



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 14679

To cite this version :

Bolillo, Camille. *Recherche de prédicateurs et d'indicateurs de la mise en place de la fonction sexuelle de jeunes béliers en relation avec leur carrière à l'âge adulte*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 93 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

RECHERCHE DE PREDICTEURS ET D'INDICATEURS DE LA MISE EN PLACE DE LA FONCTION SEXUELLE DE JEUNES BELIERS EN RELATION AVEC LEUR CARRIERE A L'AGE ADULTE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

BOLILLO Camille
Née le 25 janvier 1989 à Pau (64)

Directeur de thèse : Mme Nicole HAGEN

JURY

PRESIDENT :
M. Louis BUJAN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Nicole HAGEN
M. Xavier BERTHELOT

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

REMERCIEMENTS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Pr Louis BUJAN
Professeur des Universités
Praticien Hospitalier
Andrologie et Biologie de la reproduction

Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre thèse,
Remerciements et hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Madame le Pr Nicole HAGEN-PICARD
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie de la Reproduction

Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail,
Qui m'a aidé à trouver ce sujet de thèse,
Sincères remerciements.

Monsieur le Pr Xavier BERTHELOT
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie de la Reproduction

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,
Qu'il veuille bien accepter ici le témoignage de notre profond respect.

A Monsieur Eli SELLEM, *Ingénieur de Recherche Andrologie et Technologie de la semence*,
Alice, Elevage, Innovation, Service,

A Madame le Dc Chrystelle LE DANVIC, *Andrologie et Technologie de la semence*,
Alice, Elevage, Innovation, Service,

Pour la confiance qu'ils m'ont accordée pour la réalisation de ce projet,
Pour l'accueil qu'ils m'ont réservé à chacune de nos entrevues,
Pour le soutien, la disponibilité, la patience et la pédagogie dont ils ont fait preuve tout au long de la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABBREVIATIONS	5
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	11
I- ANATOMIE, PHYSIOLOGIE ET HISTOLOGIE DU TESTICULE :	12
<u>I.1 - ANATOMIE DU TESTICULE</u>	12
<u>I.1.A - CONFORMATION EXTERNE (FIG.1)</u>	12
<u>I.1.B - LES ENVELOPPES TESTICULAIRES</u>	13
<u>I.1.C - CONFORMATION INTERNE</u>	15
<u>I.1.D - VASCULARISATION</u>	16
<u>I.2 - HISTOPHYSIOLOGIE DU TESTICULE</u>	16
<u>I.2.A - HISTOLOGIE TESTICULAIRE</u>	16
<u>I.2.B - LA SPERMATOGENESE</u>	18
<u>I.2.C - REGULATION HORMONALE DE LA SPERMATOGENESE CHEZ LE BELIER</u>	19
<u>I.2.D - LA MISE EN PLACE DE LA PUBERTE</u>	20
II- L'ECHOGRAPHIE :	22
<u>II.1 - LES ULTRASONS : ORIGINE, DEFINITION ET PROPRIETES PHYSIQUES</u>	22
<u>II.2 - INTERACTIONS DES ONDES ULTRASONORES AVEC LES TISSUS</u>	24
<u>II.2.A - LA GENESE DES ECHOS</u>	24
<u>II.2.B - L'ATTENUATION DE L'ONDE ULTRASONORE</u>	24
<u>II.3 - FORMATION ET INTERPRETATION DE L'IMAGE</u>	26
<u>II.3.A - EMISSION ET RECEPTION DES ULTRASONS</u>	26
<u>II.3.B - INTERPRETATION DES IMAGES ECHOGRAPHIQUES</u>	28
PARTIE EXPERIMENTALE.....	31
III- MATERIEL ET METHODES :	32
<u>III.1- LES ANIMAUX</u>	32
<u>III.2- CARACTERISTIQUES PHENOTYPIQUES</u>	33
<u>III.2.A- MENSURATIONS TESTICULAIRES</u>	34
<u>III.2.B - LES ECHOGRAPHIES TESTICULAIRES</u>	35
<u>III.2.C - CARACTERES PHENOTYPIQUES RELATIFS A LA FONCTION SEXUELLE, RELEVES PAR LE CPS OVITEST</u>	38
<u>III.2.D - ANALYSE DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES</u>	38
<u>III.3- HISTOLOGIE TESTICULAIRE</u>	38
<u>III.4 - ANALYSES STATISTIQUES</u>	39
IV- RESULTATS :	40
<u>IV.1 - DESCRIPTION GENERALE DE LA POPULATION MISE EN TESTAGE (MET)</u>	40
<u>IV.1.A - LES ANIMAUX</u>	40
<u>IV.1.B - MENSURATIONS TESTICULAIRES</u>	41
<u>IV.1.C - ECHOGRAPHIES TESTICULAIRES</u>	43
<u>IV.2 - ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DES BELIERS PRODUISANT DE LA SEMENCE</u>	45
<u>IV.2.A - EFFECTIF DES ANIMAUX PRODUCTEURS</u>	46
<u>IV.2.B - PHENOTYPES RECOLTES</u>	46

<u>IV.3 - ANALYSE DE LA PRECOCITE DU DEMARRAGE DE L'ACTIVITE SEXUELLE</u>	54
IV.3.A - <u>DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE DES BELIERS CODES PRECOSES ET TARDIFS</u>	55
IV.3.B - <u>PHENOTYPES RECOLTES</u>	56
<u>IV.4 - ANALYSE QUANTITATIVE DE LA PRODUCTION DE SEMENCE</u>	60
IV.4.A - <u>DONNEES DE PRODUCTION DES BELIERS BONS ET MAUVAIS PRODUCTEURS DE SEMENCE</u>	60
IV.4.B - <u>PHENOTYPES RECOLTES</u>	61
<u>IV.5 - ANALYSE DES TESTICULES « VACUOLAIRES »</u>	62
IV.5.A - <u>EFFECTIF DES BELIERS CODES, VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES</u>	62
IV.5.B - <u>MENSURATIONS TESTICULAIRES ET DONNEES DE PRODUCTION DES BELIERS VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES</u>	63
IV.5.C - <u>MORPHOLOGIE DES SPERMATOZOÏDES</u>	64
IV.5.D - <u>HISTOLOGIE</u>	68
<u>V- DISCUSSION</u> :	72
BIBLIOGRAPHIE	81
TABLE DES ILLUSTRATIONS	83
<u>A - LES FIGURES</u> :	83
<u>B - LES TABLEAUX</u> :	84
ANNEXE 1	86
ANNEXE 2	90
ANNEXE 3	92

LISTE DES ABBREVIATIONS

IA : Insémination Animale

CPS : Centre de Production de Semence

CASDAR : Compte d'Affectation Spéciale « Développement Agricole et Rural »

ANIO : Association Nationale Insémination Ovine

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

Idele : Institut de l'Elevage

Alice : Elevage, Innovation, Service, (Organisme d'appui technique aux centres d'insémination)

CS : Circonférence Scrotale

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

LH : Luteinizing Hormone

FSH : Follicle Stimulating Hormone

ABP : Androgen Binding Protein

AMH : Anti-Müllerian Hormone

MET : Mis(e) En Testage

BDR : Biologie du Développement et Reproduction

ROI : Region Of Interest

LNCR : Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs

M : Moyenne

σ : Ecart type

MIN : Minimum

MAX : Maximum

CV : Coefficient de Variation

GLM : General Linear Model

CART : Classification And Regression Trees

Spz : spermatozoïde(s)

GMQ : Gain Moyen Quotidien

QTL : Quantitative Trait Loci

Les schémas de sélection de la filière ovine laitière Lacaune visent à fournir du progrès génétique à partir d'un groupe de reproducteurs mâles sélectionnés, puis à le diffuser *via* l'Insémination Animale (IA). La production ovine Lacaune lait, comme pour les autres races ovines, est organisée en fonction de deux contraintes majeures liées à l'espèce : le caractère saisonné de la reproduction et l'utilisation de la semence fraîche. En effet, l'anatomie du *cervix* chez les brebis ne permet pas, par voie naturelle, de déposer la semence au-delà du col de l'utérus. Or les résultats de fertilité obtenus avec la semence congelée déposée au niveau de l'exocol sont beaucoup moins satisfaisants que ceux obtenus avec la semence fraîche (13).

Ainsi, le Centre de Production de Semence (CPS) doit fournir une quantité suffisante de semence de qualité, au moment précis de la reproduction. Pour répondre au mieux à cette exigence, un nombre très important d'agneaux mâles âgés d'1 mois sont recrutés. Ils sont issus d'accouplements raisonnés à la ferme puis choisis selon des critères de standards de race ou de morphologie fonctionnelle, évalués à 1 mois d'âge. Tout au long de leur période pré-pubère, certains mâles sont réformés sur des critères de conformation, de locomotion et de santé mais également sur la précocité de la fonction sexuelle, observée lors de l'entraînement à la collecte de semence, à l'âge de 5 à 6 mois. La production et la qualité de la semence ne sont évaluées que lors de la première campagne d'IA, entre 6 et 7 mois d'âge, ce qui conduit alors à de nouvelles réformes.

De ce fait, les structures de sélection sont confrontées à de forts taux d'élimination entre l'entrée des agneaux mâles âgés d'1 mois et les mâles réellement producteurs de semence de qualité à l'âge de 6 à 7 mois. Ces réformes subies et tardives entraînent d'importantes charges (10). En effet, elles obligent les CPS à recruter, gérer, entretenir, nourrir, soigner et entraîner à la collecte de semence, un nombre de reproducteurs bien plus élevé que celui finalement utilisé pour la production de la semence dédiée à l'IA. La gestion des jeunes mâles constitue donc un enjeu économique majeur pour les CPS et conditionne la réussite ainsi que l'efficacité des schémas de sélection.

La réduction du taux de réforme constitue alors un défi à relever pour les CPS. Deux options s'offrent à eux pour agir sur ce taux : soit une sélection plus stricte des agneaux avant l'entrée en centre (dans les élevages naisseurs en amont), soit une sélection plus tôt en CPS (avant l'âge de 5 à 6 mois). L'élaboration d'indicateurs précoces de la carrière de

reproducteur du mâle à l'âge adulte permettrait de réaliser cette sélection le plus tôt possible. C'est dans ce cadre que s'inscrit le projet MAXI'MALE. Financé par un Compte d'Affectation Spéciale « Développement Agricole et Rural » (CASDAR (2015-2018)), ce projet réunit l'ensemble des partenaires de la filière ovine à travers l'ANIO et les acteurs impliqués dans la recherche à savoir l'INRA, l'Idel et Alice. L'objectif est de produire des outils utilisables pour optimiser la gestion des mâles reproducteurs petits ruminants, ovins et caprins.

Cette thèse constitue un volet de ce projet, articulé autour de la recherche d'indicateurs précoces de la mise en place de la fonction sexuelle en relation avec la production de semence des jeunes mâles à l'âge adulte, dans l'espèce ovine. De tels indicateurs de la précocité sexuelle et de la capacité à produire de la semence de qualité à l'âge adulte, utilisables dès le plus jeune âge, permettraient de diminuer le nombre d'agneaux recrutés et donc de réduire les coûts liés à l'élevage de ces individus qui ne seront finalement pas producteurs de semence pour le CPS.

La mesure de la circonférence scrotale (CS) a été décrite dans plusieurs espèces comme un potentiel indicateur de la production de semence du futur reproducteur (bovin (20) ; ovin (22)). Par exemple, chez les Mérinos polonais, les agneaux mâles dont la CS est la plus élevée à l'âge de 150 jours (environ 5 mois) présentent une meilleure fonction de reproduction en termes de fertilité, prolificité des femelles et de qualité du sperme à l'âge adulte (22). Toutefois, l'étude de Nowakowski et al. (22) sur ces béliers Mérinos n'a pas été faite dans les mêmes conditions d'élevage que celles appliquées dans les CPS ovins Lacaune.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à une mesure innovante et objective de l'appareil génital : l'échographie testiculaire. En effet, l'échographie est une technique d'imagerie qui permet d'apprécier la structure du testicule, en complément d'un examen clinique de l'organe. Le niveau de gris moyen des parenchymes médial et latéral du testicule ainsi que du *rete testis* constitue un indicateur de la fonction sexuelle chez le taureau (12).

Pour répondre à l'objectif de cette étude, dans un premier temps, nous avons évalué des mesures phénotypiques de l'appareil génital sur l'ensemble des agneaux mâles grâce à la circonférence scrotale et à l'échographie testiculaire. Ces mesures ont été réalisées à 2,5

mois, 3,5 mois puis 4,5 mois d'âge moyen. Le CPS a ensuite enregistré tous les paramètres liés au démarrage de la fonction sexuelle et les caractéristiques de production et de qualité de la semence recueillie entre 6 et 7 mois d'âge. Ces données nous ont permis de distinguer les bons reproducteurs des moins performants. Les marqueurs de la fonction sexuelle évalués avant la puberté, ont ensuite été rétrospectivement comparés entre les deux groupes de béliers reproducteurs. L'objectif était de mettre en évidence des paramètres phénotypiques précoces distinctifs permettant d'identifier les futurs bons reproducteurs dès leur plus jeune âge.

Avant de développer notre étude expérimentale, en suivant un plan classique matériel et méthodes, résultats et discussion, une partie bibliographique portant sur l'anatomie et la physiologie du testicule ainsi que sur le principe de l'échographie sera présentée.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Anatomie, physiologie et histologie du testicule :

L'obtention et l'interprétation d'images échographiques nécessitent au préalable la connaissance de l'anatomie du testicule et de ses enveloppes.

I.1 - Anatomie du testicule

Chez le bélier, les testicules sont situés en position sous-inguinale. Ils sont pendulaires, c'est-à-dire de forme ovale avec un grand axe vertical.

I.1.a - Conformation externe (Fig.1)

Chaque testicule possède deux faces, deux bords et deux extrémités (18) :

- une face latérale et une face médiale,
- un bord libre et un bord épидidymaire,
- une extrémité capitée et une extrémité caudée.

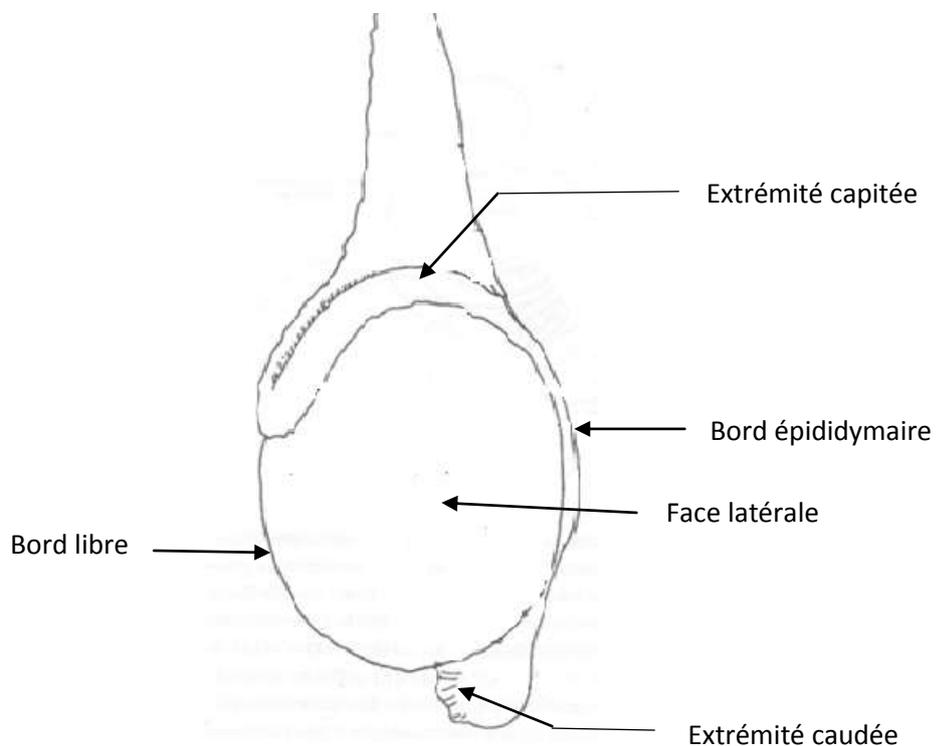


Fig. 1 - SCHEMA DE LA CONFORMATION EXTERNE D'UN TESTICULE DE RUMINANT, d'après (4)

Le cordon spermatique est formé du conduit déférent et du cône vasculaire. La palpation du testicule offre une consistance ferme et homogène.

I.1.b - Les enveloppes testiculaires

Plusieurs enveloppes recouvrent, protègent et soutiennent les testicules (21). On distingue les enveloppes superficielles des enveloppes profondes (Fig.2).

I.1.b.i - Les enveloppes superficielles

De l'extérieur vers l'intérieur :

-**La peau scrotale** forme un sac commun aux deux testicules avec une légère dépression entre les deux organes, appelé le raphé du scrotum. Elle est mince, souple, renferme un grand nombre de glandes sébacées et peut être recouverte d'un léger duvet à une fine couche de laine.

-Sous la peau scrotale, se trouve **le dartos**, une tunique musculaire lisse qui forme un sac pour chaque testicule et se fixe à l'anneau inguinal superficiel. Les deux sacs s'adosent sur le plan médian et forment ainsi le septum scrotal. La tunique dartos, de par la contraction de ses fibres musculaires lisses, fait varier la position des testicules par rapport à l'abdomen et en assure ainsi la thermorégulation.

La peau scrotale et le dartos forment le scrotum.

-**Le fascia spermatique externe** est constitué de deux parois fibreuses superposées et mobiles l'une par rapport à l'autre. Il assure un rôle de protection du testicule contre les compressions et les chocs.

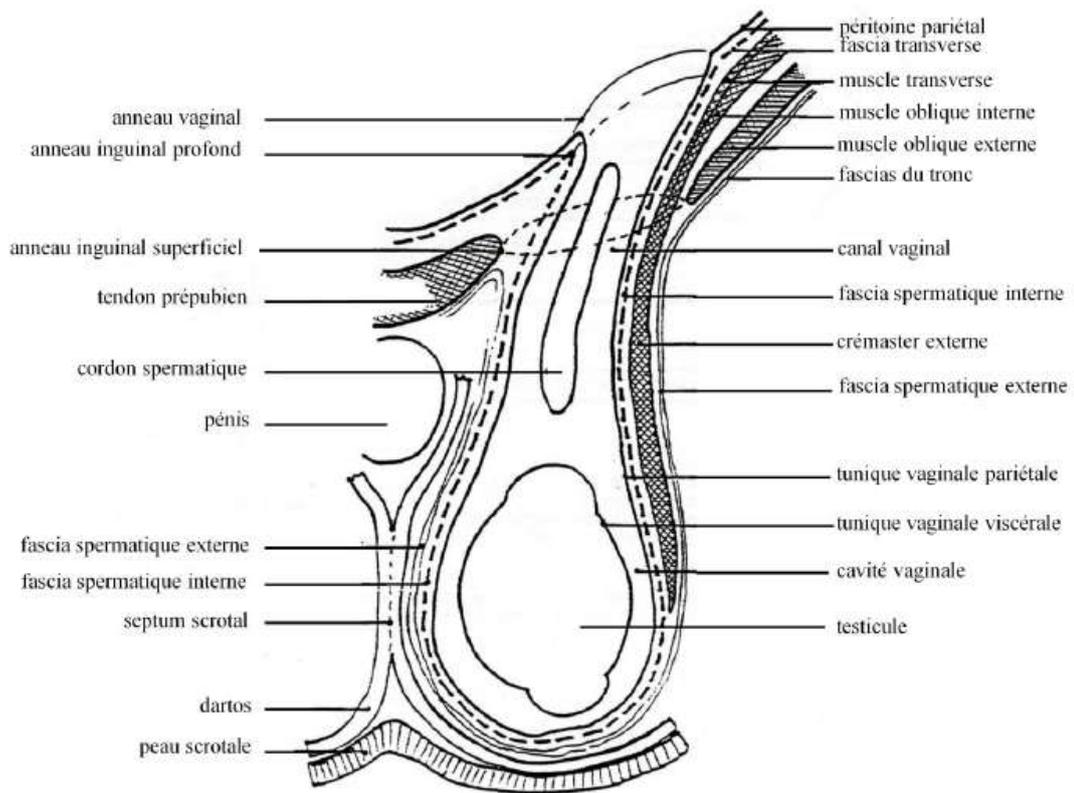


Fig. 2 - SCHEMA D'UNE COUPE LONGITUDINALE D'UN TESTICULE DROIT ET DE SES ENVELOPPES (21)

1.1.b.ii- Les enveloppes profondes

De l'extérieur vers l'intérieur :

-**Le muscle crémaster** tapisse la partie dorso-latérale de chaque testicule. Ses fibres musculaires striées dérivent du muscle oblique interne et du muscle transverse de l'abdomen. La contraction du crémaster engendre une ascension brutale du testicule au sein de l'abdomen, contribuant également à sa thermorégulation.

- **Le fascia spermatique interne** constitue la tunique fibreuse profonde du testicule. Il donne attache au muscle crémaster sur sa partie dorso-latérale. Une petite quantité de liquide péritonéal se trouve entre le fascia spermatique interne et le fascia spermatique externe, facilitant le glissement du testicule au sein du scrotum.

-Enfin, **la tunique vaginale** est l'enveloppe testiculaire la plus profonde. Cette tunique séreuse correspond à une évagination du péritoine pariétal et s'appuie sur l'albuginée du testicule.

I.1.c - Conformation interne

Chaque testicule revêt une capsule fibreuse, blanchâtre et épaisse appelée **la tunique albuginée** (18), (23). Elle s'enfonçe dans la profondeur du testicule, formant ainsi les cloisons qui séparent **les lobules testiculaires**. Ces cloisons ou *septa* convergent vers le centre du testicule pour former le **médiastin du testicule** où se trouvent de nombreux vaisseaux sanguins et **le rete testis** (Fig.3).

On dénombre entre 200 et 300 lobules par testicule. Chaque lobule renferme 1 à 4 **tubes séminifères** dans lesquels se déroule la spermatogénèse. Très sinueux, ils forment des anses dont les deux extrémités se terminent par un tube droit débouchant au niveau du *rete testis*. Ce dernier se compose d'un réseau de canalicules excréteurs anastomosés qui collectent les tubes droits provenant des lobules testiculaires et émettent les conduits efférents pénétrant dans la tête de l'épididyme.

Les espaces entre les tubes séminifères sont **les espaces interstitiels**.

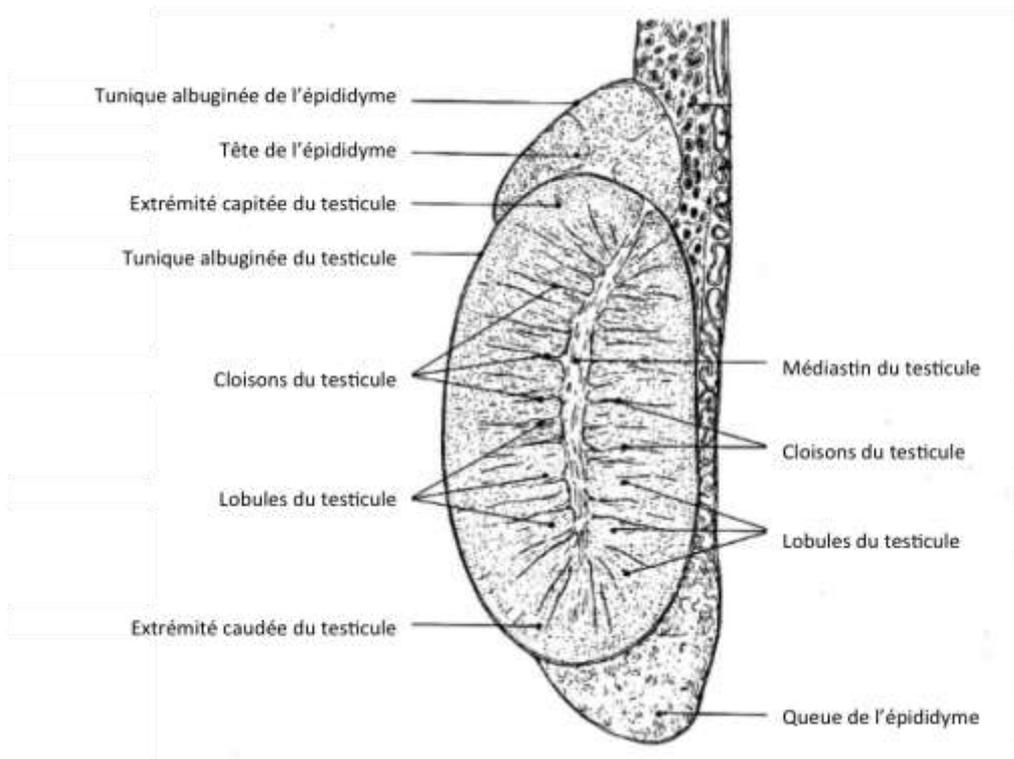


Fig. 3 - SCHEMA DE LA CONFORMATION INTERNE D'UN TESTICULE EN COUPE LONGITUDINALE (18)

I.1.d - Vascularisation

Le **cordon spermatique** contient le canal déférent, le cône vasculaire dans lequel se trouvent l'artère testiculaire ainsi que les veines testiculaires et épидидymaires (23).

