMBRIDGE	ARABE		PRIVE	
SEIR	BARBE		H.N.C	
SHEERLOKOU	ARABE		ONDEEC	

Durant le semestre de l'année 2018, deux principales activités ont été réalisées :

1- La collecte des etalons.

2-Suivi par échographie des juments et insémination artificielle.

Lors de la collecte de 2018, la formule de dilution du photomètre a été corrigée suite au contact pris avec les techniciens de l'IMV de France.

24 étalons sélectionnés dont 14 étalons collectés avec la réalisation de leurs spermogrammes.

Tableau 08 : Sixième essai de collecte de semence d'étalons d'élite en 2018 (Suite)

Etalons	Races	N° du matricule	Appartenance	Nombre de doses
Chirak	BARBE		Chaouchaoua	15
Chamel	BARBE		Chaouchaoua	20
NIL	BARBE	16 1007 07	ONDEEC	Refus
NAZIH	BARBE	07 16 1009	ONDEEC	Refus
NK TOUSSON	Pur sang arabe	00 16 1169	ONDEEC	Refus
BAROUDEUR	Pur sang arabe	97 14 1064	ONDEEC	Refus
BALOUBET	Barbe	06 14 2485	ONDEEC	Refus
MADRID	BARBE	06141002	ONDEEC	Refus
IMOUZER	AR.BARBE	02 03 1037E	ONDEEC	20
JUNIOR	BARBE	03 14 1006	CNIAAG	75
JEREMY	BARBE	03 14 1007	CNIAAG	65
GHIUEN	PUR SANG ARABE	00 14 1005A	CNIAAG	CONCENTRATION FAIBLE

Ces résultats montrent une diversité d'étalons sélectionnés avec des niveaux de production de doses variés, ainsi que des cas de refus en raison de concentrations faibles ou d'autres critères non spécifiés.

Cette année 2018, le centre a pris en charge 18 juments appartenant à des éleveurs privés dont les deux tiers. La gestation a été confirmée et les autres étaient en voie de confirmation.

Le 16/04/2018 : une première insémination fécondante a été faite avec semence fraîche d'un étalon appartenant au CNIAAG sur une jument et qui a donné naissance à une pouliche appelée GHAZA.

Le tableau ci-dessous montre cette première insémination fraîche effectuée au niveau du CNIAAG de Tiaret

Tableau 09 : Insémination fraîche au niveau du CNIAAG de Tiaret

Jument	Date d'insémination	Origine	Type d'insémination
Messaouda	16/04/2018	Privé	Semence fraîche
Lamia	20/05/2018	Cniaag Tiaret	Semence fraîche

7.1.7 Spermogramme

Suite à la collecte effectuée lors de la saison (2017/2018), le tableau ci-dessous nous communique la liste des étalons avec leur spermogramme.

Tableau 10: Spermogramme récapitulatif des années 2017/ 2018

Suite à la collecte effectuée lors de la saison (2017/2018), le tableau ci-dessous nous communique la liste des étalons avec leur spermogramme

Date	Etalon	Volume filtre	concentration	Nombre spz	Mobilite	Observqtion
14/01/2018	Tafssir	43	18	774	60	Non congelable
15/01/2018	Quamar elile	Refus				
15/01/2018	dorwane	Refus				
17/01/2018	chamel	40	14	266	40	Non congelable
18/01/2018	dorgel					
24/01/2018	mazafran					
24/01/2018	Chamel	75	543	40725	30	Congelable
	chirak	58	1405	81490	60	
25/01/2018	Sarahni Lotois	Refus				
28/01/2018	Taraguan fares	Refus				

29/01/2018	chirak	70	80	30	30	Non congelable
-------------------	--------	----	----	----	----	-------------------

Sur les 10 étalons évalués, 5 ont présenté des résultats normaux (Tafssir, Chamel Chirak, Chamel, Dorgel et Maz Safran), tandis que 3 ont refusé le prélèvement (Quamar, Dorwane et Sarahni Lotois). Parmi eux, 2 avaient un sperme non congelable (Tafssir et Chamel) en raison d'un volume et d'une concentration faibles et d'une mobilité moyenne, tandis que Chamel Chirak, malgré une faible mobilité, avait un sperme congelable grâce à un bon volume et une bonne concentration. En conclusion, sur les 10 étalons, 5 sont normaux et 1 a un sperme congelable, mais des anomalies du sperme chez certains peuvent affecter leur fertilité, nécessitant potentiellement des tests supplémentaires pour une évaluation complète.

7.2 Semance congelée de l'espèce bovine

Concernant la semance bovine produite à Baba Ali, nous avons pu avoir les données qui sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11 : Nombre de semance bovine de 2017 à 2023

Designations	Nombre
Annés	Semences
2017	2908
2018	2395
2019	2634
2020	2512
2021	2843
2022	3257
2023	4512
Total	21061

Conclusion

Les résultats des spermogrammes des étalons montrent des variations significatives selon les individus et les dates d'analyse, rendant difficile toute conclusion définitive sur leur fertilité à partir d'une seule analyse. Des examens complémentaires sont nécessaires pour une évaluation complète, notamment lorsque la mention "Non congelable" indique une incapacité à conserver le sperme pour une utilisation ultérieure. Il est donc recommandé de consulter un vétérinaire spécialisé en reproduction équine pour une interprétation précise des résultats et des conseils adaptés à la gestion de la reproduction des étalons. Ce résumé est informatif et ne remplace pas l'avis d'un vétérinaire.

Perspectives

Les perspectives visées par le CNIAAG de Tiaret pourraient être résumées comme suit :

- Elargir le champ d'intervention auprès des éleveurs détenant des étalons à palmarès pour stocker leur semance.
 - Création d'une banque du patrimoine génétique locale (barbe, arabe- barbe), en utilisant les techniques les plus récentes en cryoconservation.
 - Diffusion du patrimoine génétique d'étalons d'élites, grande amélioration des performances recherchées soit dans le domaine du sport équestre, soit dans les épreuves beautés et allures.
 - Amélioration génétique par l'insémination artificielle chez la race équine.
 - Diffusion de la semence équine chez les éleveurs pour limiter l'érosion génétique et l'absorption des races.
 - Chez l'éleveur, le brassage des races provoque une dispersion et une érosion du capital génétique, l'augmentation de consanguinité.
 - L'application de ce programme se fera nécessairement avec l'adhésion des éleveurs, dans les fermes pilotes, d'où la nécessité et l'urgence d'une prise de conscience en vue d'entraîner un changement de conduite dans la pratique de l'élevage dont la finalité et le but est de promouvoir le rendement du cheptel et l'amélioration continue de la race.
- Les ambitions sont de susciter davantage d'intérêt au rôle dévolu au centre.

Référence bibliographies

- ❖ **Aurich, J. E.** (2012). Semen collection from stallions. In Current trends in equine reproduction (pp. 203-213). Elsevier
- ❖ **Badinand, F. (1985).** L'âge au premier œstrus chez la pouliche de race chevaline. In *Reproduction des mammifères* (pp. 205-210). Éditions INRA.
- ❖ **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2006).** Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 44(5), 446-475. France.
- ❖ **Bouhadouda, N. (2016).** Impact of phototherapy on the reproductive performance of mares during winter. *Journal of Equine Science*, 27(2), 119-126. France.
- ❖ **Chaffaux, A. (1985).** **Le développement embryonnaire chez les mammifères.** Editions
- ❖ Cognié, Y., & Boillevault, M.-H. (2011). **Insémination artificielle et transfert d'embryons chez les équidés.** Editions Quae.
- ❖ Doligez, P. (2014). **Insémination artificielle chez les équidés.** Editions Quae.
- ❖ **Equine Mortimer R.O., Ashworth P.J., Tharavalingu C.J., Watson A.J. (1999)** Effet de la glutamine sur la mobilité post-décongélation et la viabilité des spermatozoïdes de chevaux *Equine Veterinary Journal*, 31(2):146-150
- ❖ **Esling, C. (1985).** Dosage des oestrogènes urinaires par une méthode biologique quantitative utilisant des cellules de Saimons. *Annales de biologie clinique*, 43(11), 671-676 Masson.
- ❖ **Fauquenot, G. (1987).** L'insémination artificielle chez les chevaux de sport en Bretagne. Thèse de doctorat vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Nantes.
- ❖ **Fauquenot, G. (1987).** L'insémination artificielle chez les chevaux de sport en Bretagne. Thèse de doctorat vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Nantes.
- ❖ **Fontaine, P. (1987).** Saisonnalité de la reproduction chez les mammifères domestiques. In *Reproduction et sélection des mammifères domestiques* (pp. 205-232).
- ❖ **Ginther, O. J. (1979).** Reproductive cycles of the mare. In *Reproduction in Domestic Animals* (Vol. 1, pp. 207-228). Academic Press.
- ❖ **Harbu, S., (2011).** Semen collection techniques in stallions: A review. *Theriogenology*, 76(1-2), 1-12.