L'**artère testiculaire**, très sinueuse au sein du cordon spermatique, se divise dans le testicule pour longer les cloisons interlobulaires et la tunique albuginée.

Les **veines testiculaires** forment le **plexus pampiniforme** au niveau du pôle dorsal du testicule et sont étroitement imbriquées autour de l'artère testiculaire. Elles assurent le refroidissement du sang artériel qui irrigue le testicule, par un système d'échange de chaleur à contre-courant, participant ainsi à la thermorégulation du testicule.

Les vaisseaux lymphatiques drainant le testicule et l'épididyme viennent se disposer à la périphérie du cône vasculaire.

I.2 - Histophysiologie du testicule

Le testicule présente deux grandes fonctions : une fonction exocrine, correspondant à la fabrication et à l'excrétion des gamètes mâles, les spermatozoïdes, et une fonction endocrine par la production d'hormones androgènes à l'origine de l'apparition des caractères sexuels secondaires, du comportement sexuel et de la spermatogenèse.

I.2.a - Histologie testiculaire

Le testicule est un organe lobulé : chaque lobule est composé de tubes séminifères et de tissu interstitiel (15), (7). Un tube séminifère est délimité par une épaisse couche basale et se divise en deux compartiments : une lumière centrale entourée par un épithélium stratifié (Fig.4).

La couche basale de l'épithélium contient des cellules germinales indifférenciées appelées **spermatogonies de type A**. Elles se divisent par mitose au cours de la vie embryonnaire.

L'épithélium se compose de **cellules de Sertoli** et de cellules germinales en cours de différenciation. Les cellules de Sertoli sont en contact les unes avec les autres grâce à des

jonctions spécifiques qui lient leurs prolongements cytoplasmiques. Elles constituent un support pour les cellules germinales.

Le tissu interstitiel, disséminé entre les tubes séminifères, est composé de tissu conjonctif au sein duquel se trouvent **les cellules de Leydig**, disposées en petits amas le long du trajet des vaisseaux capillaires. Ces cellules interstitielles sécrètent la testostérone. Plusieurs autres types de cellules tels que des fibroblastes, des macrophages, des lymphocytes ou des mastocytes, logent également au sein du tissu interstitiel.

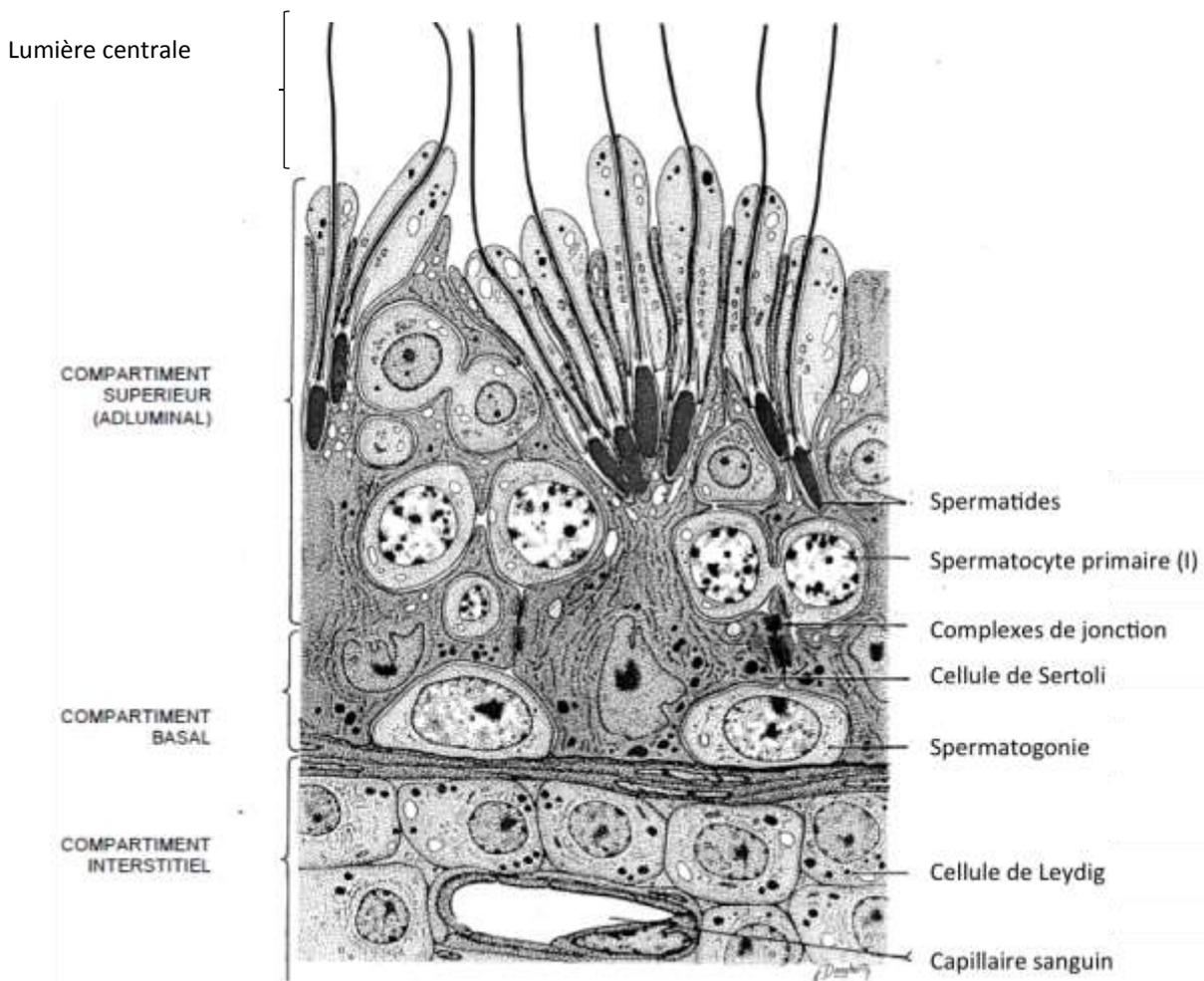


Fig. 4 - ULTRASTRUCTURE D'UNE PORTION DE TUBE SEMINIFERE (3)

De plus, le testicule renferme du liquide dans ses différents compartiments (23). Le tissu interstitiel et les tubes séminifères sont baignés par le liquide interstitiel qui joue un rôle important dans les fonctions endocrine et exocrine du testicule. Le liquide qui se trouve dans la lumière des tubes séminifères véhicule les spermatozoïdes jusqu'au *rete testis*. Le liquide du *rete testis* assure le transport des spermatozoïdes immobiles, présents à hauteur

de 300 millions/mL environ. Environ 99% de ce fluide est ensuite réabsorbé au niveau de l'épididyme, majoritairement au niveau de la tête épидидymaire, ce qui conduira à l'augmentation de la concentration en spermatozoïdes.

I.2.b - La spermatogénèse

La spermatogénèse est la production continue d'un grand nombre de spermatozoïdes à partir de cellules germinales souches indifférenciées. Les cycles spermatogénétiques commencent à se dérouler régulièrement dès la puberté, vers l'âge de 6 mois, puis se poursuivent tout au long de la vie de l'animal au sein des testicules (7). La durée moyenne de la spermatogénèse est de 49 jours chez le bélier adulte et la production moyenne est de 21 millions de spermatozoïdes/jour/g de testicule (23). Son déroulement normal nécessite une température de 3 à 5°C inférieure à celle du corps.

La spermatogénèse se déroule en trois étapes :

-la spermatocytogénèse :

Les spermatogonies de type A subissent des mitoses. La dernière vague de mitose donne lieu à une spermatogonie de type A, qui va maintenir le pool constant de cellules germinales souches et une spermatogonie de type B, qui va être à l'origine d'une lignée germinale. Les spermatogonies de type B entrent ensuite en phase de différenciation pour donner des spermatocytes I.

-la méiose :

A l'issue de la première division méiotique, les spermatocytes I se transforment en spermatocytes II. Ensuite, la seconde division de méiose donne des cellules haploïdes : les spermatides. Ainsi, à partir d'un spermatocyte I, on obtient deux spermatocytes II puis quatre spermatides.

-la spermiogénèse :

Suite à de nombreux remaniements cytoplasmiques et à la condensation de la chromatine, les spermatides, cellules rondes et immobiles, se transforment en spermatozoïdes.

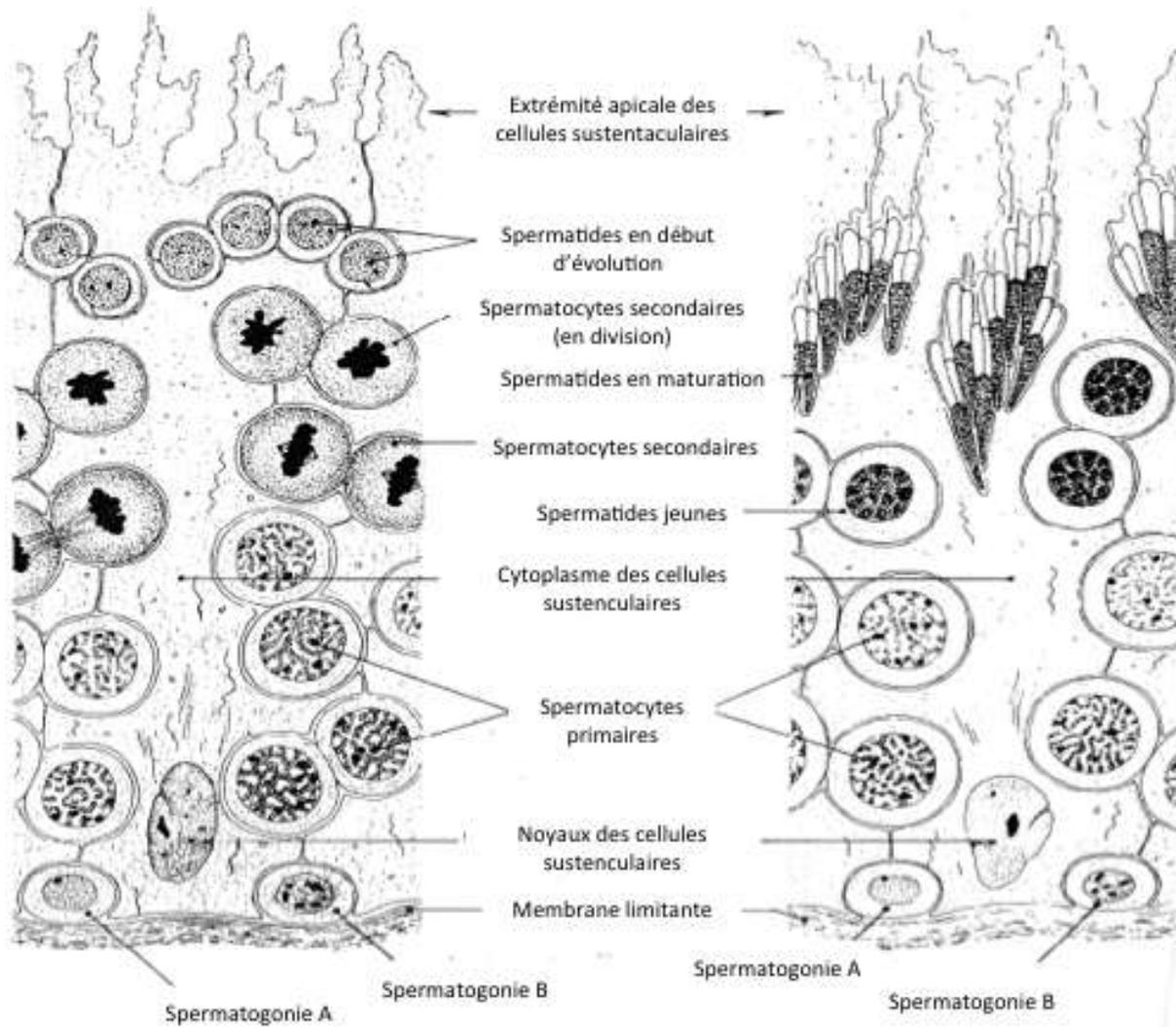


Fig. 5 - STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU TUBE SEMINIFERE (5)

Au cours de leur différenciation, les cellules évoluent de manière hélicoïdale au sein du tube séminifère. De ce fait, sur un plan de coupe histologique donné, on observe des cellules de plus en plus différenciées de la couche basale vers la lumière du tube séminifère (Fig. 5). De plus, en fonction de la coupe histologique réalisée, on observe différentes combinaisons de stades de différenciation cellulaire.

I.2.c - Régulation hormonale de la spermatogénèse chez le bélier

La fonction sexuelle chez le bélier est régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire, l'épiphyse et le testicule (15).

Le cortex cérébral est sensible à différents facteurs environnementaux qui ont une influence sur la fonction sexuelle. L'un de ces principaux facteurs est la photopériode chez le

bélier (reproduction saisonnée). En effet, pendant la période de jours longs, l'activité sexuelle des béliers est diminuée. Ces variations photopériodiques sont traduites par un message hormonal, la durée de sécrétion de la mélatonine, qui est produite pendant la phase nocturne du nyctémère. Des jours courts, c'est-à-dire une durée de sécrétion de mélatonine longue, stimulent la sécrétion pulsatile de GnRH. Les ovins de race Lacaune présentent donc une période d'activité sexuelle maximale entre les mois de juin et décembre.

L'hypothalamus produit **la GnRH** (Gonadotropin Releasing Hormone) qui stimule la synthèse et la libération des hormones gonadotropes hypophysaires : LH (Luteinizing Hormone) et FSH (Follicle-Stimulating Hormone). **La LH**, dont la sécrétion hypophysaire est pulsatile, stimule la production de testostérone et d'œstradiol par les cellules de Leydig. **La testostérone** régule notamment l'initiation et le maintien de la spermatogénèse ainsi que le comportement sexuel. **La FSH** agit sur les cellules de Sertoli qui ont un rôle nourricier pour les cellules germinales. En effet, elles produisent **l'ABP** (Androgen Binding Protein) qui assure le transport de la testostérone jusqu'aux cellules germinales. Les cellules de Sertoli sécrètent également l'inhibine et l'activine. Cette dernière stimule la production de FSH. A l'inverse, l'inhibine, la testostérone et l'œstradiol assurent un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de GnRH, FSH et LH par l'axe hypothalamo-hypophysaire.

I.2.d - La mise en place de la puberté

L'ontogénèse des gonades mâles implique le développement du testicule lui-même mais également la mise en place du système endocrinien. Celle-ci débute dès la vie fœtale et l'un de ses acteurs est l'Hormone Anti-Müllérienne (AMH). En effet, cette hormone est présente dès les premiers stades de développement du testicule fœtal. Elle atteint un maximum lors de la régression des canaux de Müller (23), qui sont des structures embryonnaires à l'origine de la formation de l'utérus chez la femelle. Ainsi, les canaux de Wolff, structures embryonnaires à l'origine des canaux déférents et épидidymaires, des glandes vésiculaires et des canaux éjaculateurs, peuvent se développer.

A la naissance, les tubes séminifères des testicules sont constitués de cellules germinales souches indifférenciées et de cellules de support, futures cellules de Sertoli. Ces deux types cellulaires voient leurs populations augmenter par mitose (11). Ensuite, la

sécrétion hypophysaire de FSH et de LH débute et augmente progressivement. Au sein du tissu interstitiel, le nombre de cellules de Leydig augmente également. Ces deux phénomènes permettent le début de la sécrétion de la testostérone.

Commence ensuite la période pré-pubère, au cours de laquelle les cellules support arrêtent de se diviser et se différencient en cellules de Sertoli. Les cellules germinales continuent à se diviser et commencent à se différencier, ce qui engendre une augmentation importante de la taille du testicule. La production croissante de testostérone entraîne la mise en place des caractères sexuels secondaires mâles.

La puberté est marquée par le début de la production des spermatozoïdes. Elle survient vers l'âge de 6 mois chez les béliers Lacaune. Le testicule réalise alors des cycles spermatogénétiques réguliers et continus. La sécrétion pulsatile de LH et de testostérone se poursuit et la sécrétion de FSH augmente. Cependant, les premiers éjaculats présentent une concentration spermatique faible. Beaucoup de spermatozoïdes ne sont pas fonctionnels et leur motilité reste faible. Il faudra attendre l'âge de 18 mois, chez les béliers de race Lacaune, pour que la production spermatique soit maximale, soit en moyenne 5,5 milliards de spermatozoïdes par jour, en saison de reproduction (24).

Les modifications observées au sein des testicules lors de la mise en place de la fonction sexuelle chez les agneaux mâles peuvent être explorées par échographie. Cette technique d'imagerie, utilisée dès le plus jeune âge, pourrait donc constituer un indicateur précoce de la fonction sexuelle à l'âge adulte.

II- L'échographie :

L'échographie est une technique d'imagerie médicale basée sur l'utilisation d'ultrasons. Elle permet l'exploration des organes dans leur totalité, donnant ainsi des informations complémentaires et supplémentaires par rapport à celles apportées par l'inspection et la palpation. C'est une technique non invasive, sans danger pour l'animal. Réalisé sur les testicules, l'examen échographique n'affecte pas la qualité de la semence chez le taureau (16). En effet, la réponse d'un tissu aux ultrasons est sans conséquence : l'élévation de température engendrée ne peut pas dépasser 1°C. De plus, des lésions se créent lorsque l'énergie appliquée sur le tissu testiculaire est au moins égale à 100 mWatt/cm². Or l'énergie des ultrasons d'un échographe n'est que de 1 à 10 mWatt/cm² (19).

II.1 - Les ultrasons : origine, définition et propriétés physiques

La sonde d'un échographe contient des cristaux présentant des propriétés piézo-électriques. L'effet piézo-électrique est la capacité à transformer une énergie électrique en énergie mécanique et vice-versa. Ainsi, lorsqu'un influx électrique est appliqué à la sonde échographique, cela déclenche une succession d'expansions et de contractions des cristaux. L'expansion des cristaux va entraîner une compression des molécules tissulaires adjacentes et la contraction successive des cristaux va induire une décompression de ces mêmes molécules tissulaires. Ce phénomène se propage de proche en proche au sein du tissu (19). **Un ultrason** correspond à des ondes ou vagues de pressions mécaniques générées par une succession de pressions et décompressions des particules d'un milieu. C'est un mouvement longitudinal périodique (Fig. 6).

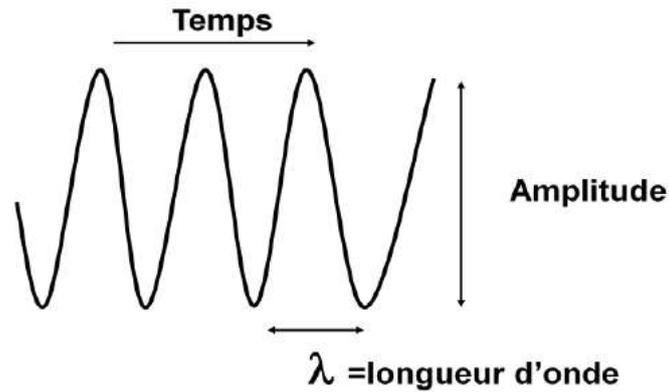


Fig. 6 - LONGUEUR D'ONDE λ ET AMPLITUDE D'UNE ONDE ULTRASONORE (12)

Une onde ultrasonore se définit par plusieurs propriétés physiques :

-**La célérité (C)** est la vitesse de propagation de l'onde. Elle dépend uniquement de la densité et de l'élasticité du milieu traversé. La vitesse moyenne de propagation dans les tissus mous s'élève à 1540 m/s, sauf dans les os (4080 m/s) et dans les poumons en raison de la présence d'air (600 m/s).

-**L'amplitude** de l'onde correspond à l'amplitude du mouvement des particules du milieu traversé.

-**L'intensité** de l'onde est la quantité d'énergie qui traverse une unité de surface par unité de temps. Elle s'exprime en Watt/cm² (W/cm²).

-**La fréquence (f)** est définie comme le nombre de vibrations émises par la source ultrasonore par unité de temps. L'unité est le Hertz (Hz). 1 Hertz est égal à 1 cycle de vibration par seconde. Les ultrasons se caractérisent par une fréquence supérieure à 20 000 Hz. C'est pourquoi ils sont inaudibles par l'oreille humaine qui perçoit des ondes sonores dont la fréquence est comprise entre 20 et 20 000 Hz.

-**La longueur d'onde (λ)** correspond à la distance parcourue par l'onde ultrasonore pendant 1 cycle de vibrations (Fig. 6).

La longueur d'onde (λ), la fréquence (f) et la célérité (C) sont reliées par l'équation suivante :

$$\lambda = C/f.$$

II.2 - Interactions des ondes ultrasonores avec les tissus

II.2.a - La genèse des échos

L'impédance acoustique (z) d'un tissu caractérise son aptitude à propager une onde ultrasonore en son sein (19). Elle se définit par le produit de la densité du milieu (ρ) et de la célérité (C): $z = \rho \times C$. Une interface tissulaire se crée quand deux tissus d'impédances acoustiques différentes sont en contact. Lorsqu'une onde ultrasonore qui se propage dans un milieu rencontre une interface tissulaire, une partie de l'onde va être réfléchiée et l'autre partie sera transmise. L'onde réfléchiée correspond à l'écho et l'onde transmise traverse l'interface puis continue d'explorer les tissus plus profonds. L'importance relative de l'onde réfléchiée par rapport à l'onde transmise dépend de la différence d'impédance acoustique entre les deux milieux concernés. Ainsi, plus cette différence est grande, plus le phénomène de réflexion de l'onde sera important. Par exemple, le gaz et l'os sont des milieux qui présentent des impédances acoustiques très différentes de celles des tissus mous. De ce fait, lorsqu'un ultrason rencontre un de ces milieux, la majeure partie de l'onde est réfléchiée (plus de 99%). L'air constitue donc un obstacle à la propagation des ultrasons. C'est pourquoi il est recommandé de couper les poils et d'utiliser un gel lors d'une échographie transcutanée, afin de limiter la formation de pochettes d'air entre la sonde et la peau. Au contraire, lorsque deux milieux présentent des impédances acoustiques similaires, la majorité de l'onde incidente est transmise et pourra alors permettre d'explorer les tissus sous-jacents.

II.2.b - L'atténuation de l'onde ultrasonore

La réflexion est la base de la formation de l'écho. Mais au fur et à mesure que le faisceau progresse dans les tissus et qu'il subit le phénomène de réflexion, l'intensité de l'onde transmise diminue, ce qui va limiter la profondeur des tissus explorés. C'est pourquoi, pour deux milieux d'impédances acoustiques similaires, le tissu profond apparaîtra plus foncé que le tissu superficiel (19).

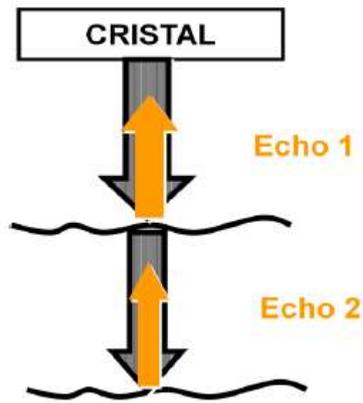


Fig. 7 - SCHEMA DU PHENOMENE D'ATTENUATION D'UNE ONDE ULTRASONORE (12)

Soient I_1 , l'intensité de l'onde incidente sur la première interface et I_2 , l'intensité de l'onde transmise sur la deuxième interface. L'Echo 1 entraîne une baisse de I_2 donc $I_2 < I_1$ et $\text{Echo 2} < \text{Echo 1}$.

D'autre part, le phénomène d'atténuation (Fig.7) dépend de la fréquence de l'onde ultrasonore. En effet, plus la fréquence est haute, plus le phénomène d'atténuation est important, moins la profondeur explorée est grande mais meilleure est la définition.