- ❖ **Héron, M., Perdrix, E., & Jouannet, P. (2003).** Analyse du sperme. In M. Héron, B. Vialatte, P. Jouannet, & C. Le Béguel (Eds.), *Biologie de la Reproduction* (pp. 323-335). Paris, France: Doin.
- ❖ **INRA.** (n.d.). Insémination artificielle des équidés. Retrieved from
- ❖ https://oatao.univ-toulouse.fr/17633/1/Loigerot_17633.pdf
- ❖ **Kolb, E. J. (1975).** The comparative anatomy and physiology of reproduction in mamalia. University of Chicago Press.
- ❖ **Lahlou, M. (2004).** Essential oils and fragrance compounds: Bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 159-165. France.
- ❖ **Magistini, M. (1990).** L'insémination artificielle chez les chevaux de trait en Bretagne. Thèse de doctorat vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Nantes.
- ❖ **Magistini, M. (1990).** L'insémination artificielle chez les chevaux de trait en Bretagne. Thèse de doctorat vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Nantes.
- ❖ **Meyer, J. (2009b).** Le poulain nouveau-né: physiologie et soins. In *Journées nationales d'information équine* (pp. 21-36). Editions Educagri.
- ❖ **Nicolich, M. (1989).** Évaluation de la fertilité du mâle par l'analyse du sperme. In *Insémination artificielle chez les animaux domestiques* (pp. 147-180). Editions Quae.
- ❖ **Nishikawa, Y. (1975).** Studies on the dilution of stallion semen. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 37(2), 117-126.
- ❖ **Nishikawa, Y. (1975).** Studies on the dilution of stallion semen. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 37(2), 117-126.
- ❖ **Organisation mondiale de la santé (OMS).** (2010). Manuel d'examen et de traitement du sperme humain. 5ème édition. Genève, Suisse: OMS.
- ❖ **Palmer, E. (1978).** Recherches sur l'insémination artificielle des équidés. *INRA Productions Animales*, 1, 3-10.
- ❖ **Palmer, E. (1978).** Recherches sur l'insémination artificielle des équidés. *INRA Productions Animales*, 1, 3-10.
- ❖ **Payne, W.J.A. et Wilson, R.T. (1999).** An Introduction to Animal Husbandry in the Tropics. 5th Edition, Blackwell Science, Oxford, 177-221.
- ❖ **Skating, A. (1953).** La congélation de la semence de cheval. In: *Proceedings of the 6th International Congress of Animal Reproduction* (pp. 717-722).
- ❖ **Skating, A. (1953).** La congélation de la semence de cheval. In: *Proceedings of the 6th International Congress of Animal Reproduction* (pp. 717-722).

- ❖ **Stabenfeldt, G. H., Hughes, J. E., & Evans, F. N. (1971).** Postpartum estrus and ovulation in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 54(10), 1338-1342.
- ❖ Tibary, A., Bouix, D., & Durand, J. (1994). Puberty in the filly. In *The horse* (pp. 273-286). Springer, Boston, MA.
- ❖ **Tibary, A., Brunel, M., & Le Bihan, Y. (1994a).** Analyse du sperme chez le cheval : aspects morphologiques et fonctionnels. In *Reproduction et fertilité chez le cheval* (pp. 201-222). Editions Quae.
- ❖ **Valon, C. (1987).** La reproduction chez les mammifères domestiques. Editions Vigot.