D'autres mécanismes contribuent à la diminution de l'intensité de l'onde lors de son passage au niveau des interfaces tissulaires :

-**La réfraction** (Fig.8) correspond à une déviation de l'onde ultrasonore lorsque l'interface tissulaire n'est pas perpendiculaire à la direction de l'onde. L'onde est réfléchie avec un angle égal à l'angle d'incidence, ce qui va engendrer la non-réception de l'écho par la sonde échographique et contribuer à l'atténuation de l'onde ultrasonore. L'onde transmise, quant à elle, est aussi déviée par rapport à l'onde incidente.

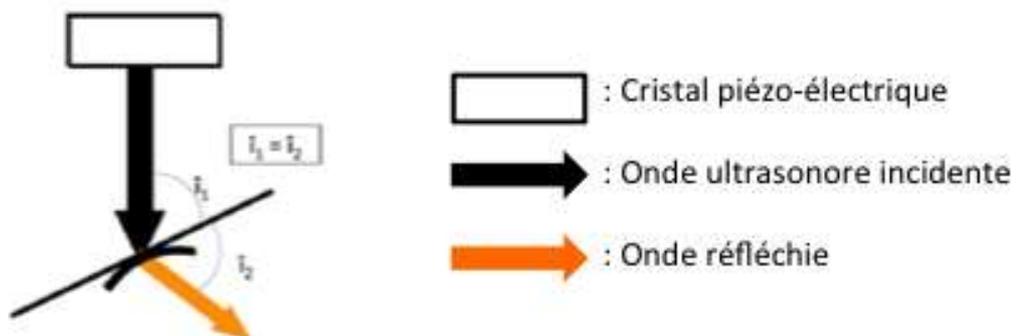


Fig. 8 – SCHEMA DU PHENOMENE DE REFRACTION, (12)

\hat{i}_1 , l'angle d'incidence, \hat{i}_2 , l'angle de réfraction.

-La **diffusion** (Fig.9) intervient lorsque l'interface est de petite taille par rapport à l'onde ultrasonore incidente. L'onde est alors absorbée puis réémise dans toutes les directions. L'interface se comporte donc comme une source émettrice.

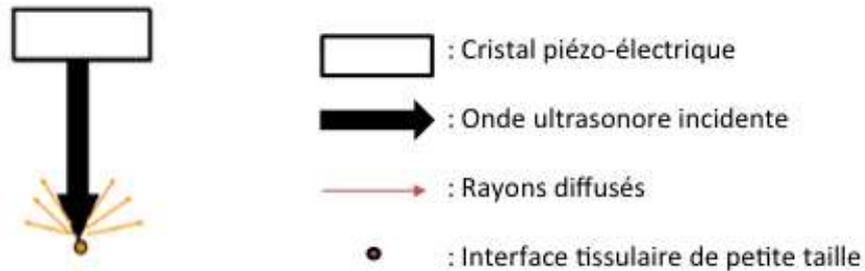


Fig. 9 - SCHEMA DU PHENOMENE DE DIFFUSION, (12)

-L'**absorption** transforme l'énergie en chaleur. Ce phénomène est minime en échographie puisque l'élévation de température engendrée ne dépasse pas 1°C. C'est le seul mécanisme qui diminue directement l'énergie de l'onde, les autres la dévient.

II.3 - Formation et interprétation de l'image

II.3.a - Emission et réception des ultrasons

Les ondes ultrasonores ne sont pas émises de manière continue mais plutôt sous la forme de salves (Fig.10). En effet, les cristaux piézo-électriques de la sonde échographique sont soumis à des séries de courtes impulsions électriques qui sont transformées en salves de vibrations mécaniques. Une salve se compose toujours de 3 à 4 vibrations. La fréquence (f) fait varier la durée de chaque salve (19).

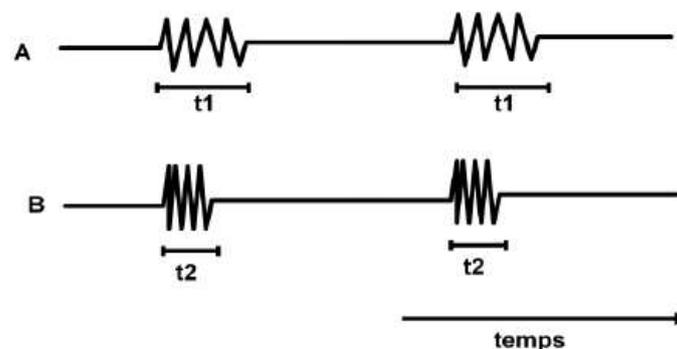


Fig. 10 - SCHEMA DE L'EMISSION D'ULTRASONS SOUS FORME DE SALVES, (12)

Soient $f(A)$ et $f(B)$, les fréquences respectives des ondes A et B, t_1 et t_2 , la durée des salves respectives des ondes A et B : $f(A) < f(B)$ et $t_1 > t_2$.

Les ultrasons ainsi formés se propagent dans les tissus sous-jacents et sont réfléchis aux différentes interfaces tissulaires rencontrées (entre des milieux d'impédances acoustiques différentes). Entre chaque salve, une phase de latence permet la réception de l'onde réfléchie, l'écho, qui déforme les cristaux. Ces derniers vont transformer ces vibrations reçues en un signal électrique qui sera ensuite intégré par l'échographe (Fig. 11). Les signaux électriques générés par les échos sont transmis sur l'écran de l'échographe sous la forme de points lumineux, nommés pixels, dont la profondeur sur l'écran est relative au temps de retour de l'écho à la sonde.

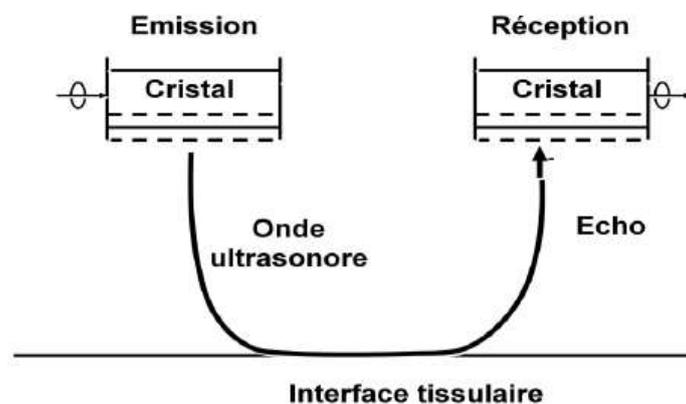


Fig. 11 - SCHEMA DE L'EMISSION ET DE LA RECEPTION DES ULTRASONS, (12)

La brillance des différents points lumineux de l'image obtenue dépend de l'intensité de l'écho. Elle est représentée par une échelle de gris : les structures anéchogènes, comme les liquides, apparaissent en noir alors que les structures très échogènes, telles que le *rete testis*, apparaissent en blanc. Les structures d'échogénicité intermédiaire sont représentées par diverses nuances de gris.

Le mode bidimensionnel BD permet d'obtenir une image échographique du plan de coupe défini par l'orientation de la sonde. On observe donc des coupes d'organes en deux dimensions, équivalentes à des coupes histologiques. 20 à 30 images par seconde sont formées. On obtient alors des images en temps réel qui changent avec le déplacement de la sonde ou de l'organe.

II.3.b - Interprétation des images échographiques

L'interprétation d'images échographiques nécessite non seulement des connaissances d'anatomie, de physiologie et la maîtrise de principes de base de physique, mais aussi la capacité à reconnaître les images artéfactuelles. Plusieurs types d'artéfacts peuvent gêner l'interprétation de certaines images échographiques (19).

-Les réflexions spéculaires (Fig.12) :

Elles se forment lorsque le faisceau d'ondes ultrasonores rencontre une surface lisse, parallèle à la sonde mais plus large que le faisceau lui-même. Seules les ondes qui frapperont la surface avec un angle droit seront captées et enregistrées comme échos par la sonde, car elles sont réfléchies avec le même angle. Cependant, quand l'angle d'incidence n'est pas droit, l'onde réfléchie est alors renvoyée avec ce même angle et ne sera donc pas détectée par la sonde échographique. Ce phénomène intervient surtout lorsque l'on échographie des structures vésiculaires.

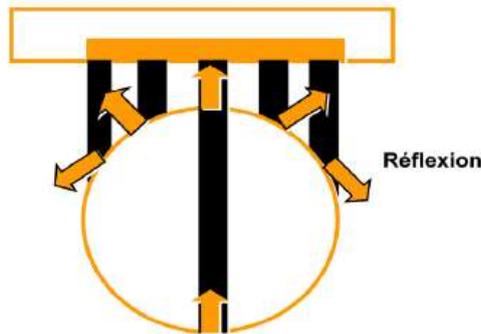


Fig. 12 - SCHEMA DU PHENOMENE DE REFLEXION SPECULAIRE, (12)

-Les réflexions non spéculaires ou diffuses (Fig.13) :

Elles surviennent lorsque le faisceau d'ondes ultrasonores rencontre des surfaces rugueuses ou plus étroites que lui. Les ondes ainsi réfléchies partent dans toutes les directions. Ce phénomène est observé lorsque l'on échographie des parenchymes. En effet, les éléments de petites tailles présents dans un parenchyme, tels que les capillaires ou les éléments d'un tissu conjonctif, sont à l'origine de l'échostructure caractéristique d'un parenchyme : un piqueté réparti de façon homogène. Comme l'amplitude est indépendante de l'incidence, la nuance de gris d'une telle structure ne varie quasiment pas avec

l'orientation de la sonde échographique. Ce phénomène est caractéristique des tissus comme le parenchyme testiculaire qui présente une échogénicité grisée et homogène.

Surface non lisse Petites interfaces

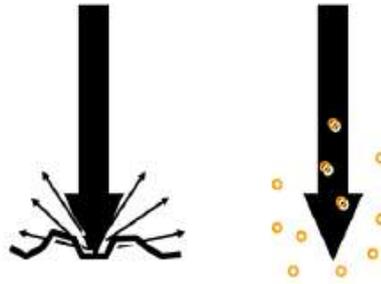


Fig. 13 - SCHEMA DU PHENOMENE DE REFLEXION NON SPECULAIRE, (12)

-Les ombres artéfactuelles :

Une zone apparaissant noire peut correspondre à une absence de réflecteur (par exemple, du liquide ou de l'air). Cependant, cela peut aussi être d'origine artéfactuelle. Une ombre peut aussi être créée par le blocage ou la déviation du faisceau d'ondes ultrasonores. En effet, un réflecteur très dense comme une structure osseuse peut engendrer l'arrêt de la propagation du faisceau. De plus, le côté d'une structure cavitaire contenant de l'air ou du liquide entraîne la déviation du faisceau, créant alors un cône d'ombre en-dessous (Fig.14).

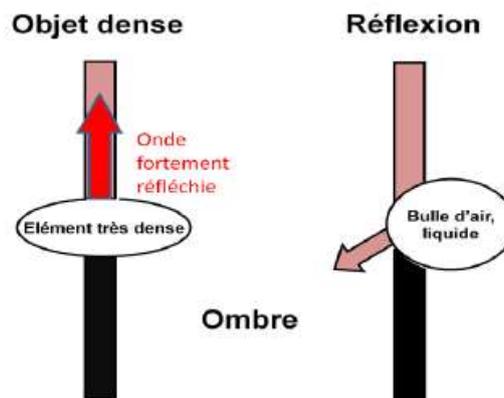


Fig. 14 - SCHEMA DE LA FORMATION D'UN CONE D'OMBRE, (12)

On observe fréquemment ce genre d'artéfact dans le cadre de l'échographie testiculaire en raison de la forme arrondie du scrotum qui entraîne la formation de petites poches d'air entre le testicule et la sonde échographique. De ce fait, il est important de

maintenir délicatement les testicules au fond du scrotum et d'utiliser un gel à appliquer sur la sonde échographique.

-Les artéfacts par augmentation :

On parle également de renforcement postérieur. Ce phénomène survient lors de l'échographie d'une structure cavitaire contenant un liquide. En effet, lorsque le faisceau traverse un liquide, les ondes ultrasonores ne sont pas atténuées. C'est pourquoi l'échogénicité apparente des structures sous-jacentes est plus importante que celle des tissus environnants situés à la même profondeur. Ce type d'artéfact est peu rencontré dans le cadre de l'échographie testiculaire.

-Les artéfacts par réverbération :

On les appelle aussi artéfacts en queues de comète. La réverbération est due au rebondissement de l'écho entre la sonde et une surface très réfléchissante proche de la sonde (air ou os). Cela donne lieu à un empilement d'échos sur l'écran, qui se manifeste sous la forme de lignes échogènes, équidistantes et parallèles à la paroi de réflexion. Le premier écho est légitime, les autres sont des réverbérations. Ces dernières s'affaiblissent progressivement par atténuation et apparaissent de plus en plus bas sur l'écran. Ce type d'artéfact est également rare lors de l'échographie des testicules.

PARTIE EXPERIMENTALE

III- Matériel et méthodes :

L'étude a été conduite sous la responsabilité de l'ingénieur de recherche Eli SELLEM et du Docteur Chrystelle LE DANVIC, d'ALLICE.

La partie expérimentale a été réalisée au Centre de Production de Semence Ovitest, situé à Saint-Léons, en Aveyron.

III.1- Les animaux

Parmi l'ensemble de la population d'agneaux de race Lacaune (issus d'accouplements raisonnés à la ferme) entrés au centre d'insémination (n=1200), 759 ont été sélectionnés pour l'étude, en fonction de leur classe d'âge au mois de janvier 2015. La répartition des âges s'est étendue de 1 à 3,5 mois d'âge, avec 70% de la population entre 2 et 3 mois (Tabl.1).

Tabl. 1 - REPARTITION DES BELIERS DANS LES DIFFERENTES CLASSES D'AGE

Classe d'âge (mois)	Effectif (nombre de béliers)	Fréquence (%)
[1 – 1,5]	1	0.1
[1,50 – 1,75]	38	5.0
[1,75 – 2]	61	8.0
[2 – 2,25]	101	13.3
[2,25 – 2,5]	151	19.9
[2,5 – 2,75]	168	22.1
[2,75 – 3]	106	14.0
[3 – 3,25]	131	17.3
[3,25 – 3,5]	2	0.3

Les conditions d'élevage (alimentation, prophylaxie sanitaire, photopériodisme) de l'ensemble des béliers intégrés à l'étude ont été les mêmes et sont décrites en Annexe 1.

Les différentes étapes de sélection sont présentées sur le schéma suivant (Fig. 15).

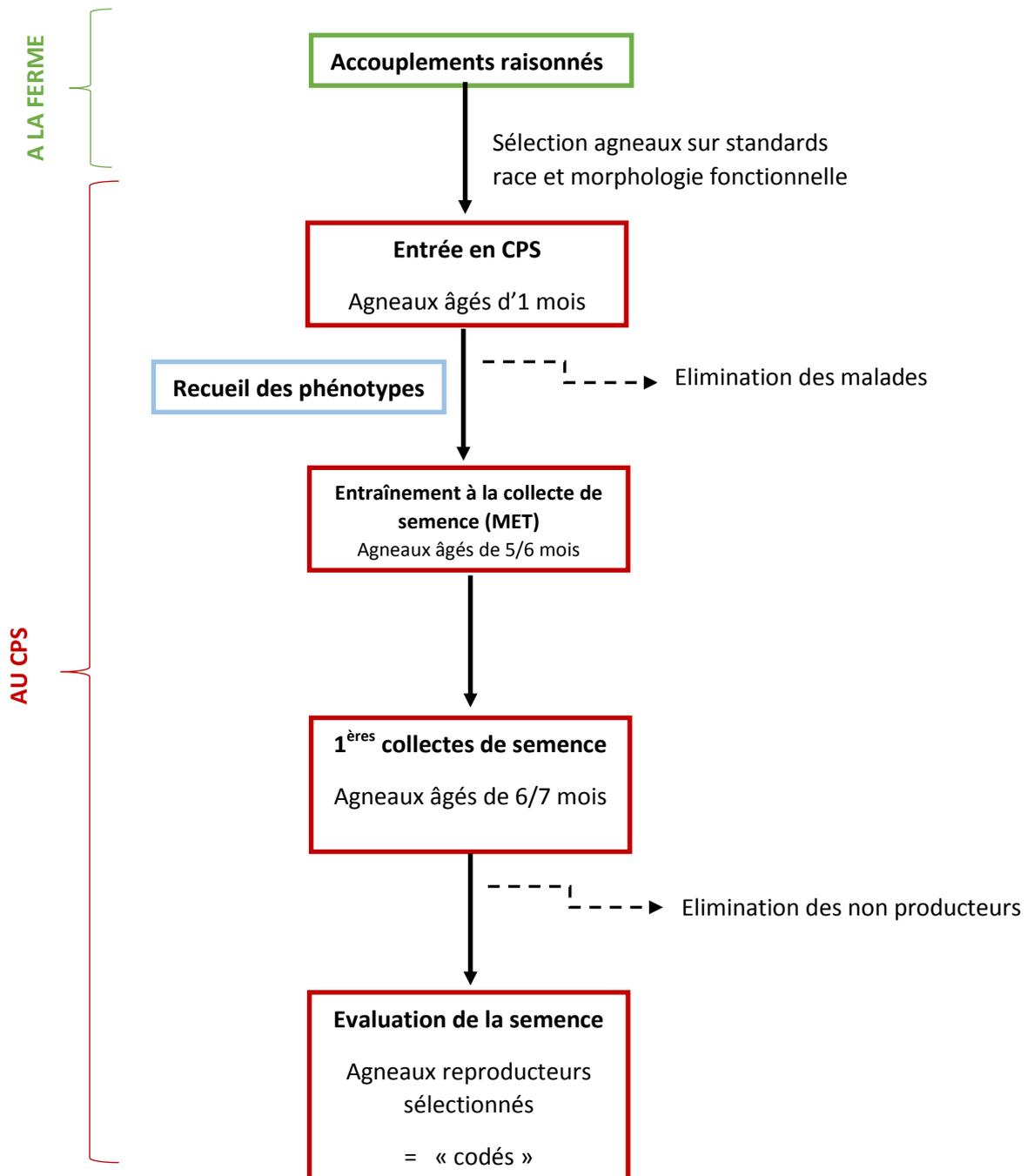


Fig. 15 - SCHEMA DES ETAPES DE SELECTION DES AGNEAUX MALES A L'ENTREE ET AU SEIN DU CPS

III.2- Caractéristiques phénotypiques

Des mensurations et échographies testiculaires ont été réalisées à trois reprises à 1 mois d'intervalle sur la cohorte sélectionnée, soit en moyenne à 2,5, 3,5 et 4,5 mois d'âge, respectivement en janvier, février et mars 2015. Pour ces mesures, la contention des béliers était assurée grâce à un cornadis à deux places. Les animaux étaient donc en position

debout. Avant toute mesure, une inspection du scrotum et une palpation des testicules ont été réalisées. La prise des mensurations a été faite toujours par le même opérateur (moi-même), placé à l'arrière de l'animal.

Le personnel du CPS a enregistré les observations caractérisant l'apparition de la puberté ainsi que les données de production de semence sur la première campagne de collecte (de mai à septembre 2015) pour tous les béliers mis en testage (MET) en avril.

III.2.a- Mensurations testiculaires

Les mensurations testiculaires ont été réalisées à l'aide d'un mètre-ruban (Fig. 16).

Trois mensurations ont été prises :

-**La circonférence scrotale CS** : elle a été mesurée en faisant le tour des deux testicules avec le mètre-ruban à l'endroit le plus large du scrotum (Fig. 16-A).

-**La hauteur H d'un testicule** : la mesure a été prise de l'extrémité capitée à l'extrémité caudée du testicule. Ces deux extrémités étaient repérées grâce à une palpation préalable du testicule (Fig. 16-B).

-**La largeur scrotale L** : elle a été mesurée dans la zone la plus large du scrotum. (Fig. 16-C).

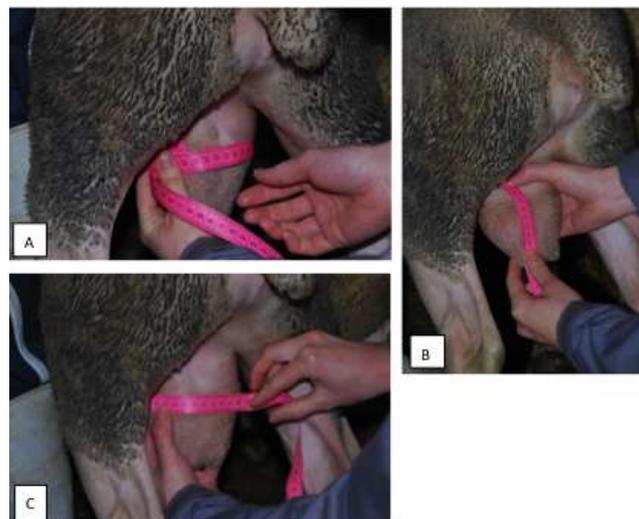


Fig. 16 - PHOTOGRAPHIES DE LA PRISE DES MENSURATIONS TESTICULAIRES AU METRE-RUBAN :
A-mesure de la CS, B-mesure de la hauteur testiculaire H, C-mesure de la largeur des testicules L

Grâce à ces mesures, le volume testiculaire moyen de chaque bélier a été calculé selon la formule suivante :

$$V1 \text{ (en cm}^3\text{)} = 4/3\pi \times (0,5 \times H) \times (0,5 \times L) \times (0,5 \times E)$$

$$\text{Avec E (en cm)} = (CS - 2 \times L) / 2$$

Où H : Hauteur du testicule, L : Largeur scrotale, E : Epaisseur du testicule, CS : Circonférence Scrotale.

III.2.b - Les échographies testiculaires

Les échographies ont également été réalisées par un seul opérateur (moi-même), à l'arrière de chaque bélier en position debout, bloqué au cornadis. L'appareil échographique utilisé était un Easi-scan de la société BCF Technology (Belshill, Scotland), avec une sonde linéaire (5-7.5 MHz). L'opérateur tenait la sonde échographique d'une main et maintenait le testicule échographié de l'autre. Une autre personne tenait l'échographe de façon à ce que l'écran puisse être vu par l'opérateur puis enregistrait les images.

Les images échographiques ont été réalisées en abord latéral, sur le plus grand axe du testicule, de façon à obtenir une coupe longitudinale de l'organe, comprenant le *rete testis* (Fig. 17). Le testicule droit était échographié, puis le gauche. Mais auparavant, l'ensemble du parenchyme testiculaire était attentivement examiné afin de déterminer la présence ou l'absence d'un *rete testis* et de déceler d'éventuelles anomalies. Un volume à peu près équivalent de gel échographique était appliqué sur la sonde systématiquement avant chaque échographie.



Fig. 17 - PHOTOGRAPHIE DE LA REALISATION D'UN EXAMEN ECHOGRAPHIQUE DU TESTICULE DROIT

L'analyse des échographies a été réalisée grâce à un programme reconnaissant automatiquement les structures présentes sur le cliché, développé par Pierre Adenot, responsable de la plateforme MIMA2 (microscopie confocale, BDR / INRA).

Elle consiste dans un premier temps à délimiter, sur chaque image, la zone de travail (Fig. 18-A) puis des zones d'intérêt appelées ROI (Region Of Interest) correspondant au parenchyme testiculaire et au *rete testis*. Au total, quatre régions d'intérêt sont définies :

- **RETE TESTIS**, zone correspondant au *rete testis* (Fig. 18-B),
- **ROI1**, zone du parenchyme testiculaire située entre la partie du scrotum latérale au testicule échographié, qui correspond à la peau supérieure sur l'écran de l'échographe, et le *rete testis* (Fig. 18-C),
- **ROI2**, zone du parenchyme testiculaire située entre le *rete testis* du testicule échographié et le septum scrotal, qui correspond à la peau inférieure sur l'écran de l'échographe (Fig. 18-C),
- **ROI3**, correspondant à l'addition de ROI1 et ROI2 (Fig. 18-C).

Quand le *rete testis* est absent, une seule et grande zone d'intérêt est délimitée. Elle comprend donc tout le parenchyme testiculaire et est appelée ROI1 (Fig. 18-D). Cette zone est à comparer à la zone ROI3 des testicules avec *rete testis*.

Le tracé automatique des ROI est fait de façon à englober la plus grande zone de parenchyme testiculaire possible, sans déborder sur la peau, ni sur le *rete testis* quand il est présent, mais aussi de façon à écarter les artéfacts échographiques. Les artéfacts les plus fréquemment rencontrés lors de notre étude étaient les cônes d'ombre. Ils s'expliquent par la formation de petites poches d'air entre la sonde échographique et le scrotum, d'une part en raison d'un défaut de contact entre la sonde et le scrotum de forme arrondie, d'autre part à cause de la présence de laine, parfois épaisse sur le testicule.

Après la délimitation des zones d'intérêt, le programme informatique évalue le niveau de gris de chaque pixel compris dans une zone, c'est-à-dire son échogénicité.

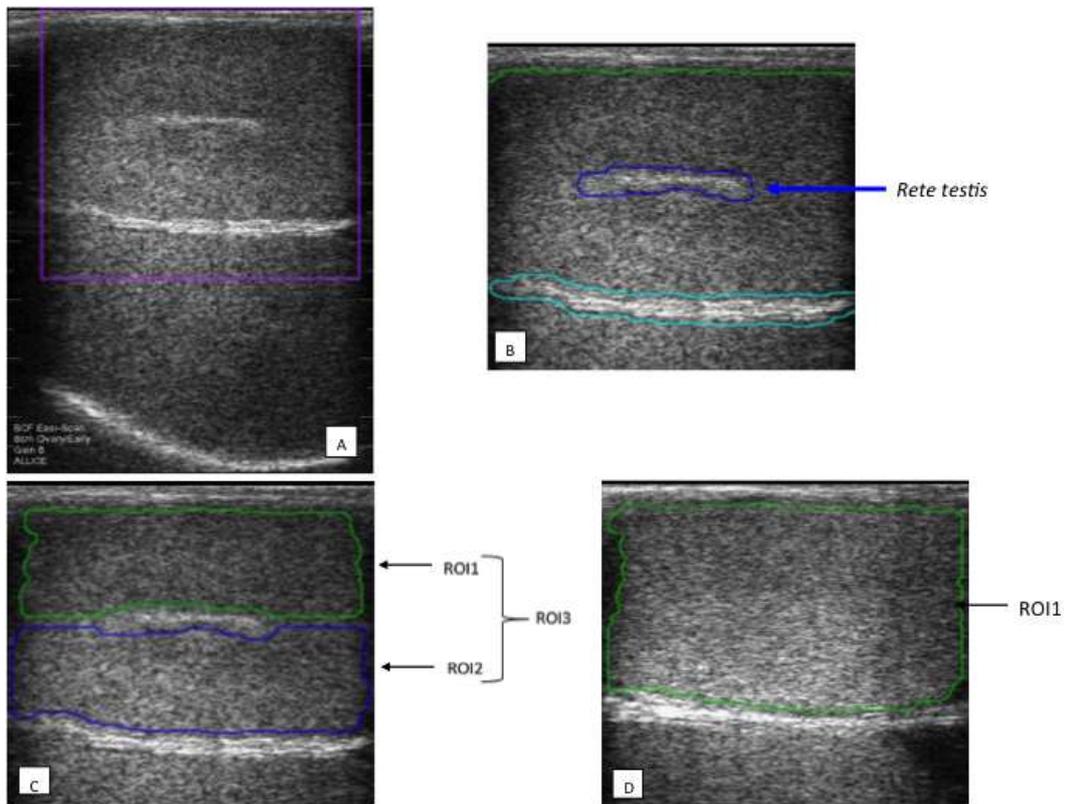


Fig. 18 - IMAGES ECHOGRAPHIQUES DES TESTICULES ET DETERMINATION DES ZONES D'INTERET
 A- Zone de travail, B- *Rete testis*, C- ROI1 (parenchyme testiculaire latéral), ROI2 (parenchyme testiculaire médial) et ROI3 (ROI1 + ROI2) d'un testicule avec *rete testis*, D- ROI1 (totalité du parenchyme testiculaire) d'un testicule sans *rete testis*

Pour chacune d'entre elles, cinq paramètres ont ensuite été calculés par le logiciel :

- **La moyenne des niveaux de gris** correspond à l'intensité moyenne de luminosité des pixels d'une région donnée.
- **La variance σ** des pixels traduit l'hétérogénéité du tissu testiculaire sélectionné en termes de niveaux de gris.
- **Le minimum** correspond au pixel le moins lumineux de la zone délimitée, celui dont le niveau de gris est le plus foncé.
- **Le kurtosis ou coefficient d'aplatissement β** constitue une mesure de l'aplatissement de la courbe de répartition des niveaux de gris d'une région donnée. Il reflète aussi l'hétérogénéité des niveaux de gris du tissu testiculaire.
- **Le skewness ou coefficient d'asymétrie** de la courbe traduit la répartition des pixels par rapport à la moyenne des niveaux de gris d'une zone donnée. Ce paramètre permet de compléter la description de l'échogénicité d'une image.

III.2.c - Caractères phénotypiques relatifs à la fonction sexuelle, relevés par le CPS Ovitest

Le CPS a relevé les données qui caractérisent le démarrage de la fonction sexuelle sur les béliers MET, à savoir l'âge au premier chevauchement en apprentissage sexuel, l'âge au premier éjaculat obtenu, le nombre d'éjaculats obtenus sur la période d'entraînement, l'âge au premier éjaculat utilisable. En plus de ces observations, le CPS a enregistré les paramètres séminologiques des éjaculats collectés : motilité massale, volume et concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat.

III.2.d - Analyse des anomalies morphologiques

Pour un groupe de 43 mâles, une analyse des anomalies morphologiques des spermatozoïdes a été effectuée sur les 7 premiers éjaculats obtenus (1 éjaculat obtenu par semaine), par le service d'Andrologie du LNCR (Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs) partenaire du projet. Cet examen a été réalisé en microscopie optique sur fond clair (grossissement x400). La semence diluée dans une solution saline formolée (dilution 1/30) a été déposée sur une lame pour effectuer un frottis. Le frottis a ensuite été coloré au bleu de méthylène afin d'augmenter le contraste pour faciliter la mise en évidence des anomalies spermatiques. Dix champs, pris au hasard, ont ensuite été analysés afin d'estimer les pourcentages d'anomalies morphologiques sur 100 spermatozoïdes. Les anomalies morphologiques relevées ont été les suivantes : anomalies morphologiques de la tête (tête malformée, étroite, petite, géante), spermatozoïdes décapités, anomalies de la pièce intermédiaire (cassure, angulation) et de la queue (repliement, enroulement).

III.3- Histologie testiculaire

Les testicules ont été prélevés sur deux béliers de 4,5 mois d'âge : des testicules normaux à l'examen échographique et des testicules présentant un *rete testis* vacuolaire. Le prélèvement a été réalisé sur la chaîne d'abattage de l'abattoir de Rodez. L'ensemble du scrotum et de son contenu a été prélevé après une section au niveau des cordons spermatiques. Les testicules ont été extraits de leurs enveloppes testiculaires superficielles et profondes puis sectionnés selon leur axe longitudinal. Un échantillon d'1 cm³ environ,

comprenant à la fois du *rete testis* et du parenchyme testiculaire, a été prélevé sur chaque testicule.

Après le prélèvement, les échantillons testiculaires ont été immédiatement plongés dans un grand volume de formol tamponné à la neutralité (9 volumes de fixateur pour 1 volume de tissu). Ce fixateur permet de préserver les structures cellulaires et les composants extra-cellulaires.

Les étapes suivantes (coupe du tissu et réalisation des blocs de paraffine, réalisation des lames histologiques, coloration des lames à l'Hémalun Eosine, (Annexe 2)) ont été réalisées au laboratoire d'Histologie et d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse par le Docteur Isabelle RAYMOND LETRON.

III.4 - Analyses statistiques

Toutes les données de production de semence, de mensurations et d'échogénicité testiculaires recueillies ont été prises en compte dans l'analyse statistique, ainsi que certaines données calculées (paramètres échographiques * V1 ou CS) (Annexe 3). Pour les données échographiques, la moyenne des valeurs des deux testicules a été considérée.

Une analyse descriptive a été réalisée sur l'ensemble des données collectées (Moyenne M, Ecart Type σ , Minimum MIN, et Maximum MAX). La variabilité des phénotypes mesurés entre les mâles a été estimée par le calcul du coefficient de variation (CV, en %) selon la formule suivante :

$$CV = (\sigma / M) \times 100$$

La relation entre les données phénotypiques récoltées (CS, V1 et paramètres d'échogénicité) et les données de production de semence a été évaluée afin de mettre en évidence des marqueurs prédictifs du démarrage de la fonction sexuelle, de la précocité et du niveau de production.

Des analyses de variances ont été réalisées avec la procédure GLM sous SAS (SAS 9.2 Software, SAS Institute, Cary, NC, USA) afin de comparer les moyennes observées sur l'ensemble des données recueillies entre les différents groupes de mâles définis. Une analyse via la procédure CART (RStudio v0.99.486 Software, RStudio, Boston, USA) a été

réalisée sur le jeu de données obtenu en février afin de déterminer des valeurs seuils pour les paramètres les plus discriminants entre les groupes de mâles. Les modèles décisionnels ainsi proposés sous la forme d'arbres ont été, dans un premier temps, construits sur 70% de la population puis testés sur les 30% restants.

L'ensemble des analyses statistiques a été effectué par E. Sellem.

IV- Résultats :

De nombreuses mesures ont été récoltées et de nombreux paramètres ont été calculés puis analysés statistiquement. Ces derniers sont reportés et décrits dans l'Annexe 3.

IV.1 - Description générale de la population mise en testage (MET)

IV.1.a - Les animaux

Sur les 1200 agneaux mâles entrés en CPS, 759 ont été suivis par ALLICE. Parmi ces derniers, 151 ont été mis en testage (MET) et ont subi une période d'entraînement à la collecte de semence.

78 % de l'effectif des animaux MET suivis, soit 116 agneaux, avaient entre 2 et 3 mois d'âge au mois de janvier 2015 (Fig. 19).

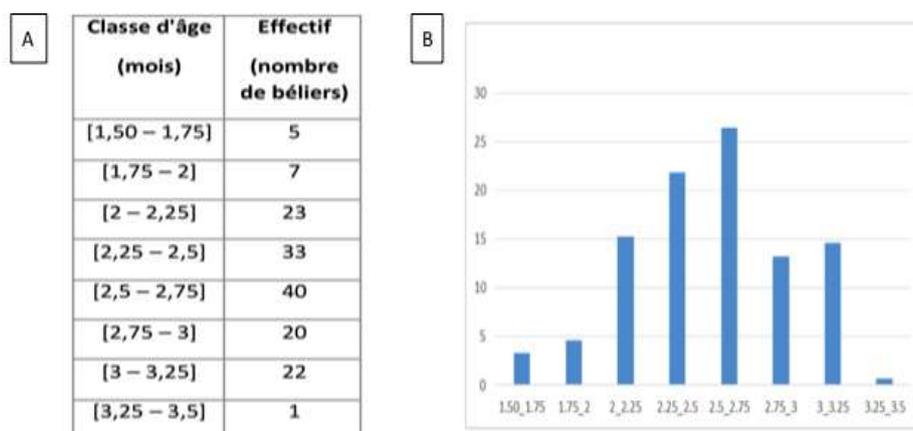


Fig. 19 - REPARTITION DES AGNEAUX MET DANS LES DIFFERENTES CLASSES D'AGE :
A-EN NOMBRE D'ANIMAUX, B- EN %, en fonction de la classe d'âge

Ainsi, la grande majorité des jeunes mâles inclus dans l'étude avaient entre 2 et 3 mois d'âge au mois de janvier, entre 3 et 4 mois d'âge au mois de février et entre 4 et 5 mois d'âge au mois de mars.

IV.1.b - Mensurations testiculaires

La circonférence scrotale CS moyenne pour les 151 béliers MET, tous mois confondus, s'élevait à 20,8 cm avec un minimum de 11 cm et un maximum de 31 cm. Les valeurs du volume testiculaire V1 allaient de 3,2 à 220,9 cm³ avec une moyenne de 74,3 cm³.

Les mensurations testiculaires mensuelles des 151 béliers MET réalisées de janvier à mars 2015 sont présentées dans le tableau 2 (Tabl. 2).

Tabl. 2 – DESCRIPTION DES MENSURATIONS TESTICULAIRES (CIRCONFERENCE SCROTALE CS ET VOLUME TESTICULAIRE V1) DE LA POPULATION MISE EN TESTAGE MET, EN JANVIER, FEVRIER ET MARS 2015

	Effectif MET	M	σ	MIN	MAX	CV en %
JANVIER 2015 (âge moyen : 2,5 mois)						
CS (cm)	151	15,4	2,5	11	24	16,0
V1 (cm³)	151	31,5	19,6	3,2	141,8	62,1
FEVRIER 2015 (âge moyen : 3,5 mois)						
CS (cm)	147	21,4	3,0	12,5	28	14,1
V1 (cm³)	147	66,9	38,5	8,5	202,1	57,5
MARS 2015 (âge moyen : 4,5 mois)						
CS (cm)	147	25,7	2,3	18	31	9,1
V1 (cm³)	147	124,6	44,7	24,2	220,9	35,9

Une augmentation significative de la CS et de V1 est observée au cours la période d'étude (Fig. 20 et 21) ($p < 0,05$ entre chaque mois). Il est intéressant de noter que la variabilité interindividuelle diminue au fil des mois. En effet, plus les béliers sont âgés plus

les CV diminuent (que l'on s'intéresse à la CS ou au V1). Ainsi, plus les béliers vieillissent moins il existe de variabilité entre eux en termes de CS et de V1.

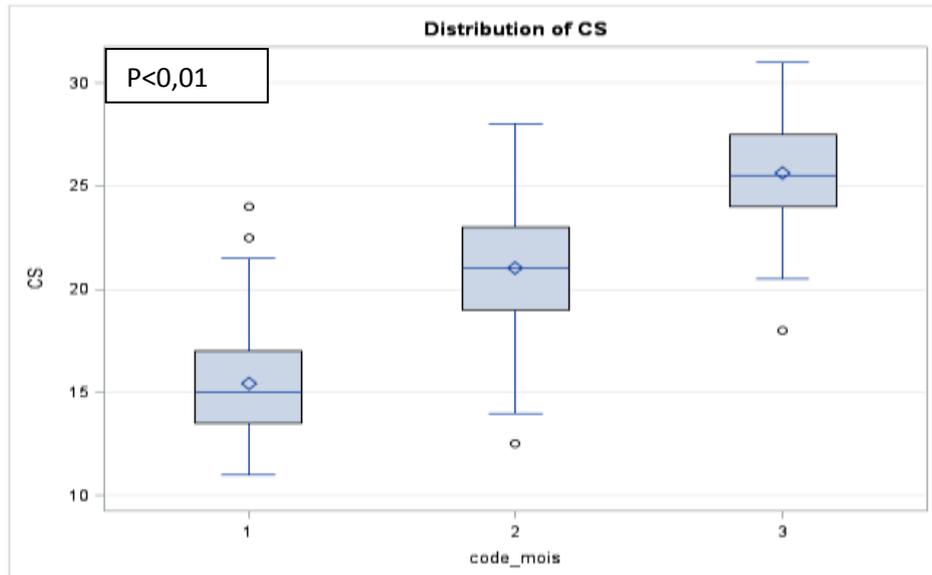


Fig.20 - DISTRIBUTION DE LA CIRCONFERENCE SCROTALE CS EN FONCTION DU MOIS (1 : JANVIER (2,5 mois d'âge), 2 : FEVRIER (3,5 mois d'âge), 3 : MARS (4,5 mois d'âge))

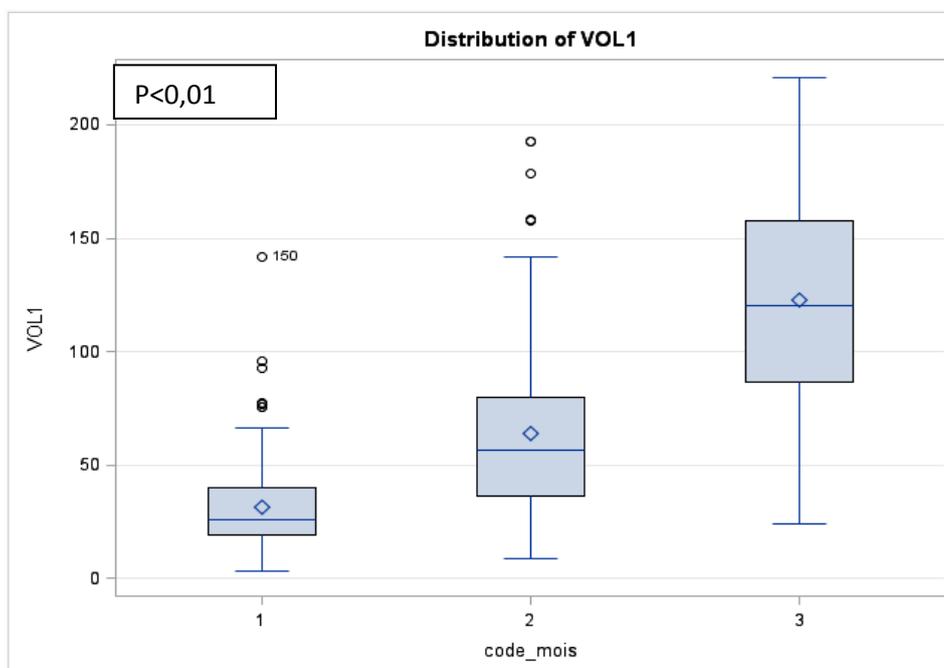


Fig. 21 - DISTRIBUTION DU VOLUME TESTICULAIRE V1 EN FONCTION DU MOIS (1 : JANVIER (2,5 mois d'âge), 2 : FEVRIER (3,5 mois d'âge), 3 : MARS (4,5 mois d'âge))

IV.1.c - Echographies testiculaires

L'observation des images échographiques a mis en évidence trois types de testicules (Fig. 22) :

- des testicules dits normaux (Fig. 22 A) présentant à l'échographie un parenchyme testiculaire homogène avec un *rete testis* relativement fin, d'échogénicité homogène et beaucoup plus importante que celle du parenchyme testiculaire l'entourant,
- des testicules sans *rete testis* visible à l'échographie (Fig. 22 B),
- des testicules avec un *rete testis* dit « vacuolaire » (Fig. 22 C), présentant un *rete testis* relativement large comparativement à celui d'un testicule normal (Fig. 22-A), d'échogénicité hétérogène et globalement moins marquée que celle d'un *rete testis* normal et que celle du parenchyme testiculaire l'entourant.

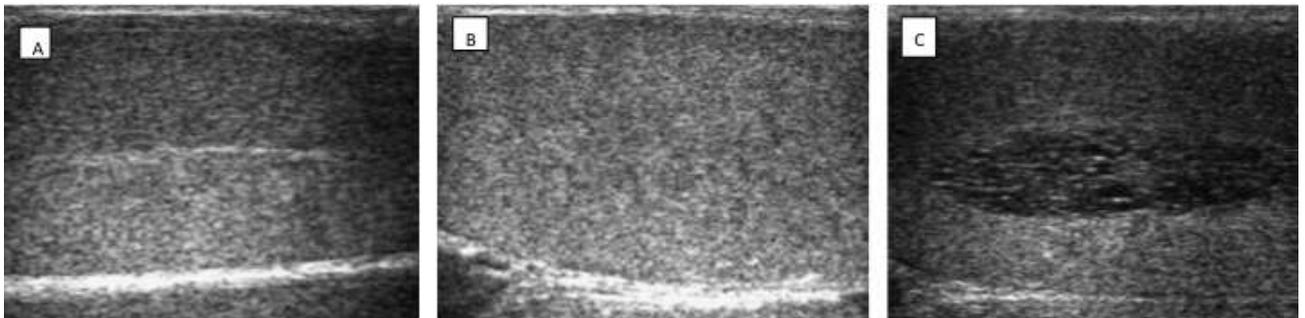


Fig. 22 - IMAGES ECHOGRAPHIQUES D'UN TESTICULE : A-NORMAL, B- SANS RETE TESTIS, C- AVEC RETE TESTIS « VACUOLAIRE »

Le programme informatique analysant les images échographiques n'étant pas capable de traiter les échographies des testicules dits « vacuolaires », aucune valeur d'échogénicité n'a été obtenue pour ces clichés. Les béliers présentant ce type de testicules (n=1 en janvier, n=28 en février, n=31 en mars) ont donc été exclus des analyses statistiques. En revanche, une étude spécifique de ces animaux a été faite et est présentée dans le paragraphe IV-5.

Ainsi l'ensemble des analyses statistiques suivantes ont été réalisées en excluant les individus présentant un ou deux testicule(s) dit(s) « vacuolaire(s) ».

L'intensité lumineuse des pixels des zones d'intérêt va de 45,2 à 159,2 avec des moyennes s'élevant à 79,3 pour ROI1, 94,8 pour ROI2 et à 87,1 pour ROI3. Quant au *rete testis*, il est plus échogène avec une valeur moyenne de 99,8 (Tabl.3).

L'échogénicité des parenchymes testiculaires augmente significativement entre le mois de janvier et février mais stagne voir diminue légèrement entre février et mars (Tabl. 3). Le *rete testis*, quant à lui, devient en moyenne de plus en plus échogène avec le temps (différences significatives entre les mois, $p < 0,05$), comme l'illustre Fig. 23.

Tabl. 3 - DESCRIPTION DE L'ECHOGENICITE DES TESTICULES DE LA POPULATION MET (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)), EN JANVIER, FEVRIER ET MARS 2015

	Effectif MET	M	σ	MIN	MAX	CV en %
JANVIER 2015 (âge moyen 2,5 mois)						
ROI1	150	77,1	14,5	47,4	153,2	18,8
ROI2	137	82,5	19,1	48,0	159,2	23,2
ROI3	150	80,3	16,3	49,8	153,2	20,3
RETE TESTIS	137	88,4	15,8	59,4	149,5	17,9
FEVRIER 2015 (âge moyen 3,5 mois)						
ROI1	119	84,0	14,6	45,2	116,6	17,4
ROI2	111	104,0	20,9	51,6	158,3	20,1
ROI3	119	94,0	16,3	51,9	131,9	17,4
RETE TESTIS	111	101,8	19,6	56,2	143,1	19,3
MARS 2015 (âge moyen 4,5 mois)						
ROI1	116	77,3	11,3	51,7	109,4	14,6
ROI2	107	101,0	14,2	57,5	140,6	14,1
ROI3	116	88,8	11,7	55,8	121,0	13,2
RETE TESTIS	107	112,5	15,9	65,0	154,5	14,1

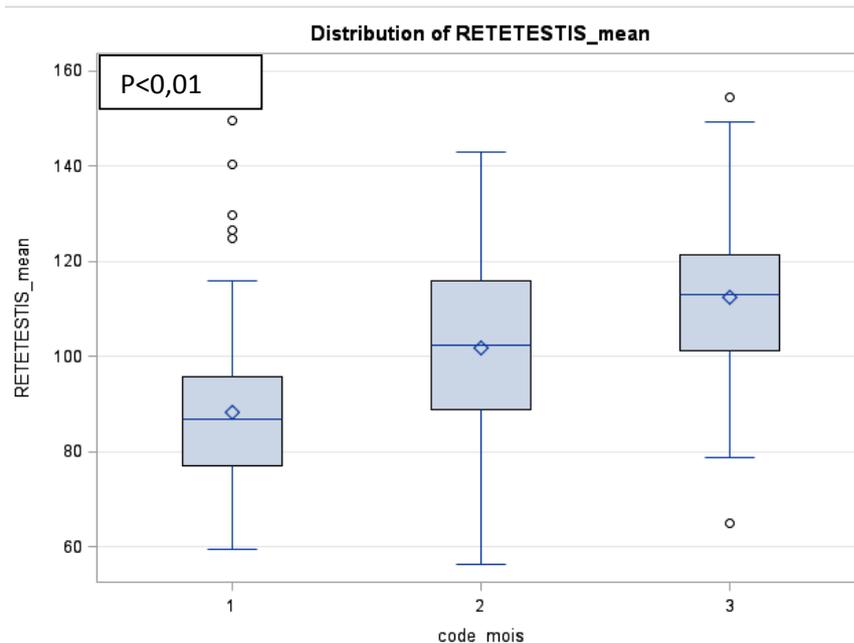


Fig. 23 - DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DU RETE TESTIS EN FONCTION DU MOIS (1 : JANVIER (2,5 mois d'âge), 2 : FEVRIER (3,5 mois d'âge), 3 : MARS (4,5 mois d'âge))

De plus, les coefficients de variation CV sont proches de 20% en janvier et février 2015 et diminuent ensuite autour de 14% en mars 2015. Ce résultat est cohérent avec l'évolution de la CS et de V1, à savoir une diminution de la variabilité au cours du temps entre les béliers en termes d'échogénicité testiculaire et plus particulièrement entre les mois de février et mars.

IV.2 - Analyse des caractéristiques des béliers produisant de la semence

Le premier objectif de cette étude consiste à déterminer si l'on peut identifier au plus tôt les béliers qui seront producteurs de semence lors de la phase de testage (MET). Il nécessite d'identifier des marqueurs phénotypiques précoces permettant de distinguer, le plus tôt possible, les futurs béliers producteurs de semence des mâles mauvais producteurs. En effet, les caractéristiques phénotypiques de chaque bélier (recueillies au cours des trois mois d'analyse), puis leur classement en tant que producteur de semence ou non lors de la MET, ont permis de mettre en évidence, à posteriori, des caractéristiques phénotypiques spécifiques des mâles producteurs de semence, qui pourront alors être utilisées comme marqueurs précoces de production de semence pour les saisons suivantes.

IV.2.a - Effectif des animaux producteurs

Parmi les agneaux MET, ceux qui ont produit suffisamment d'éjaculats de qualité ont été sélectionnés. Ils ont été appelés les béliers « codés ». Le tableau ci-dessous indique les effectifs des béliers codés et non codés (Tabl. 4).

Tabl. 4 – EFFECTIF, EN NOMBRE D'ANIMAUX, DES AGNEAUX MET, CODES ET NON CODES EN FONCTION DU MOIS (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	MET	« Codés »	« Non Codés »
Janvier 2015	150	127	23
Février 2015	119	98	21
Mars 2015	116	101	15

Les effectifs des béliers MET, codés et non codés, diffèrent selon les mois car les béliers auxquels il manquait une ou plusieurs mesures ont été écartés de l'analyse statistique pour le mois concerné. 15% des béliers ont été éliminés à ce stade (non codés).

IV.2.b - Phénotypes récoltés

Les données de mensurations testiculaires et d'échogénicité des clichés échographiques des animaux codés et non codés sont présentées dans les tableaux ci-dessous (Tabl.5, Tabl. 6, Tabl. 7) et ont été analysées en fonction du mois.

JANVIER 2015 (âge moyen : 2,5 mois)

Tabl. 5 - MENSURATIONS (CS ET V1) ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE TESTICULAIRES DES BELIERS NON CODES ET CODES, AU MOIS DE JANVIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Effectif	M	σ	MIN	MAX
Béliers « non codés »					
CS	23	14,8	2,6	11	21,5
V1	23	27,7	17,5	10,8	92,4
ROI1	23	78,5	9,9	63,2	98,9
ROI2	20	79,5	12,6	57,9	105,6
ROI3	23	80,1	10,3	67,0	98,9
RETE TESTIS	20	87,5	12,2	64,1	112,5
Béliers « codés »					
CS	127	15,5	2,4	11	24
V1	127	32,0	19,9	3,2	141,8
ROI1	127	76,8	15,2	47,4	153,2
ROI2	117	83,1	20,0	48,0	159,2
ROI3	127	80,4	17,2	49,8	153,2
RETE TESTIS	117	88,5	16,4	59,4	149,5

Des différences significatives entre animaux codés et non codés ($p < 0,05$, procédure GLM) existent pour **7 paramètres**, dont l'échogénicité de ROI2 ainsi que les combinaisons avec la CS et le V1.

En moyenne, ces 7 paramètres présentent des valeurs plus élevées chez les béliers codés. La figure ci-après montre l'exemple du skewness du *rete testis* (Fig. 24).

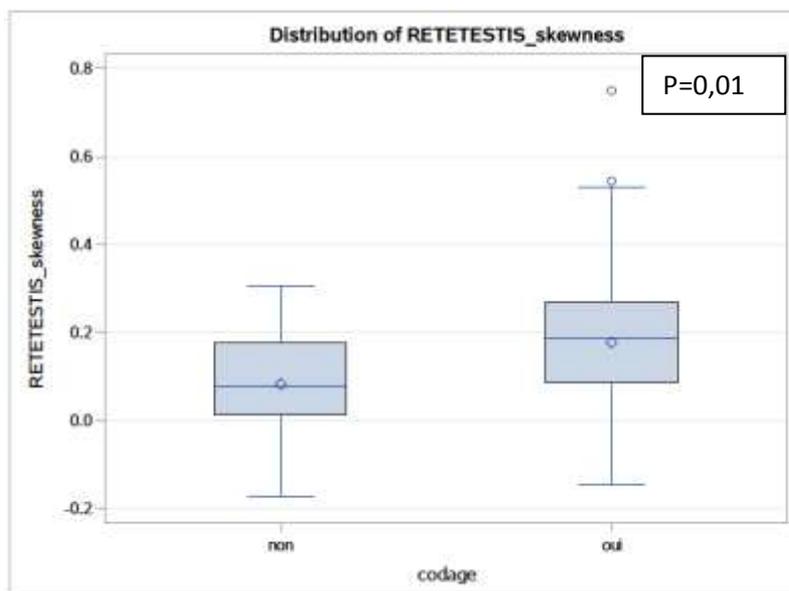


Fig. 24 – DISTRIBUTION DU RETE TESTIS SKEWNESS EN FONCTION DU CODAGE DES BELIERS, EN JANVIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

FEVRIER 2015 (âge moyen : 3,5 mois)

Tabl. 6 - MENSURATIONS (CS ET V1) ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE TESTICULAIRES DES BELIERS NON CODES ET CODES, AU MOIS DE FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Effectif	M	σ	MIN	MAX
Béliers « non codés »					
CS	21	19,4	3,5	12,5	26,5
V1	21	49,4	31,5	8,5	110,3
ROI1	21	80,2	15,3	52,9	106,6
ROI2	19	93,8	21,5	51,6	128,1
ROI3	21	87,6	17,0	53,0	112,7
RETE TESTIS	19	91,5	20,5	56,2	130,9
Béliers « codés »					
CS	98	21,4	2,9	16	28
V1	98	66,8	38,0	15,6	193,0
ROI1	98	84,9	14,4	45,2	116,6
ROI2	92	106,2	20,3	55,6	158,3
ROI3	98	95,4	15,9	51,9	131,9
RETE TESTIS	92	103,9	18,8	57,87	143,1

Les analyses GLM réalisées montrent des différences significatives entre animaux codés et animaux non codés ($p < 0,05$) pour **16 paramètres**, dont la CS, l'échogénicité de ROI2, ROI3 et du RETE TESTIS ainsi que les combinaisons avec la CS et le V1.

De la même manière qu'en janvier, les 16 paramètres ont des valeurs, en moyenne, plus importantes pour les béliers codés que pour les béliers non codés. La figure 25 illustre les différences de circonférence scrotale CS entre les deux groupes de mâles.

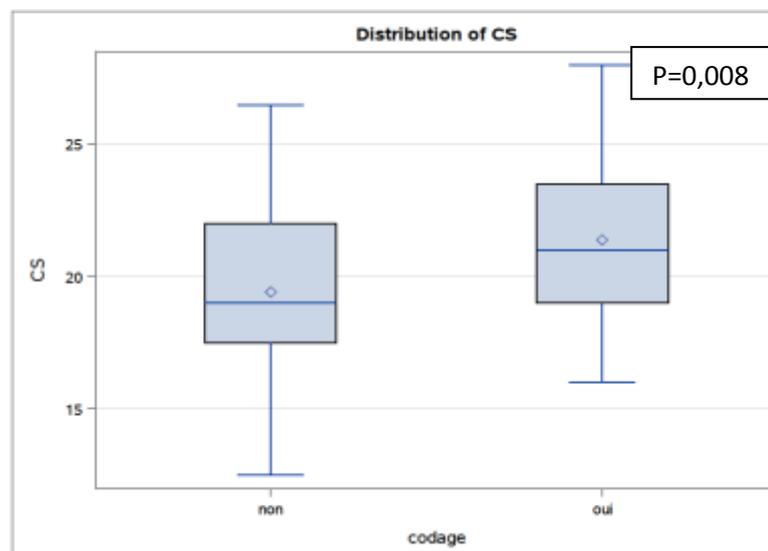


Fig. 25 – DISTRIBUTION DE LA CIRCONFERENCE SCROTALE CS EN FONCTION DU CODAGE DES BELIERS, EN FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

MARS 2015 (âge moyen : 4,5 mois)

Tabl. 7 - MENSURATIONS (CS ET V1) ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE TESTICULAIRES DES BELIERS NON CODES ET CODES, AU MOIS DE MARS 2015 (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Effectif	M	σ	MIN	MAX
Béliers « non codés »					
CS	15	24,4	3,2	18	29,5
V1	15	118,6	50,8	44,3	216,6
ROI1	15	75,7	13,6	53,9	109,4
ROI2	13	94,7	16,8	57,5	116,7
ROI3	15	85,7	13,7	55,8	109,4
RETE TESTIS	13	102,0	19,9	65,0	136,5
Béliers « codés »					
CS	101	25,8	2,1	21	31
V1	101	123,0	44,5	24,2	220,9
ROI1	101	77,6	11,0	51,7	108,6
ROI2	94	101,9	13,7	68,8	140,6
ROI3	101	89,3	11,4	59,7	121,0
RETE TESTIS	94	113,9	14,8	78,6	154,5

Des différences significatives entre animaux codés et non codés ($p < 0,05$) ont été mises en évidence pour **10 paramètres**, dont la CS, l'échogénicité du RETE TESTIS ainsi que les combinaisons avec la CS. En moyenne, ces 10 paramètres présentent des valeurs plus élevées chez les béliers codés. Le graphique ci-après montre l'exemple de l'échogénicité du RETE TESTIS (Fig. 26).

Des différences significatives entre animaux codés et non codés ($p < 0,05$) ont été mises en évidence pour **10 paramètres**, dont la CS, l'échogénicité du RETE TESTIS ainsi que les combinaisons avec la CS. En moyenne, ces 10 paramètres présentent des valeurs plus élevées chez les béliers codés. La figure 26 illustre les différences d'échogénicité du RETE TESTIS en fonction du statut reproducteur des béliers.

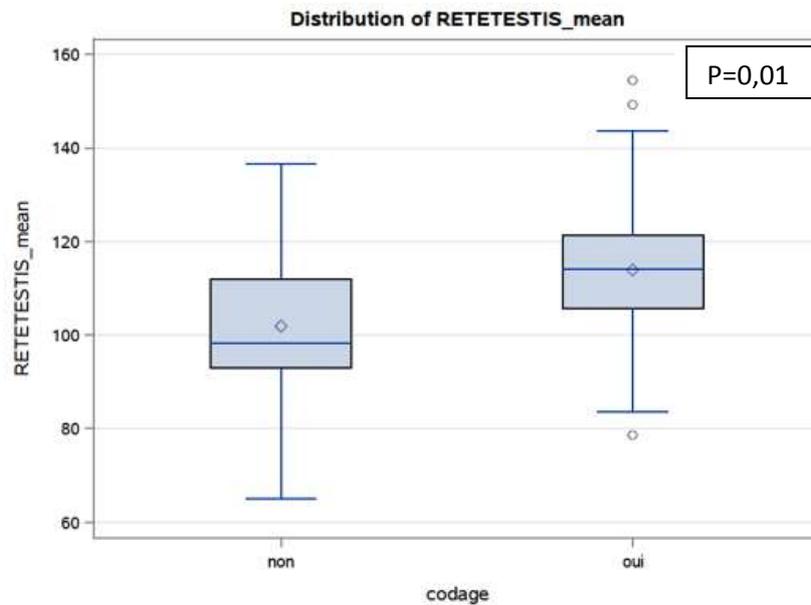


Fig. 26 – DISTRIBUTION DE L'ÉCHOGENICITE DU RETE TESTIS EN FONCTION DU CODAGE DES BELIERS, EN MARS 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

En somme, les béliers qui produisent de la semence de bonne qualité lors de la période de MET, ont globalement les testicules les plus développés et les plus échogènes.

Mais malgré des différences statistiques significatives entre les moyennes des groupes de béliers, le recouvrement des valeurs entre ces groupes reste important. Pour faciliter l'obtention de paramètres phénotypiques distinctifs et de leurs valeurs seuils, séparant au mieux les béliers, la procédure CART a été appliquée sur les données du mois de février, mois le plus discriminant. En effet, c'est au mois de février que l'on a le plus grand nombre de paramètres significativement différents (16 en février versus 7 en janvier et 10 en mars) entre les béliers codés et non codés. L'analyse CART a permis de mettre en évidence les paramètres et les valeurs seuils associées à considérer pour discriminer au mieux les animaux codés et non codés (Fig. 27).

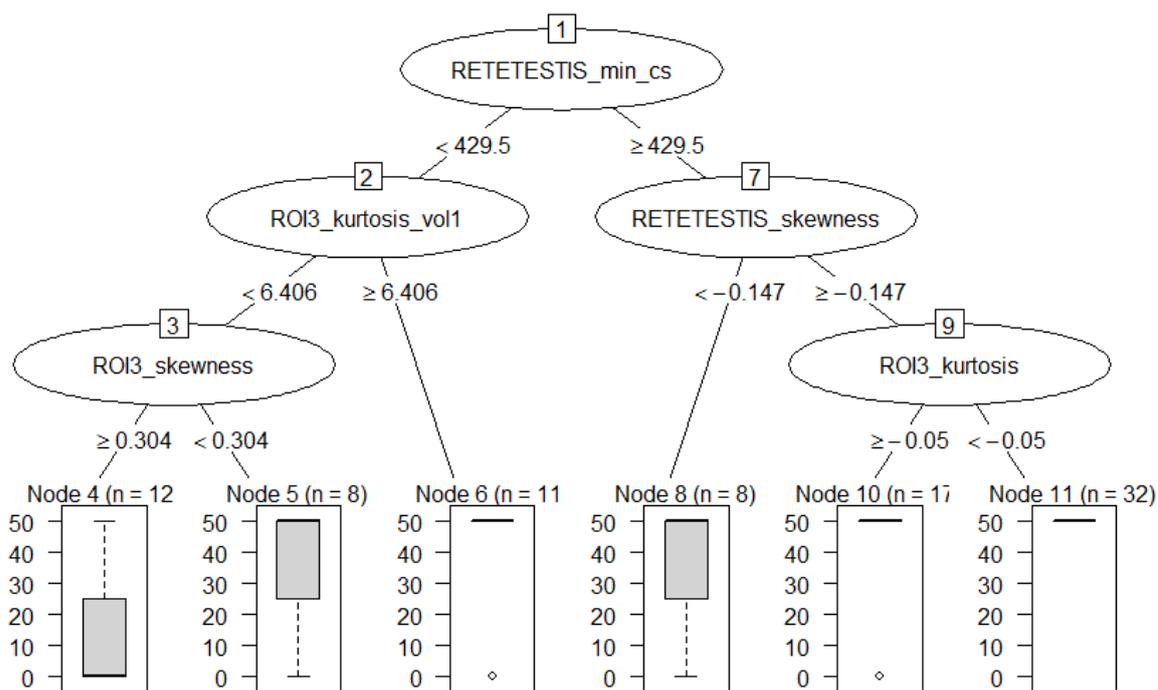


Fig. 27 – ARBRE DECISIONNEL CART

Séparation des béliers codés et non codés, réalisée sur 70% de la population MET, à partir des données de février (Sortie SAS®). Dans les graphiques situés au bas de l'arbre, les jeunes béliers codés sont tous représentés par le nombre « 50 » et les béliers non codés par le chiffre « 0 ».

L'arbre de décision CART (Fig. 27) est formé par trois niveaux de branches, regroupant les 5 paramètres mesurés les plus discriminants entre les béliers codés et non codés. Il permet de faire ressortir 6 groupes de béliers. Un premier niveau, « nœud 1 », permet une première sélection des béliers en fonction du paramètre associant l'échogénéité minimale du *rete testis* et la CS « Retetestis_min_CS » pour une valeur seuil de 429,5. Suivant l'orientation choisie (supérieur ou inférieur au seuil du nœud 1), un second niveau de nœuds (« nœuds 2 » ou « nœud 7 ») permet de terminer l'arbre de décision et de différencier des populations sur leur capacité à produire de la semence.

Les paramètres et les valeurs seuils ainsi obtenus ont été appliqués à l'ensemble de la population MET du mois de février afin de voir s'ils sont efficaces, c'est-à-dire s'ils permettent de dégager un groupe dans lequel figurent un maximum d'animaux finalement codés et un minimum d'animaux non codés.

Pour rappel, la population de jeunes béliers MET (sans les béliers à testicules vacuolaires) s'élève à 119 individus dont 98 codés et 21 non codés (Tabl. 4) pour le mois de février.

NŒUD 1 : Retetestis_min_cs (Fig. 27)

Au niveau du premier nœud de cet arbre décisionnel, le paramètre discriminant à appliquer est la combinaison RETE TESTIS MIN X CS (l'échogénicité minimale du *rete testis* x la circonférence scrotale) avec une valeur seuil de 429,5.

Les béliers dont la valeur de cette combinaison est supérieure ou égale à 429,5 sont conservés. 78 béliers sont ainsi sélectionnés sur 119. Parmi eux, 71 sont codés, ce qui correspond à 91% de la population des béliers sélectionnés (71/78) et 72% de l'ensemble des béliers codés (71/98).

Les autres sont écartés (41 béliers).

2^{ème} NIVEAU DE NŒUDS :

*NŒUD 7 :

Le nœud 7 est alors appliqué au groupe des béliers conservés, dont l'effectif s'élève à 78. Ceci va permettre d'affiner la sélection car dans les 78 béliers sélectionnés grâce au nœud 1, il reste encore 7 individus qui ne sont pas des béliers codés. Le paramètre discriminant à appliquer au niveau de ce nœud est le RETETESTIS_skewness (le skewness de l'échogénicité du *rete testis*) avec une valeur seuil de -0,147. Les béliers dont la valeur de ce paramètre est strictement inférieure à -0,147 sont écartés.

*NŒUD 2 :

En même temps, le nœud 2 est appliqué à la population écartée au nœud 1 dont l'effectif est de 41 béliers. Le paramètre discriminant à considérer est alors la combinaison ROI3_kurtosis_VOL1 (le kurtosis de l'échogénicité de ROI3 x V1) avec une valeur seuil de 6,4. Ainsi, les béliers dont la valeur de cette combinaison est strictement inférieure à 6,4 sont écartés.

En somme, à l'issue de l'application des deux niveaux de nœuds à l'ensemble de la population MET, sur les données recueillies en février, on obtient un effectif total de 81 béliers gardés sur 119 béliers MET, soit 68% de la population MET.

Parmi eux, 75 béliers sont codés, 6 ne le sont pas. On a donc 93% de béliers codés dans la sélection ainsi établie (75/81). De plus, l'application de cet arbre décisionnel a permis de sélectionner 75 béliers codés sur les 98 réellement codés par le CPS soit 77% de la population des béliers codés (75/98).

L'application de cet arbre décisionnel est assez efficace puisqu'il permettrait de sélectionner 77% des béliers finalement codés parmi la cohorte étudiée.

IV.3 - Analyse de la précocité du démarrage de l'activité sexuelle

Un des objectifs du projet MAXI'MALE est l'identification de marqueurs phénotypiques de la précocité sexuelle. Nous avons donc essayé de déterminer si les phénotypes recueillis au cours de l'étude permettaient d'identifier des béliers capables de produire précocement de la semence. Pour cela, l'ensemble des phénotypes collectés (mensurations testiculaires et données échographiques) ont été mis en relation avec les données de production de semence des béliers codés producteurs de semence, précoces ou tardifs.

Le critère choisi pour discriminer les deux populations de béliers a été le nombre d'éjaculats obtenus avant codage c'est-à-dire le nombre d'éjaculats de mauvaise qualité produits avant codage. Dans cette étude, sont considérés comme :

-tardifs, les béliers codés dont le nombre d'éjaculats produits avant codage est strictement supérieur à 2 lors de la période de MET,

-précoces, les béliers codés dont le nombre d'éjaculats produits avant codage est inférieur ou égal à 2.

La précocité de la production d'une semence de qualité est ici appréciée non pas en fonction de l'âge du bélier mais plutôt en fonction du moment de la saison de reproduction auquel intervient cette première production de semence utilisable.

Ainsi, sur l'ensemble des jeunes béliers codés suivis, 35% sont considérés comme tardifs.

IV.3.a - Données de production de semence des béliers codés précoces et tardifs

Dans un premier temps, les données de production de ces deux populations ont été comparées (Tabl. 8). Aucune différence significative entre les béliers tardifs et précoces n'a pu être mise en évidence quel que soit le critère pris en compte d'un point de vue production (motilité massale, volume moyen de l'éjaculat, nombre moyen de spermatozoïdes par éjaculat, concentration en spermatozoïdes). De la même façon, l'âge au 1^{er} saut ou l'âge au 1^{er} saut dont la semence est utilisable ne sont pas significativement différents entre les béliers précoces et tardifs.

Tabl. 8 - MOYENNES DES DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE POUR LES BELIERS CODES PRECOCES ET TARDIFS, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Tardifs	Précoces
Nombre moyen d'éjaculats avant codage	6,2	0,6
Age au 1^{er} saut (en jours)	181,5	182,5
Age au 1^{er} éjaculat dont la semence est utilisable (en jours)	203,3	203,4
Nombre moyen de doses fabriquées/éjaculat	11,0	10,7
Motilité massale (échelle de 0 à 50)	41,2	41,3
Nombre moyen de spermatozoïdes spz/éjaculat (en milliard(s))	12,1	12,2
Volume moyen de l'éjaculat (en mL)	2,9	2,8
Concentration spermatique/éjaculat (en milliard(s) de spz/mL)	4,2	4,4

IV.3.b - Phénotypes récoltés

Dans un second temps, les mensurations et les mesures d'échogénicité testiculaires des animaux tardifs et précoces ont été comparées pour les 3 mois durant lesquels les phénotypes ont été évalués (Tabl. 9, 10 et 11).

JANVIER 2015 (âge moyen : 2,5 mois)

Tabl. 9 - MENSURATIONS ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE DES TESTICULES DES BELIERS TARDIFS ET PRECOCES, AU MOIS DE JANVIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Effectif	M	σ	MIN	MAX
Béliers tardifs					
CS	45	15,3	2,7	11	22,5
V1	45	31,2	20,7	3,2	95,7
ROI1	45	78,3	18,5	54,4	153,2
ROI2	40	80,7	19,7	48,0	148,5
ROI3	45	81,0	19,4	51,1	153,2
RETE TESTIS	40	87,8	15,8	61,8	129,6
Béliers précoces					
CS	82	15,6	2,2	12	24
V1	82	32,5	19,6	4,3	141,8
ROI1	82	76,0	13,1	47,4	120,3
ROI2	77	84,3	20,2	51,6	159,2
ROI3	82	80,1	16,0	49,8	137,0
RETE TESTIS	77	88,9	16,8	59,4	149,5

Les analyses de variance GLM réalisées sur les paramètres au mois de janvier ne font apparaître aucune différence significative entre les caractéristiques testiculaires des précoces et des tardifs.

FEVRIER 2015 (âge moyen : 3,5 mois)

Tabl. 10 - MENSURATIONS ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE DES TESTICULES DES BELIERS TARDIFS ET PRECOCES, AU MOIS DE FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Effectif	M	σ	MIN	MAX
Béliers tardifs					
CS	38	20,6	3,2	16	28
V1	38	59,6	39,4	15,6	192,9
ROI1	38	79,2	14,2	54,7	116,6
ROI2	35	96,0	20,0	55,6	130,7
ROI3	38	88,0	16,0	55,1	116,6
RETE TESTIS	35	96,3	19,6	65,2	132,6
Béliers précoces					
CS	60	21,9	2,6	16,5	28
V1	60	71,3	36,7	17,9	192,9
ROI1	60	88,4	13,5	45,2	115,1
ROI2	57	112,4	18,0	58,5	158,3
ROI3	60	100,1	14,2	51,9	131,9
RETE TESTIS	57	108,5	16,9	57,8	143,1

En février, des différences significatives entre les animaux tardifs et précoces ($p < 0,05$) sont observées pour **28 paramètres**, dont la CS, l'échogénicité de ROI1, de ROI2, de ROI3 et du RETE TESTIS ainsi que les combinaisons avec la CS et V1.

Pour l'ensemble de ces 28 paramètres, une valeur plus élevée est observée pour le groupe des béliers précoces. A titre d'exemple, le niveau d'échogénicité du ROI3 pour les deux groupes de béliers est représenté sur la figure 28 (Fig.28).

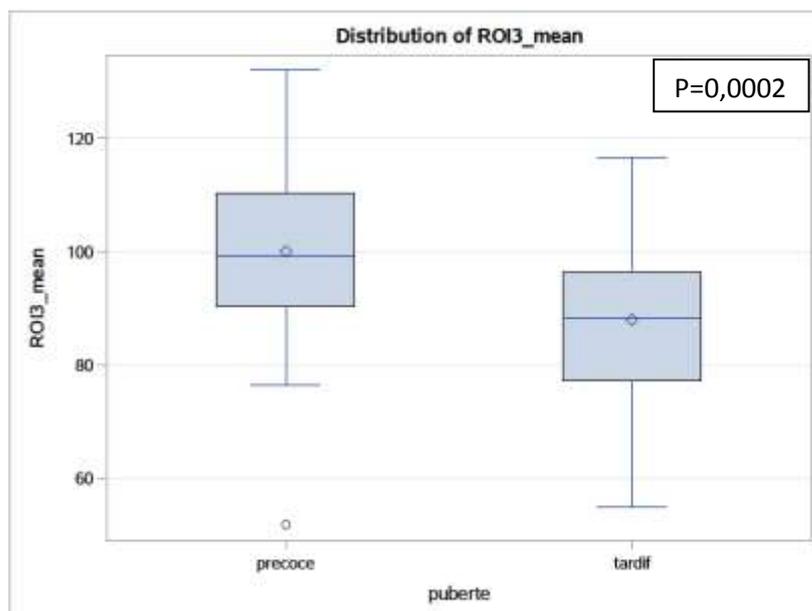


Fig. 28 - DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DE ROI3 EN FONCTION DE LA PRECOCITE D'APPARITION DE LA PUBERTE, EN FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

MARS 2015 (âge moyen : 4,5 mois)

Tabl. 11 - MENSURATIONS ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE DES TESTICULES DES BELIERS TARDIFS ET PRECOCES, AU MOIS DE MARS 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Effectif	M	σ	MIN	MAX
Béliers tardifs					
CS	35	25,4	2,5	21	31
V1	35	118,0	41,1	36,5	204,8
ROI1	35	82,1	10,4	60,5	103,8
ROI2	31	107,7	12,5	79,2	140,6
ROI3	35	93,7	10,6	69,4	118,8
RETE TESTIS	31	118,3	15,2	84,6	149,3
Béliers précoces					
CS	66	26,0	1,9	22	30,5
V1	66	125,6	46,3	24,2	220,9
ROI1	66	75,2	10,6	51,7	108,6
ROI2	63	99,0	13,5	68,8	136,2
ROI3	66	86,9	11,2	59,7	121,0
RETE TESTIS	63	111,7	14,2	78,6	154,5

Au mois de mars, les analyses de variance GLM réalisées font apparaître des différences significatives entre béliers précoces et tardifs ($p < 0,05$) pour **10 paramètres**, dont l'échogénicité de ROI1, de ROI2 et de ROI3 ainsi que les combinaisons avec la CS.

Contrairement aux mois précédents, les valeurs de ces 10 paramètres sont plus élevées pour les béliers tardifs, comme le montre la figure 29 concernant l'échogénicité de ROI1 (Fig. 29).

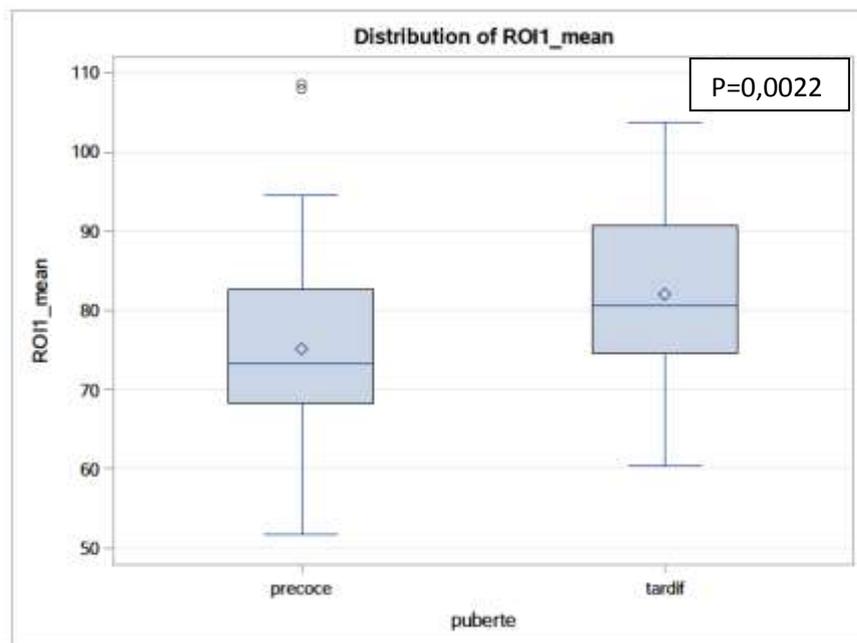


Fig. 29 - DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DE ROI1 EN FONCTION DE LA PRECOCITE D'APPARITION DE LA PUBERTE, EN MARS 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

En résumé, concernant la survenue de la puberté, des différences significatives apparaissent entre les béliers précoces et tardifs en fonction du mois d'analyse des phénotypes. Le mois de février (âge moyen des béliers : 3,5 mois) semble encore une fois le mois qui permet de mieux discriminer les béliers précoces des tardifs (28 paramètres significativement différents versus aucun en janvier et 10 en mars), avec des valeurs plus élevées pour les béliers précoces.

IV.4 - Analyse quantitative de la production de semence

En dehors de la capacité et de la précocité de production de semence, la quantité de paillettes produites par un même animal se révèle importante pour le CPS. En effet, un bélier qui produit une grande quantité de spermatozoïdes est plus intéressant pour un CPS qu'un bélier qui produit peu, qu'il produise précocement ou tardivement. Nous avons donc essayé de discriminer les béliers « bons » producteurs des « mauvais » producteurs.

Ont été considérés comme :

-mauvais producteurs, les béliers dont la quantité moyenne de spermatozoïdes par éjaculat est inférieure à 10 milliards,

-comme bons producteurs, ceux dont la quantité moyenne de spermatozoïdes par éjaculat est strictement supérieure à 10 milliards.

Une grande majorité des béliers codés sont bons producteurs de semence : 76,8% en moyenne.

IV.4.a - Données de production des béliers bons et mauvais producteurs de semence

Tout d'abord, les données de production de semence de ces deux populations ont été comparées (Tabl.12) (procédure GLM) et l'analyse a montré une différence en termes de capacité de production entre les deux groupes de béliers ($p < 0,05$ pour le volume moyen et la concentration spermatique moyenne des éjaculats). En effet, ces paramètres sont significativement plus faibles chez les béliers moins bons producteurs.

En revanche, sur les paramètres liés à l'aptitude du bélier à répondre à l'entraînement et à la puberté (âge au premier saut et âge au premier saut donnant de la semence utilisable), aucune différence significative n'a été mise en évidence.

Tabl. 12 - MOYENNES DES DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE POUR LES BELIERS CODES BONS ET MAUVAIS PRODUCTEURS DE SEMENCE, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S))

	Mauvais	Bons	Significativité p
Age au 1^{er} saut (en jours)	186,5	180,8	0,05
Age au 1^{er} éjaculat exploitable (en jours)	205,8	202,6	0,055
Nombre d'éjaculats avant codage	4,2	2,1	<0,05
Nombre total de doses fabriquées	73,4	117,9	<0,05
Nombre moyen de doses fabriquées/éjaculat	8,8	11,4	<0,05
Motilité massale (échelle de 0 à 50)	41,1	41,3	> 0,05
Nombre moyen de spz/éjaculat (en milliard(s))	8,6	13,2	<0,05
Volume moyen de l'éjaculat (en mL)	2,3	3,1	<0,05
Concentration spermatique/éjaculat (en milliard(s) de spz/mL)	3,7	4,3	<0,05

IV.4.b - Phénotypes récoltés

L'analyse statistique GLM visant à comparer les béliers bons et mauvais producteurs, conduite mois par mois, n'a révélé aucune différence significative entre les deux groupes d'animaux sur les phénotypes mesurés au CPS (mensurations et échographies testiculaires).

Aucun paramètre de précocité sexuelle ou séminologique ne permet de discriminer les béliers sur leur aptitude à produire de la semence en quantité.

IV.5 - Analyse des testicules « vacuolaires »

Comme précisé au paragraphe IV.1.c, nous avons observé des images échographiques testiculaires sur lesquelles le *rete testis* présentait une échogénicité et une structure différentes (Fig. 30-B) de celles d'un *rete testis* classique (Fig. 30-A).

Ces testicules présentant un *rete testis* plus ou moins large mais anéchogène, ont été qualifiés de « vacuolaires ». Sont désignés vacuolaires, les béliers qui présentent au moins un des deux testicules avec *rete testis* vacuolaire.

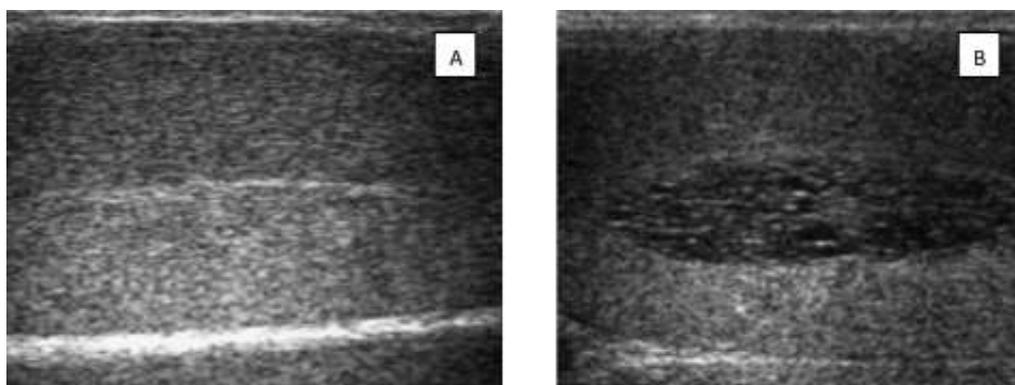


Fig. 30 - IMAGES ECHOGRAPHIQUES D'UN TESTICULE : A-NORMAL, AVEC RETE TESTIS, B- AVEC RETE TESTIS VACUOLAIRE

Afin d'explorer un peu plus cette anomalie, nous avons évalué les caractéristiques des animaux « vacuolaires ».

IV.5.a - Effectif des béliers codés, vacuolaires et non vacuolaires

La proportion de béliers codés vacuolaires augmente nettement entre le mois de janvier et de février 2015, soit entre un âge moyen de 2,5 mois et 3,5 mois. Par contre, le pourcentage de cette anomalie diminue légèrement, lorsque les béliers passent d'un âge moyen de 3,5 mois à 4,5 mois, c'est-à-dire de février à mars 2015 (Tabl. 13).

Tabl. 13 – EFFECTIF, EN POURCENTAGE DE LA POPULATION DES BELIERS CODES ET EN NOMBRE D'ANIMAUX, DES BELIERS CODES, VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES, EN FONCTION DU MOIS

	Codés	Vacuolaires	Non vacuolaires
Janvier 2015	128	0,7% (1)	99,3% (127)
Février 2015	125	21,6% (27)	78,4% (98)
Mars 2015	126	19,8% (25)	80,2% (101)

IV.5.b - Mensurations testiculaires et données de production des béliers vacuolaires et non vacuolaires

Tabl. 14 - MOYENNES DES MENSURATIONS TESTICULAIRES ET DES DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE DES BELIERS CODES VACUOLAIRES (VACU) ET NON VACUOLAIRES (NON VACU), EN FONCTION DU MOIS

	Effectif	CS (cm)	V1 (cm ³)	Nombre moyen spz /éjaculat (milliard(s))	Volume moyen de l'éjaculat (mL)	Concentration spermatique moyenne (milliard(s) spz/mL)
JANVIER 2015 (âge moyen : 2,5 mois)						
VACU	1	20	54,6	8,9	2,3	3,9
NON VACU	127	15,5	32,0	12,1	2,9	4,2
FEVRIER 2015 (âge moyen : 3,5 mois)						
VACU	27	22,5	76,3	11,3	2,8	4,0
NON VACU	98	21,3	66,8	12,2	2,9	4,2
MARS 2015 (âge moyen : 4,5 mois)						
VACU	25	25,8	129,8	11,1	2,7	4,1
NON VACU	101	25,8	123,0	12,2	2,9	4,2

Au mois de janvier, un seul individu possède un ou des testicules à *rete testis* vacuolaire et 127 présentent des testicules normaux (Tabl. 14). Les résultats obtenus sur les données recueillies au mois de janvier ne sont donc pas interprétables.

Les analyses GLM réalisées sur les données des mois de février et mars ne font apparaître aucune différence significative entre les béliers à testicules vacuolaires et les béliers à

testicules normaux sauf pour la concentration spermatique moyenne de l'éjaculat. En effet, les béliers normaux produisent des éjaculats plus concentrés en spermatozoïdes que les béliers à testicules vacuolaires en février ($p=0,04$). On observe la même tendance au mois de mars ($p=0,06$).

Globalement, les béliers à testicules normaux et à testicules vacuolaires diffèrent peu en termes de données production de semence. Toutefois, on peut se demander si cette structure testiculaire particulière a un impact sur le déroulement de la spermatogénèse et donc sur la morphologie des spermatozoïdes.

IV.5.c - Morphologie des spermatozoïdes

43 béliers ont été choisis parmi les animaux codés afin d'analyser les anomalies morphologiques de leurs spermatozoïdes sur les premiers éjaculats obtenus. Des échographies de leurs testicules ont été effectuées juste avant le début de la production de semence, en avril 2015 afin de constituer deux groupes de mâles : des animaux à testicules vacuolaires et non vacuolaires.

Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes ont été étudiées sur les 7 premiers éjaculats. Ces derniers étant collectés hebdomadairement, le suivi a donc été réalisé sur 7 semaines. Le Tableau 15 (Tabl.15) présente les résultats de tous les éjaculats, pour toute la période d'étude.

Les analyses GLM n'ont pas permis de mettre en évidence une différence entre les animaux vacuolaires et les normaux concernant les anomalies morphologiques des spermatozoïdes (Fig. 31).

Tabl. 15 – NOMBRE D’EJACULATS ET MOYENNES DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES SPERMATOZOÏDES DES BELIERS CODES VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES, TOUTES SEMAINES CONFONDUES

	Vacuolaires	Non vacuolaires
Nombre d’éjaculats	95	195
Pourcentage moyen de spermatozoïdes anormaux/éjaculat	13,0	11,8
Pourcentage moyen d’anomalies de la tête	0,7	0,6
Pourcentage moyen d’anomalies de la pièce intermédiaire	1,4	1,6
Pourcentage moyen d’anomalies de la queue	6,1	5,5
Pourcentage moyen de spermatozoïdes décapités	4,9	4,1

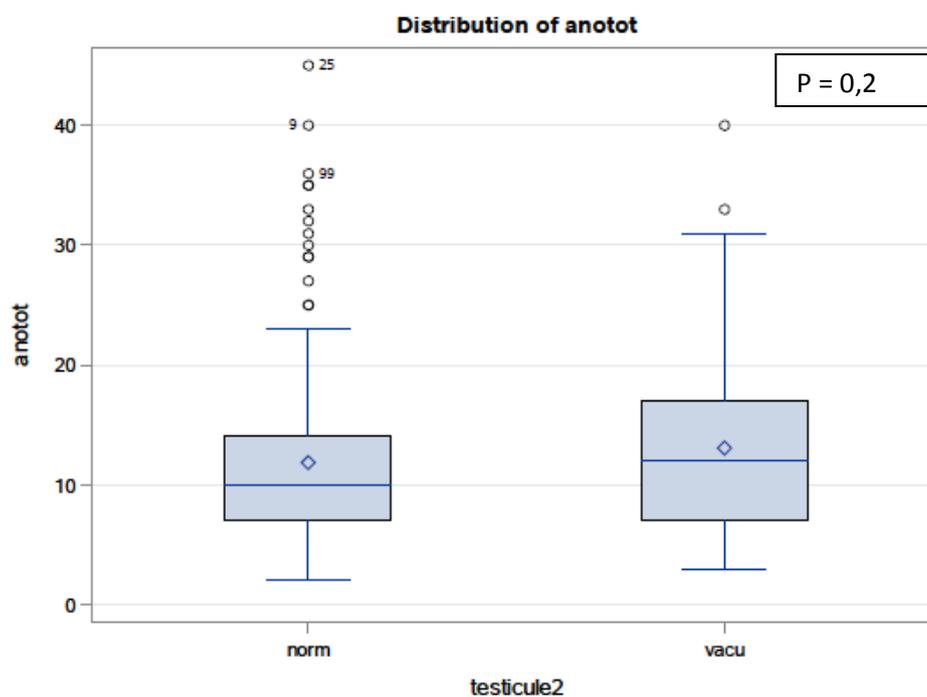


Fig. 31 – DISTRIBUTION DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES TOTALES DES SPERMATOZOÏDES EN FONCTION DE LA PRESENCE OU NON DE VACUOLES DANS LE *RETE TESTIS* DES TESTICULES DES JEUNES BELIERS, SUR L’ENSEMBLE DES 7 SEMAINES DE L’ETUDE

L'analyse a ensuite été conduite en sélectionnant parmi les béliers à testicules vacuolaires, ceux dont les deux testicules présentent cette particularité. Ils seront nommés béliers à testicules vacuolaires doubles.

Aucune différence significative n'a été observée entre les béliers à testicules normaux et à testicules vacuolaires doubles, en ce qui concerne les anomalies morphologiques des spermatozoïdes, toutes semaines confondues.

En revanche, des différences significatives ($p < 0,05$) surviennent et s'intensifient au cours du temps pour finalement observer deux fois plus d'anomalies morphologiques chez les animaux vacuolaires doubles que chez les normaux. La Figure 32 illustre le pourcentage d'anomalies totales en fonction des semaines de collecte.

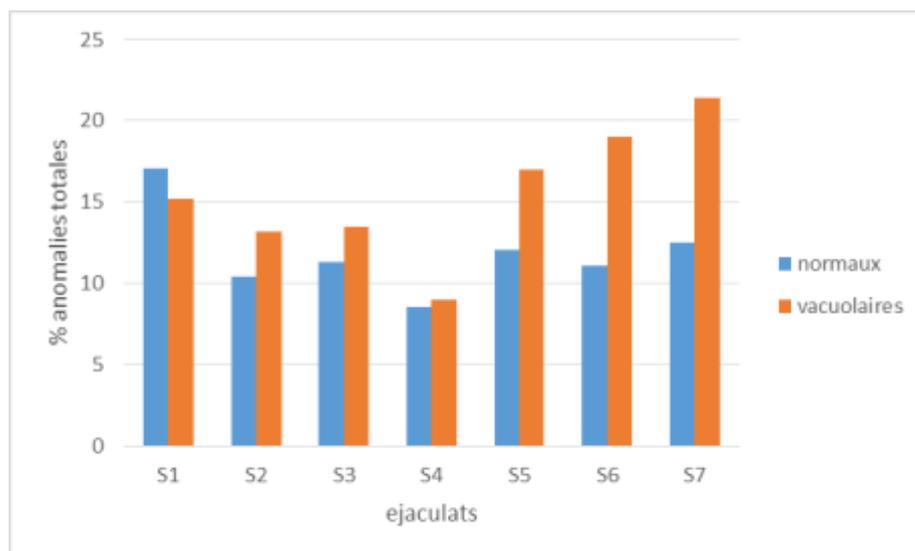


Fig. 32 - EVOLUTION TEMPORELLE DES POURCENTAGES MOYENS DES ANOMALIES TOTALES DES SPERMATOZOÏDES CHEZ LES BELIERS VACUOLAIRES DOUBLES ET NORMAUX, AU COURS DES 7 SEMAINES DE COLLECTE

Tabl. 16 - POURCENTAGE D'ANOMALIES (Ano.) MORPHOLOGIQUES DES SPERMATOZOÏDES DES BELIERS VACUOLAIRES DOUBLES (VACU) ET NORMAUX (NON VACU), AU COURS DES SEMAINES DE COLLECTE

EJACULAT	TESTICULE	Ano. totales (%)	Ano. tête	Ano. pièce intermédiaire	Ano. queue	Spz décapités
1	VACU	15.2	0.6	2.2	6.2	6.2
	NON VACU	17.1	1.2	2.4	9.0	4.4
2	VACU	13.2	1.3	1.0	7.0	3.8
	NON VACU	10.4	0.9	1.8	5.1	2.6
3	VACU	13.5	0.2	2.2	7.2	4.0
	NON VACU	11.3	0.4	1.8	6.5	2.7
4	VACU	9.0	0.3	0.8	5.2	2.7
	NON VACU	8.6	0.5	0.9	4.3	2.9
5	VACU	17.0	0	2.0	3.7	11.3
	NON VACU	12.1	0.3	1.8	5.0	5.0
6	VACU	19.0	0	1.6	4.6	12.8
	NON VACU	11.1	0.2	1.5	3.5	5.9
7	VACU	21.4	1.2	1.4	8.6	10.2
	NON VACU	12.5	0.9	1.3	5.2	5.2

Le tableau 16 montre que l'écart entre les pourcentages d'anomalies totales des spermatozoïdes des béliers normaux et vacuolaires doubles augmente d'environ 72% lors de la semaine 7. Cette évolution est surtout due à l'augmentation de l'écart entre les pourcentages de spermatozoïdes décapités et d'anomalies de la queue dans les deux groupes (5,2% et 8.6 % d'anomalies de la queue et 5,2% versus 10.2 % de spermatozoïdes décapités, respectivement chez les béliers normaux et chez les béliers vacuolaires doubles).

Ces différences de morphologie observées chez les spermatozoïdes des béliers vacuolaires doubles peuvent être liées à un remaniement tissulaire au niveau du *rete testis*.

IV.5.d - Histologie

Pour approfondir sur le caractère « vacuolaire » du *rete testis* observé à l'échographie, nous avons réalisé des analyses histologiques.

Deux testicules ont été analysés :

*un testicule du bélier 1, dont l'échographie laisse apparaître un testicule avec un *rete testis* normal (Fig. 33-A),

*un testicule du bélier 2, qui présente un *rete testis* vacuolaire mis en évidence à l'échographie (Fig. 33-B).

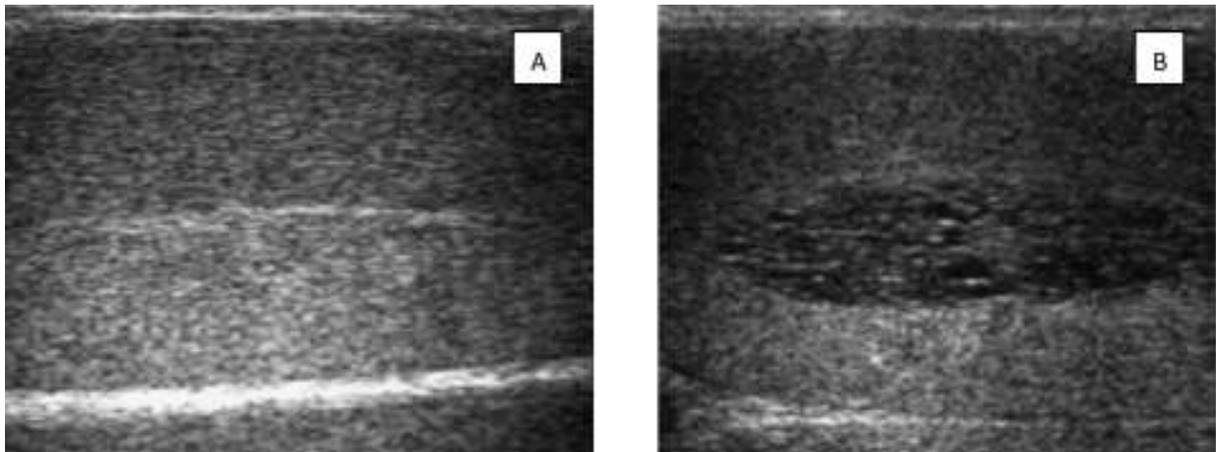


Fig. 33- IMAGES ECHOGRAPHIQUES D'UN TESTICULE : A-NORMAL, AVEC RETE TESTIS, B- AVEC RETE TESTIS VACUOLAIRE

Lors de la section des testicules selon leur plan sagittal, un liquide s'est écoulé de la zone du *rete testis* chez le bélier 2 (Fig. 34). Ce liquide a été recueilli puis analysé au microscope. Des spermatozoïdes immobiles présentant, pour une grande majorité, des anomalies de la tête, ont été retrouvés. Ce liquide n'a pas été observé lors de la section du testicule du bélier 1.

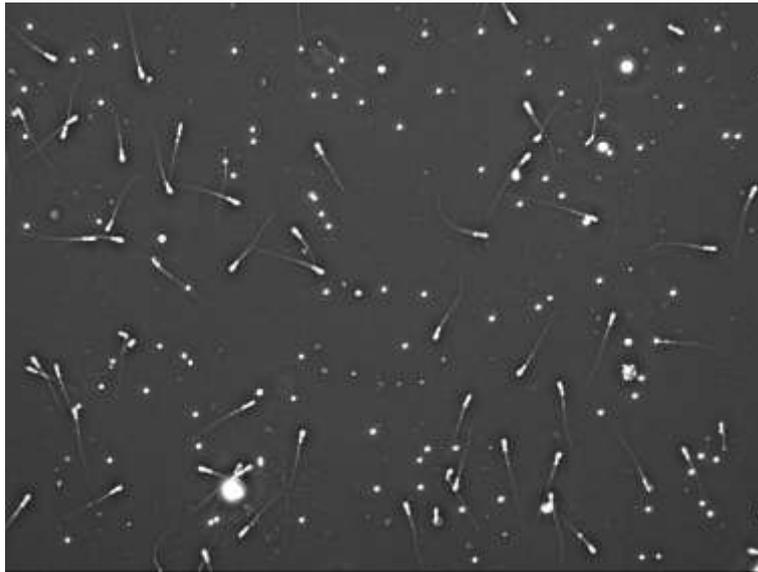


Fig. 34 – EXAMEN MICROSCOPIQUE (GROSSISSEMENT X20) DU LIQUIDE RECUEILLI A L'OUVERTURE DU TESTICULE A *RETE TESTIS* « VACUOLAIRE » DU BELIER 2



Fig. 35 - ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DE LA TETE DES SPERMATOZOIDES DU BELIER 2, OBSERVEES A L'IMMERSION, X1000 : A-Spermatozoïde avec acrosome en bouton, B- Spermatozoïde avec acrosome en bouton et présence de cratère, C- Spermatozoïde à tête piriforme avec acrosome en bouton

Les images présentées sur la Figure 35 montrent des exemples d'anomalies morphologiques retrouvées sur les spermatozoïdes du bélier 2.

Les analyses histologiques sont présentées ci-après (Fig. 36).

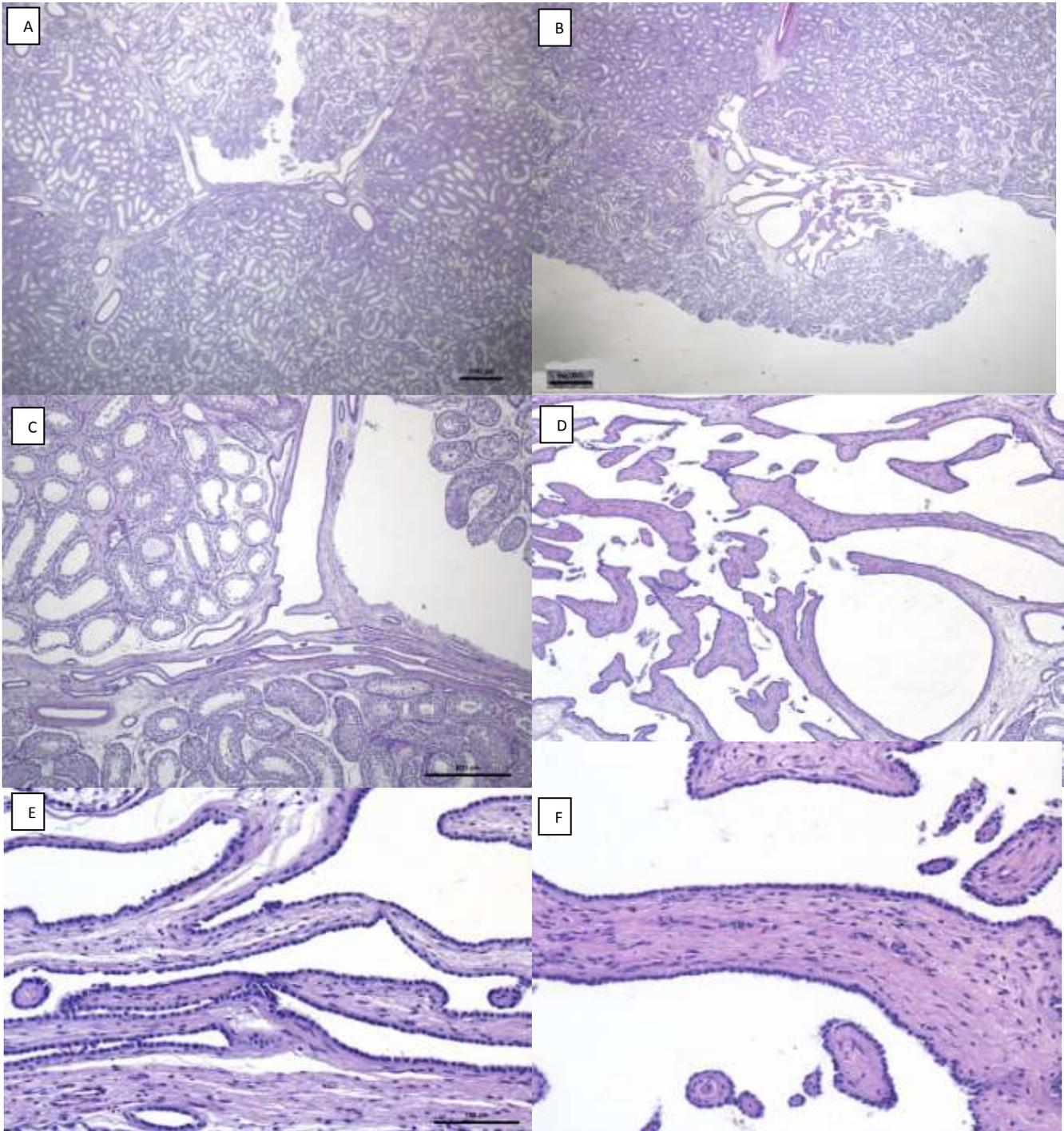


Fig. 36 -COUPES HISTOLOGIQUES DE TESTICULES, COLORATION HEMALUN EOSINE :

A : bélier 1, grossissement x10 ; B : bélier 2, grossissement X10 ; C : bélier 1, grossissement X40 ;
D : bélier 2, grossissement X40 ; E : bélier 1, grossissement X200 ; F : bélier 2, grossissement X200

Le *rete testis* est le lieu de convergence des tubes séminifères. Il est formé par un réseau de canalicules qui collectent les tubes droits et d'où partent les canaux efférents qui se jettent ensuite dans la tête de l'épididyme.

Les canalicules du *rete testis* forment des travées linéaires qui apparaissent comme des fentes collabées au centre du testicule chez le bélier 1 (Fig. 36 - A et C).

Chez le bélier 2, on observe une dilatation générale des cavités formées par les canalicules (Fig. 36 - B). Le *rete testis* forme un réseau lacunaire, non plus linéaire mais dilaté. Les travées apparaissent de forme arrondie (Fig. 36-D).

De plus, les travées canaliculaires du *rete testis* sont bordées par une monocouche de cellules épithéliales cuboïdales. Cet épithélium cilié facilite la progression des spermatozoïdes vers les canaux efférents. Entre les canalicules, les espaces sont comblés par du tissu conjonctif qui renferme des fibroblastes et des vaisseaux sanguins. Aucune différence n'est observée au niveau cellulaire entre les testicules des deux béliers (Fig. 36- E et F).

Enfin, les béliers à testicules vacuolaires ont une production quasiment identique aux béliers à testicules normaux en termes de quantité. Cependant, les béliers à testicules vacuolaires doubles présentent plus d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes.

V- Discussion :

La sélection, le recrutement et l'élevage de plusieurs centaines d'agneaux sont des points critiques pour le Centre de Production de Semence (CPS) ovine. Ces étapes doivent lui assurer un renouvellement, années après années, de son groupe de futurs reproducteurs. Mais ces étapes ont un coût important et ne prévalent en rien de la capacité physiologique des mâles à produire de la semence de qualité en quantité. La démarche innovante conduite par ce projet est d'apporter des outils permettant au CPS de sélectionner plus précocement ses géniteurs, grâce à des informations sur les futures capacités de production de semence des mâles, dès leur plus jeune âge, limitant ainsi les coûts de recrutement.

Jusqu'à cette année (2015), les agneaux sélectionnés par le CPS naissaient entre les mois de septembre et début janvier. La population d'agneaux entrés dans le centre était donc très hétérogène en âge. Or tous les béliers sont soumis aux mêmes conditions d'élevage durant les mois précédant la puberté, notamment les cycles lumineux liés à la photopériode ou l'entraînement à la collecte de sperme. Ceci soulève la question de la capacité physiologique de tous les mâles à répondre aux besoins du centre en produisant de la semence de bonne qualité à un moment très précis de l'année (lors de la mise en testage MET). En effet, les plus jeunes mâles sont soumis à toutes les étapes de sélection et d'entraînement alors qu'ils ont 2 mois de moins en âge que les autres. Ce mode de conduite d'élevage au sein du centre privilégie forcément les agneaux les plus âgés comparativement aux agneaux plus jeunes, physiologiquement moins prêts au moment de la sélection. D'ailleurs, la population éliminée (non apte à produire une semence de qualité lors du testage) comprend essentiellement les béliers les plus jeunes.

De ce fait, nous avons décidé de limiter ce biais en sélectionnant une sous-population de béliers la plus homogène en âge. Ainsi, la grande majorité de la population étudiée a un âge compris entre 2 et 3 mois en janvier 2015. Mais dans le souci d'obtenir une population d'animaux suffisamment importante lors de la MET, d'autres agneaux ont été ajoutés à l'effectif de départ. C'est pourquoi l'âge des béliers présents dans l'étude a varié de 1,5 mois à 3,5 mois au début de l'étude, en janvier.

Sur les 759 béliers analysés par ALLICE en janvier, février et mars, 151 étaient encore présents lors de la MET et seuls 128 ont finalement été gardés par le CPS, en raison de leur

aptitude à la production de semence (c'est-à-dire « codés). Des relations significatives ont été mises en évidence entre certains phénotypes mesurés très tôt dans la vie de l'agneau et son aptitude à produire de la semence de qualité précocement.

En ce qui concerne l'aptitude du bélier à produire de la semence, plus les testicules sont gros et échogènes, plus le bélier sera capable de produire de la semence dans les conditions d'entraînement et de conduite d'élevage d'Ovitest. En effet, les valeurs de circonférence scrotale CS et de niveau de gris du parenchyme testiculaire et du *rete testis* à l'échographie sont plus élevées en moyenne chez les animaux gardés par le CPS lors de la mise en testage. Ces résultats sont en accord avec la relation entre la CS et la production de semence observée dans l'étude de Parkinson et al. (20) sur les bovins et celle de Nowakowski et al. (22) sur les béliers Mérinos polonais.

Les mêmes résultats ont été obtenus pour l'aptitude à produire précocement de la semence de qualité. Effectivement, le nombre d'éjaculats de mauvaise qualité diminue quand l'échogénicité et les mensurations des testicules augmentent. Les travaux de Brito et al. (9) avaient déjà montré l'intérêt de l'échogénicité du parenchyme testiculaire en tant qu'indicateur de la puberté chez le taureau.

Notre projet a également permis de déterminer l'âge du bélier le plus pertinent pour évaluer sa future aptitude sexuelle. En effet, pour que ces « prédictors » soient efficaces, il faut qu'ils soient suffisamment précoces. Cependant, d'après nos résultats, ces indicateurs sont plus ou moins discriminants selon le mois d'analyse (janvier, février ou mars). C'est au mois de février (majoritairement 3 à 4 mois d'âge pour les béliers) que nous trouvons les plus fortes relations significatives entre nos indicateurs et les paramètres de production de semence (16 phénotypes significatifs) et de précocité (28 phénotypes significatifs). Un mois plus tôt, en janvier, ou plus tard en mars, peu de paramètres phénotypiques ressortent significativement différents entre les béliers producteurs et non producteurs (7 en janvier et 10 en mars) ainsi qu'entre les béliers précoces et les tardifs (0 phénotype significatif en janvier et 10 en mars).

La variabilité biologique entre mâles, pour ces phénotypes mesurés sur les 3 mois d'âge, vient corroborer ce constat. En effet, la moyenne des coefficients de variation, tous béliers confondus, pour la circonférence scrotale, le volume testiculaire et les paramètres

d'échogénicité testiculaire, est plus faible en mars qu'en janvier et février (respectivement 18.7%, 24.7% et 25.7%). Nos paramètres sont donc moins discriminants en mars.

En revanche, aucun paramètre testiculaire mesuré à ces âges ne peut être mis en relation directement avec le niveau de production de semence. Cependant, la sélection des animaux producteurs d'éjaculats de qualité et/ou dont la production spermatique est précoce, permet de conserver des béliers produisant un nombre de spermatozoïdes par éjaculat important, comme le montrent les résultats de l'arbre décisionnel CART appliqué à l'ensemble de la population des béliers au mois de février. L'application des deux premiers niveaux de nœuds, permet de sélectionner un groupe de 81 béliers sur 119 béliers MET. Parmi ces 81 béliers :

- 75 sont producteurs de semence de qualité au moment de leur MET, c'est-à-dire sont « codés », soit 77% de la population totale des béliers codés (75/98),

- 50 ont produit précocement de la semence, soit 83% de la population totale des béliers précoces (50/60),

- 61 produisent de la semence riche en spermatozoïdes, soit 81% de la population totale des bons producteurs (61/75).

Ces résultats sont intéressants pour le CPS car la sélection (dans les conditions de classes d'âges du mois de février) des béliers, uniquement sur l'aptitude à produire de la semence, suffirait à enrichir la population en béliers produisant rapidement de la semence de qualité et en quantité.

Par ailleurs, d'autres paramètres de croissance tels que le poids vif ou le Gain Moyen Quotidien GMQ des béliers, pourraient être des indicateurs prédictifs de la production de semence (8). La CS et le volume testiculaire des agneaux mâles ont montré une forte augmentation entre le mois de janvier et mars 2015 (respectivement, moyennes de 15,4 cm à 25,7 cm et de 31,5 cm³ à 124,6 cm³). Durant cette même période de deux mois, le poids corporel des agneaux a augmenté. Cette relation a en effet été observée par Barth et al. chez les taureaux (6). Ainsi, la relation entre l'augmentation de la taille et du volume testiculaire aux classes d'âges étudiées, et du poids vif ou du gain moyen quotidien GMQ serait une information intéressante pour les centres, car ces mesures sont potentiellement plus simples à évaluer par leurs équipes techniques.

Plusieurs paramètres échographiques ont été étudiés tels que la moyenne, le minimum, le maximum, l'écart-type, le kurtosis et le skewness des niveaux de gris. A ceux-ci pourrait être ajoutée la densité de l'image échographique, c'est-à-dire le nombre de pixels par unité de surface. En effet, une corrélation a été mise en évidence par Gabor et al. (14) entre la densité échographique et la proportion de tubes séminifères présents dans le parenchyme testiculaire chez les bovins. En outre, ce paramètre semble lié à l'activité de spermatogenèse chez l'Homme (17). Intégrer la densité échographique au modèle de sélection pourrait donc être un moyen d'améliorer la prédiction du potentiel reproducteur des jeunes béliers.

Par ailleurs, un autre marqueur du démarrage de l'activité sexuelle intéressant à considérer est la concentration plasmatique de l'Hormone Anti-Müllérienne AMH. La puberté chez le bélier s'accompagne de la mise en place d'une sécrétion de testostérone. Or, la concentration en AMH évolue de manière inversement proportionnelle à la concentration moyenne en testostérone (23) mais sa chute intervient juste un peu avant le début de la sécrétion de testostérone. La chute de la concentration plasmatique en AMH pourrait donc constituer un indicateur du démarrage de la fonction sexuelle chez les agneaux mâles.

Les résultats obtenus dans cette étude sont suffisamment probants pour envisager un transfert technologique et méthodologique vers le CPS Ovitest. Il est cependant nécessaire de vérifier leur valeur prédictive sur la prochaine cohorte de recrutement de 2016. Néanmoins, même si la procédure GLM nous permet de faire ressortir des effets significatifs entre les groupes de béliers, la détermination d'un seuil discriminant les jeunes béliers futurs producteurs de semence des non producteurs, est difficile en raison de la variabilité interindividuelle. Compte-tenu de ces limites, l'analyse CART constitue le modèle de choix pour déterminer grâce à la construction d'arbres décisionnels, les phénotypes et leurs seuils les plus discriminants. Son application, en février, pour mettre en valeur les différences entre les futurs producteurs ou non, a permis de recruter 77% des béliers codés. Seulement 7% de la population ainsi gardée ne sont pas des béliers codés. Lorsque les seuils des deux phénotypes mesurés en février sont appliqués à l'ensemble des béliers suivis par ALLICE (759 mâles) et pas uniquement aux béliers mis en testage, le modèle CART a permis de sélectionner une sous-population de béliers aptes à produire de la semence de 444

agneaux. Elle permettrait donc au CPS d'éliminer précocement 42% de la population recrutée dès le mois de février.

Depuis 2015, les béliers Lacaune lait d'Ovitest sont génotypés (2). Des régions du génome, appelées QTL (Quantitative Trait Loci), sont connues pour être reliées à des caractères héréditaires telles que les performances de production laitière (quantité et qualité) et la conformation de la mamelle chez les descendantes femelles. Cette sélection assistée par marqueurs permet de sélectionner les béliers sur les caractères transmis à leurs futures descendantes, avant même qu'ils soient capables de se reproduire. La mise en œuvre de ce mode de sélection génomique des agneaux mâles nécessite la réalisation d'un prélèvement sanguin dès leur entrée au CPS (à 2,5 mois d'âge moyen). Cependant, du fait des contraintes liées à la méthode d'analyse des QTL du génome de chaque bélier, les résultats des génotypages ne sont obtenus que 3 mois plus tard (au mois d'avril), juste avant la période d'entraînement. Ainsi, notre méthode de sélection fondée sur les paramètres testiculaires revêt un intérêt, car elle permettrait de sélectionner, 2 mois plus tôt, une sous-population de jeunes béliers qui seront capables de produire de la semence de qualité et en quantité suffisante, au moment de la mise en testage. On réduit alors déjà considérablement l'effectif de béliers présents au CPS, au mois de février, avant de réaliser une nouvelle sélection génomique au mois d'avril.

Cependant, compte tenu de la pression génétique, les centres peuvent se montrer réticents à l'idée de réformer des jeunes béliers potentiellement de haute valeur génétique, même si les caractéristiques testiculaires ne sont pas en faveur d'un bon potentiel de production de semence. Dans ce cas-là, notre méthode de sélection pourrait permettre d'éclairer la décision pour faire un choix entre des béliers dont le potentiel génétique est moyen ou dont le potentiel génétique est équivalent.

Les deux méthodes, phénotypiques et génomiques, sont donc deux méthodes complémentaires pour sélectionner des béliers de haute valeur génétique et aptes à produire une semence de qualité.

De plus, si le déterminisme génomique (QTL) des caractères testiculaires prédictifs de la capacité de production de semence du mâle vient à être connu, ces caractères pourront être

pris en compte dans l'analyse génomique, sans nécessiter les mesures testiculaires, chronophages dans le cadre d'un CPS.

Enfin, de façon surprenante, les béliers avec des testicules à *rete testis* dit « vacuolaire », n'ont pas eu de dégradation de leur production de semence, en termes de nombre total de spermatozoïdes. En revanche, nous avons observé un impact important de cette lésion sur le développement d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes pour les animaux avec les deux testicules atteints. Les béliers présentant un seul testicule vacuolaire n'ont pas plus d'anomalies spermatiques que les béliers normaux, probablement en raison d'un effet dilution associé à la production de spermatozoïdes normaux par le testicule non atteint. En outre, le pourcentage d'anomalies des spermatozoïdes augmente au cours du temps. La différence la plus importante dans les pourcentages de spermatozoïdes anormaux entre les béliers normaux et les vacuolaires est observée sur le dernier éjaculat. Il serait intéressant d'évaluer l'évolution de cette anomalie et ses répercussions sur la production de semence ultérieure. Ainsi, si cette lésion entraîne une dégradation ultérieure de la qualité de la semence, ces jeunes béliers à testicules vacuolaires devront être réformés. A l'inverse, si ces anomalies sont transitoires, le CPS pourrait n'éliminer que les premiers éjaculats produits pour éviter de détériorer la fertilité.

Par ailleurs, le testicule du bélier atteint présente un liquide au niveau du *rete testis*, qui pourrait résulter d'un phénomène de stase liquidienne. La présence de liquide est cohérente avec l'image échographique plus anéchogène du *rete testis*.

La dilatation générale des travées canaliculaires du *rete testis* serait donc une réponse structurelle adaptative à l'accumulation de liquide en leur sein. L'origine de cette stase liquidienne n'est pas élucidée dans cette étude. Cependant, des travaux réalisés sur des bovins de race Ayrshire (1) suggèrent que cette accumulation de fluide au sein du *rete testis* pourrait provenir d'une mauvaise connexion entre l'épididyme et les canaux efférents, restés borgnes. Ainsi, la présence de liquide accumulé dans ces canaux efférents borgnes entraînerait leur distension, elle-même responsable de la compression des canaux efférents voisins, générant alors leur occlusion. En outre, dans cette même étude (1), ce phénomène de stase spermatique, bilatéral, a conduit progressivement à une azoospermie des taureaux Ayrshire.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre évidence des paramètres phénotypiques tels que la mesure de la circonférence scrotale et du volume testiculaire ainsi que de l'échogénicité des testicules capables de prédire, dès 3,5 mois d'âge, la production de semence du futur reproducteur (démarrage de l'activité sexuelle, production de semence de qualité et en quantité). Les agneaux mâles dont les testicules sont les plus gros et les plus échogènes, à l'âge de 3,5 mois, sont en moyenne ceux qui produisent de la semence de bonne qualité et le plus précocement. L'arbre décisionnel obtenu grâce à la procédure CART donne précisément les paramètres phénotypiques et leurs valeurs seuils à considérer pour sélectionner les jeunes béliers futurs producteurs de semence parmi l'ensemble des animaux recrutés par le Centre de Production de Semence.

Cependant, l'efficacité du modèle de sélection, construit sur la cohorte de 2015, reste à valider sur celle de 2016. En outre, la faisabilité des mesures par différents opérateurs au sein du CPS doit être évaluée.

Cette méthode de sélection, du potentiel reproducteur du bélier, est complémentaire avec la méthode de sélection génomique puisqu'elles permettent, à elles deux, de choisir les individus à forte valeur génétique mais aussi ceux qui sont capables de la transmettre. Ainsi, l'utilisation de cette sélection à deux niveaux permettra d'optimiser les schémas de sélection de la filière ovine laitière Lacaune puisque elle va permettre, d'une part, la réduction des charges liées à la présence d'un effectif important d'animaux au CPS et d'autre part, l'amélioration des performances en élevage.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, **HAGEN Nicole**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Camille BOLILLO** intitulée « *Recherche de prédicteurs et d'indicateurs de la mise en place de la fonction sexuelle de jeunes béliers en relation avec leur carrière à l'âge adulte.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 20 novembre 2015
Professeure Nicole HAGEN
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN




Vu :
Le Président du jury :
Professeur Louis BUJAN

Professeur Louis BUJAN

Directeur EA 3694
Groupe de Recherche en Fertilité Humaine
Université Toulouse III
Hôpital Paul de Viguer - 330 av. Grande Bretagne
31059 TOULOUSE cedex 9

Vu et autorisation de l'impression :
Administrateur Provisoire de
l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Amal SAYAH

L'Administrateur Provisoire




Mlle Camille BOLILLO
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2014
a validé son année d'approfondissement le : 25/06/2015
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

- 1-ANDERSSON et al., (1991) Ultrasonography revealing the accumulation of rete testis fluid in bull testicles. *Andrologia*. Vol. **23**, n° 1, pp. 75–78.
- 2- ASTRUC JM. et al., (2012) La sélection génomique des ovins laitiers en France: stratégies, premiers résultats des évaluations génomiques et perspectives. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. 05 et 06.12.2012, Paris, FRA. INRA Institut de l'élevage.
- 3- BANKS W.J., (1993) *Applied Veterinary Histology*, Third edition, Missouri : Mosby Year Book, 527 p., ISBN-10: 0801666804.
- 4- BARIL G., (1993) *Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins*. Rome : FAO, 231 p., ISSN 1014 1197.
- 5- BARONE R., (1990) *Anatomie comparée des Mammifères domestiques*, Tome IV. Barone, 952 p., ISBN : 9782711481880.
- 6- BARTH (1997) Evaluation of potential breeding soundness of the bull. *Youngquist, R.S. (Ed.), Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. WB Saunders Co, Philadelphia, pp. 222–236.
- 7- BOURGÈS ABELLA N., (2010) Histologie - Le testicule. E.N.V.T., document pédagogique, 12p.
- 8- BOUSSENA S. et al., (2013) Performances de croissance corporelle et testiculaire avant le sevrage chez les agneaux de race Ouled Djellal. *Revue Méd. Vét.* **164**, n° 4, pp. 191–199.
- 9- BRITO L. et al., (2012) Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. *Theriogenology*. **78**, n°1, pp. 69-76.
- 10- BUISSON D. et al., (2013) Assessment of technical and economic efficiency of French dairy sheep genomic breeding programs. *Book of Abstracts of the 64th Annual Meeting of EAAP, Nantes, France*. pp. 369.
- 11- COUROT M. et al., (1984) Endocrine control of mammalian testicular ontogenesis. Santiago : *Arch Biol Med Exp*, Dec, **17** (3-4) pp. 249-55.
- 12- COURSIN S., (2012) Prédiction du potentiel reproducteur de jeunes taureaux par échographie testiculaire et mesure de la circonférence scrotale. Thèse de doctorat vétérinaire. Disponible à l'adresse : <http://oatao.univ-toulouse.fr/8626/>.
- 13- FATET A., (2008) L'insémination dans les filières ovines et caprines. *Renc. Rech. Ruminants*. **15**, pp. 355–358.
- 14- GABOR et al., (1998) Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes, *Theriogenology*, **50** pp. 223-228.
- 15- GAYRARD V., (2007) Physiologie de la reproduction des mammifères. E.N.V.T., document pédagogique.
- 16- GH. COULTER et al., (1988) Effects of ultrasonography on the bovine testis and the semen quality. *Theriogenology*, **30** (4) pp. 743-9.

- 17- LENZ S. et al., (1994) Ultrasonic texture and volume of testicles in infertile men. *Human Reproduction*, **9**, n° 5, pp. 878–881.
- 18- MOGICATO G., (2013) L'appareil génital des mammifères domestiques : L'appareil génital mâle, E.N.V.T., document pédagogique, 39p.
- 19- N. HAGEN et al., (2013) L'échographie de l'appareil génital de la vache. E. N.V.T., document pédagogique, 37p.
- 20- PARKINSON et al.,(2004) Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. *The Veterinary Journal*. **168**, n°3, pp. 215-229.
- 21- PAVAUX Cl., (2001) Splanchnologie des animaux domestiques : fascicule II, appareil uro-génital. E.N.V.T., document pédagogique.
- 22- NOWAKOWSKI P. et al., (1994) Seasonal variation in testis size in Polish Merinos rams and its relationship to reproductive performance in spring. *Theriogenology*, **42**, pp. 613-622.
- 23- THIBAUT ET LEVASSEUR, (2001) La reproduction chez les mammifères et l'Homme. Nouvelle Edition. Ellipse/Inra Edition. 936 p., ISBN 10 : 272980417x.
- 24- UNOTEC, (2010) Maîtrise de la reproduction en monte naturelle chez les ovins laitiers de race Lacaune. *Disponible à l'adresse :*
http://www.aveyron.chambagri.fr/fileadmin/documents_ca12/Aveyron/Agriculture_biologique/Infos_techniques/fiche_monte_naturelle.pdf

TABLE DES ILLUSTRATIONS

A - Les figures :

Fig. 1 - SCHEMA DE LA CONFORMATION EXTERNE D'UN TESTICULE GAUCHE DE RUMINANT.....	P12
Fig. 2 - SCHEMA D'UNE COUPE LONGITUDINALE D'UN TESTICULE DROIT ET DE SES ENVELOPPES.....	P14
Fig. 3 - SCHEMA DE LA CONFORMATION INTERNE D'UN TESTICULE EN COUPE LONGITUDINALE.....	P14
Fig. 4 - ULTRASTRUCTURE D'UNE PORTION DE TUBE SEMINIFERE.....	P17
Fig. 5 - STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU TUBE SEMINIFERE.....	P19
Fig. 6 - LONGUEUR D'ONDE λ ET AMPLITUDE D'UNE ONDE ULTRASONORE.....	P23
Fig. 7 - SCHEMA DU PHENOMENE D'ATTENUATION D'UNE ONDE ULTRASONORE.....	P25
Fig. 8 - SCHEMA DU PHENOMENE DE REFRACTION.....	P25
Fig. 9 - SCHEMA DU PHENOMENE DE DIFFUSION.....	P26
Fig. 10 - SCHEMA DE L'EMISSION D'ULTRASONS SOUS FORME DE SALVES.....	P26
Fig. 11 - SCHEMA DE L'EMISSION ET DE LA RECEPTION DES ULTRASONS.....	P27
Fig. 12 - SCHEMA DU PHENOMENE DE REFLEXION SPECULAIRE.....	P28
Fig. 13 - SCHEMA DU PHENOMENE DE REFLEXION NON SPECULAIRE.....	P29
Fig. 14 - SCHEMA DE LA FORMATION D'UN CONE D'OMBRE.....	P29
Fig. 15 - SCHEMA DES ETAPES DE SELECTION DES AGNEAUX MALES A L'ENTREE ET AU SEIN DU CPS.....	P33
Fig. 16 - PHOTOGRAPHIES DE LA PRISE DES MENSURATIONS TESTICULAIRES AU METRE-RUBAN.....	P34
Fig. 17 - PHOTOGRAPHIE DE LA REALISATION D'UN EXAMEN ECHOGRAPHIQUE DU TESTICULE DROIT.....	P35
Fig. 18 - IMAGES ECHOGRAPHIQUES DES TESTICULES ET DETERMINATION DES ZONES D'INTERET.....	P37
Fig. 19 - REPARTITION DES AGNEAUX MET DANS LES DIFFERENTES CLASSES D'AGE.....	P40
Fig.20 - DISTRIBUTION DE LA CIRCONFERENCE SCROTALE CS EN FONCTION DU MOIS.....	P42
Fig. 21 - DISTRIBUTION DU VOLUME TESTICULAIRE V1 EN FONCTION DU MOIS.....	P42
Fig. 22 - IMAGES ECHOGRAPHIQUES D'UN TESTICULE.....	P43
Fig. 23 - DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DU RETE TESTIS EN FONCTION DU MOIS.....	P45
Fig. 24 - DISTRIBUTION DU RETE TESTIS SKEWNESS EN FONCTION DU CODAGE DES BELIERS, EN JANVIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P48
Fig. 25 - DISTRIBUTION DE LA CIRCONFERENCE SCROTALE CS EN FONCTION DU CODAGE DES BELIERS, EN FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P49
Fig. 26 - DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DU RETE TESTIS EN FONCTION DU CODAGE DES BELIERS, EN MARS 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P51
Fig. 27 - ARBRE DECISIONNEL CART.....	P52
Fig. 28 -DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DE ROI3 EN FONCTION DE LA PRECOCITE D'APPARITION DE LA PUBERTE, EN FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P58

Fig. 29 - DISTRIBUTION DE L'ECHOGENICITE DE ROI1 EN FONCTION DE LA PRECOCITE D'APPARITION DE LA PUBERTE, EN MARS 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P59
Fig. 30- IMAGES ECHOGRAPHIQUES D'UN TESTICULE.....	P62
Fig. 31 - DISTRIBUTION DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES TOTALES DES SPERMATOZOIDES EN FONCTION DE LA PRESENCE OU NON DE VACUOLES DANS LE <i>RETE TESTIS</i> DES TESTICULES DES JEUNES BELIERS SUR L'ENSEMBLE DES SEPT SEMAINES D'ETUDE.....	P65
Fig. 32 - EVOLUTION TEMPORELLE DES POURCENTAGES MOYENS DES ANOMALIES TOTALES DES SPERMATOZOIDES CHEZ LES BELIERS VACUOLAIRES DOUBLES ET NORMAUX, AU COURS DES SEPT SEMAINES DE COLLECTE.....	P66
Fig. 33- IMAGES ECHOGRAPHIQUES D'UN TESTICULE.....	P68
Fig. 34 - EXAMEN MICROSCOPIQUE (GROSSISSEMENT X20) DU LIQUIDE RECUEILLI A L'OUVERTURE DU TESTICULE A <i>RETE TESTIS</i> « VACUOLAIRE » DU BELIER 2.....	P69
Fig. 35 - ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DE LA TETE DES SPERMATOZOIDES DU BELIER 2, OBSERVEES A L'IMMERSION, X1000.....	P69
Fig. 36 - COUPES HISTOLOGIQUES DE TESTICULES, COLORATION HEMALUN EOSINE.....	P70

B - Les tableaux :

Tabl. 1 - REPARTITION DES BELIERS DANS LES DIFFERENTES CLASSES D'AGE.....	P32
Tabl. 2 - DESCRIPTION DES MENSURATIONS TESTICULAIRES (CIRCONFERENCE SCROTALE CS ET VOLUME TESTICULAIRE V1) DE LA POPULATION MET, EN JANVIER, FEVRIER ET MARS 2015.....	P41
Tabl. 3 - DESCRIPTION DE L'ECHOGENICITE DES TESTICULES DE LA POPULATION MET (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)), EN JANVIER, FEVRIER ET MARS 2015.....	P44
Tabl. 4 - EFFECTIF, EN NOMBRE D'ANIMAUX, DES AGNEAUX MET, CODES ET NON CODES EN FONCTION DU MOIS (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P46
Tabl. 5 - MENSURATIONS (CS ET V1) ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE TESTICULAIRES DES BELIERS NON CODES ET CODES, AU MOIS DE JANVIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P47
Tabl. 6 - MENSURATIONS (CS ET V1) ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE TESTICULAIRES DES BELIERS NON CODES ET CODES, AU MOIS DE FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P48
Tabl. 7 - MENSURATIONS (CS ET V1) ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE TESTICULAIRES DES BELIERS NON CODES ET CODES, AU MOIS DE MARS 2015 (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P50
Tabl. 8 - MOYENNES DES DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE POUR LES BELIERS CODES PRECOCES ET TARDIFS, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P55
Tabl. 9 - MENSURATIONS ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE DES TESTICULES DES BELIERS TARDIFS ET PRECOCES, AU MOIS DE JANVIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P56
Tabl. 10 - MENSURATIONS ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE DES TESTICULES DES BELIERS TARDIFS ET PRECOCES, AU MOIS DE FEVRIER 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P57

Tabl. 11 - MENSURATIONS ET CARACTERISTIQUES D'ECHOGENICITE DES TESTICULES DES BELIERS TARDIFS ET PRECOCES, AU MOIS DE MARS 2015, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P58
Tabl. 12 - MOYENNES DES DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE POUR LES BELIERS CODES BONS ET MAUVAIS PRODUCTEURS DE SEMENCE, (SANS LES BELIERS AVEC TESTICULE(S) VACUOLAIRE(S)).....	P61
Tabl. 13 - EFFECTIF, EN POURCENTAGE DE LA POPULATION DES BELIERS CODES ET EN NOMBRE D'ANIMAUX, DES BELIERS CODES, VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES, EN FONCTION DU MOIS.....	P63
Tabl. 14 - MOYENNES DES MENSURATIONS TESTICULAIRES ET DES DONNEES DE PRODUCTION DE SEMENCE DES BELIERS CODES VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES, EN FONCTION DU MOIS.....	P63
Tabl. 15 - NOMBRE D'EJACULATS ET MOYENNES DES ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES SPERMATOZOIDES DES BELIERS CODES VACUOLAIRES ET NON VACUOLAIRES, TOUTES SEMAINES CONFONDUES.....	P65
Tabl. 16 - POURCENTAGE D'ANOMALIES (Ano.) MORPHOLOGIQUES DES SPERMATOZOIDES DES BELIERS VACUOLAIRES DOUBLES (VACU) ET NORMAUX (NON VACU), AU COURS DES SEMAINES DE COLLECTE.....	P67

ANNEXE 1

Conduite d'élevage du CPS Ovitest, Saint-Léons (12)

I- Conditions d'élevage des agneaux :

I.1- Les entrées :

Les entrées des jeunes mâles ont eu lieu du mois de septembre au mois d'octobre puis du mois de novembre au 15 janvier et du 15 janvier à la fin du mois de février. Les agneaux entrés sur la dernière période n'ont pas été inclus dans cette étude.

I.2- Interventions le jour de l'entrée :

A l'entrée, les agneaux sont pesés individuellement et mis en lot pour leur apporter une ration alimentaire adaptée. Ils reçoivent une injection de Séléphos® (Sélénium, Vitamine E), sont vaccinés contre les pneumonies enzootiques ovines (pasteurelloses) avec le vaccin Ovilis Pastovax® et les clostridioses avec le vaccin Coglavax® puis sont douchés avec une solution antiseptique (Hibitane 20%®), pour prévenir l'apparition d'abcès ainsi qu'avec de l'Imavéral 2%® dilué pour prévenir l'apparition de la teigne.

I.3- Autres interventions sanitaires :

La deuxième injection de primovaccination des deux vaccins injectés à l'entrée est réalisée 35 jours plus tard. Des douches préventives à l'Hibitane 20%® sont à nouveau réalisées au début du mois de janvier, au 15 février puis début avril. Les agneaux reçoivent une injection de vitamines A, D3, E (AD3E®) mensuelle.

Un parage des pieds est réalisé tous les 3 mois.

Des pesées régulières sont réalisées, permettant un allotement des agneaux en fonction de leur poids.

I.4- Alimentation :

Plusieurs rations sont distribuées en fonction de leur croissance :

*Période de sevrage (durée 21 jours) :

Aliment concentré « agneaux anti-stress » 11,250kg/agneau/jour + foin de Crau 300g/agneau/jour + paille à volonté

*Période de croissance (agneaux de moins de 28 kg) :

Aliment concentré « agneaux croissance, 20% orge » maximum 1,2kg/agneau/jour + foin de Crau 500g/agneau/jour + paille à volonté

*Au-delà de 28kg :

Aliment concentré (400g Orge + 450g « agneaux complémentaires »)/agneau/jour distribué en deux repas/jour + foin de Crau de 800g à 1kg/agneau/jour + paille à volonté

II- Conditions d'élevage des jeunes béliers mis en testage :

II.1- Interventions sanitaires :

Lors de leur mise en testage, une prise de sang agrément par jeune bélier est réalisée (laboratoire de contrôles des reproducteurs Maison Alfort) et une quarantaine de 30 jours est respectée.

Après une tonte, les animaux reçoivent une douche préventive contre les abcès au Virkon 1%® (acide sulfamique, sulfate pentapotassique, acide malique) qui est réitérée à la fin du mois de juillet et du mois de septembre.

L'entraînement à la collecte de sperme dure 3 à 4 jours, d'abord avec des brebis (pas en chaleurs) puis avec un boute-en-train.

Les béliers reçoivent une injection mensuelle d'AD3E® de mai à septembre.

II.2- Alimentation :

La ration suivante est distribuée en 2 repas par jour :

400g d'orge + 450g d'aliment concentré « agneaux complémentaire » + 1,1 kg de foin de Crau + paille à volonté

III- Photopériodisme :

Cette partie décrit les conditions d'éclairage auxquelles ont été soumis les jeunes béliers de leur entrée en CPS jusqu'à la fin de la première campagne d'IA.

		Début éclairage	Fin éclairage
Du 01.01 au 01.03.2015		9h	16h +flash de 1h à 2h
02 – 03 – 04	mars	5h	21h
05 – 06 – 07		5h	20h50
08 – 09 – 10		5h10	20h50
11 – 12 – 13		5h10	20h40
14 – 15 – 16		5h20	20h40
17 – 18 – 19		5h20	20h30
20 – 21 – 22		5h30	20h30
23 – 24 – 25		5h30	20h20
26 – 27 – 28		5h40	20h20
29 – 30 – 31		5h40	20h10
01 – 02 – 03	avril	5h50	20h10
04 – 05 – 06		5h50	20h
07 – 08 – 09		6h	20h
10 – 11 – 12		6h	19h50
13 – 14 – 15		6h10	19h50
16 – 17 – 18		6h10	19h40
19 – 20 – 21		6h20	19h40
22 – 23 – 24		6h20	19h30
25 – 26 – 27		6h30	19h30
28 – 29 – 30		6h30	19h20
01 – 02 – 03	mai	6h40	19h20
04 – 05 – 06		6h40	19h10
07 – 08 – 09		6h50	19h10
10 – 11 – 12		6h50	19h
13 – 14 – 15		7h	19h
16 – 17 – 18		7h	18h50
19 – 20 – 21		7h10	18h50

22 – 23 – 24		7h10	18h40
25 – 26 – 27		7h20	18h40
28 – 29 – 30		7h20	18h30
31 – 01 – 02	juin	7h30	18h30
03 – 04 – 05		7h30	18h20
06 – 07 – 08		7h40	18h20
09 – 10 – 11		7h40	18h10
12 – 13 – 14		7h50	18h10
15 – 16 – 17		7h50	18h
18 – 19 – 20		8h	18h
21 – 22 – 23		8h	17h50
24 – 25 – 26		8h10	17h50
27 – 28 – 29		8h10	17h40
30 – 01 – 02	juillet	8h20	17h40
03 – 04 – 05		8h20	17h30
06 – 07 – 08		8h30	17h30
09 – 10 – 11		8h30	17h20
12 – 13 – 14		8h40	17h20
15 – 16 – 17		8h40	17h10
18 – 19 – 20		8h50	17h10
21 – 22 – 23		8h50	17h
24 – 25 – 26		9h	17h

Tableau photopériodisme : durée d'éclairement des jeunes béliers du 1^{er} janvier au 26 juillet 2015

ANNEXE 2

Histologie : Préparation des lames histologiques et coloration

Recoupe et réalisation des blocs de paraffine

Les échantillons testiculaires prélevés ont été recoupés de façon à obtenir des tranches d'1 mm d'épaisseur, comprenant à la fois du *rete testis* et du parenchyme testiculaire. Chaque tranche ainsi obtenue est disposée dans une cassette.

L'imprégnation de paraffine des échantillons a été réalisée grâce à un automate (MICROM HPM 110) et a duré 15 heures. Elle vise à remplacer l'eau contenue dans les tissus par de la paraffine en plongeant successivement les prélèvements dans des bains d'alcool de degrés croissants puis de toluène. Les cassettes ont ensuite été ouvertes et les échantillons positionnés dans des moules remplis de paraffine à 62°C. Ces derniers ont ensuite été refroidis à -3°C. Les blocs ont été démoulés quand la paraffine est devenue solide. Cette étape a été réalisée sur une station d'enrobage (LEICA EG1160).

Réalisation des lames histologiques

Les blocs de paraffine ont été coupés tous les 15 à 20 µm grâce à un microtome (MICROM HM 325), afin d'éliminer la couche superficielle de paraffine et ce jusqu'à voir apparaître le dessin du prélèvement biologique à la surface du bloc. Ils ont ensuite été placés au congélateur pour faciliter la coupe définitive. La dernière section donne lieu à un ruban de 4 µm d'épaisseur qui est placé sur un bain-marie à 37°C. La coupe est ensuite recueillie avec une lame de verre préalablement enduite d'albumine, facilitant la fixation du ruban sur son support. Puis la lame est séchée dans une étuve à 37°C pendant 45 mn.

Coloration des lames à l'Hémalun Eosine

Cette coloration bichrome fait apparaître en rose les composants protéiques et en violet les acides nucléiques présents dans les tissus. Les différentes étapes de cette coloration sont :

-le déparaffinage : il consiste à immerger la lame dans du toluène pendant 5 mn.

-la réhydratation : elle débute par une immersion pendant 5 mn dans de l'alcool absolu puis dans de l'alcool à 95°C. Enfin, la lame a été placée sous l'eau pendant 5 mn puis essuyée.

-la coloration et le montage des lames : la lame a été plongée 1 mn dans le colorant hémalun puis rincée. Trois gouttes d'ammoniac ont été ajoutées sur la lame. Cette dernière a été rincée à nouveau puis ses bords ont été essuyés avec du papier absorbant.

La lame a été ensuite plongée dans le colorant éosine pendant 20 s et rincée. L'alcool à 95°C permet d'estomper l'éosine si la coloration est trop marquée. Enfin, de l'alcool absolu puis du toluène ont été passés sur la lame. Le montage des lames a été effectué avec du baume.

ANNEXE 3
Paramètres de la base de données

DONNEES DE PRODUCTION :

Paramètre	Unité
Age au 1 ^{er} saut	en jour
Age au 1 ^{er} éjaculat exploitable	en jour
Nombre d'éjaculats avant codage	
Nombre d'éjaculats après codage	
Nombre total d'éjaculats	
Nombre total de doses fabriquées	
Nombre moyen de doses fabriquées par éjaculat	
Volume moyen de l'éjaculat	en mL
Motilité massale	échelle de 0 à 50
Concentration spermatique	en nombre de spermatozoïdes par mL
Nombre moyen de spermatozoïdes par éjaculat	

MENSURATIONS TESTICULAIRES :

Paramètre	Unité
Circonférence scrotale CS	en cm
Hauteur testiculaire moyenne H (moyenne des deux testicules)	en cm
Largeur scrotale L (largeur des deux testicules réunis)	en cm
Epaisseur testiculaire moyenne E ($EP = 0,5 \times (CS - 2 \times L)$)	en cm
Volume testiculaire moyen V1 ($V1 = 4,2 \times (0,5 \times H) \times (0,5 \times L) \times (0,5 \times E)$)	en cm ³

PARAMETRES ECHOGRAPHIQUES :

Ces paramètres concernent toutes les zones d'intérêt (Region Of Interest ROI) des images échographiques, à savoir ROI1, ROI2, ROI3 et RETE TESTIS.

Paramètre	Unité
ROI mean : moyenne des niveaux de gris de la zone	en niveaux de gris
ROI σ : variance des niveaux de gris	en niveaux de gris
ROI min : minimum des niveaux de gris	en niveaux de gris
ROI skewness : coefficient d'asymétrie	
ROI kurtosis β : coefficient d'aplatissement	

Pour chacune des zones d'intérêts, les cinq paramètres décrits ci-dessus seront ensuite combinés avec la Circonférence Scrotale CS puis avec le Volume testiculaire V1.

Toulouse, 2015

NOM : BOLILLO

PRENOM : CAMILLE

TITRE : RECHERCHE DE PREDICTEURS ET D'INDICATEURS DE LA MISE EN PLACE DE LA FONCTION SEXUELLE DE JEUNES BELIERS EN RELATION AVEC LEUR CARRIERE A L'AGE ADULTE

RESUME : Les objectifs de l'étude étaient de trouver des paramètres testiculaires précoces capables de prédire l'aptitude de jeunes béliers à la production de semence de qualité, en quantité suffisante, dès la puberté. Des mensurations et des échographies testiculaires ont été réalisées tous les mois sur 759 agneaux mâles du centre de production de semence Ovitest, en Aveyron. Elle a permis de proposer un modèle décisionnel, utilisable sur des agneaux mâles de 3,5 mois d'âge, permettant de sélectionner précocement les agneaux sur leur aptitude à produire de la semence dès la puberté. Ce travail a également permis de mettre en évidence une stase spermatique au niveau du *rete testis* sur certains jeunes mâles. Cette anomalie ne semble pas avoir de répercussion sur la production de semence mais entraîne plus d'anomalies spermatiques.

MOTS CLES : béliers, prédiction du potentiel reproducteur, testicule, circonférence scrotale, échographie testiculaire.

ENGLISH TITLE : RESEARCH OF EARLY PREDICTORS, IN YOUNG RAMS, OF THEIR FUTURE SEMEN PRODUCTION CAPACITY.

ABSTRACT : The aim of this study was to find in young rams, aged from 1.5 to 5 months, early parameters, allowing the prediction of the ability to produce semen at puberty. Several testicular measurements have been assessed, as testicular echography and scrotal circumference. This study was carried out, in the semen production center Ovitest, in Aveyron, on 759 male lambs. A decision model, predicted the semen production capacity of males at puberty was obtained, based on the volume and echogenicity of testis measured at 3.5 months old. This work has also allowed to discover some rams with a spermatocoele in their *rete testis*. This particular testicular structure does not seem to have an important effect on semen production quantity but it has a negative impact on sperm quality.

KEY WORDS : rams, reproductive potential prediction, testis, scrotal circumference, testicular echography.