**Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaire de Mr Benhenia, Karim**

**Optimisation de la cryoconservation de la semence du bélier**

**Alger, École Nationale Supérieure Vétérinaire : 2017**

**Résumé :**

Durant la cryoconservation, la membrane plasmique du spermatozoïde du bélier présente une susceptibilité très élevée au choc au froid et à la peroxydation des lipides membranaires. L’objectif de ce travail était de développer une nouvelle approche de cryoconservation de la semence du bélier. Cette approche consistait en la protection simultanée contre le choc au froid et la peroxydation des lipides en traitant le sperme, avant congélation, par les complexes,Cyclodextrine – Cholestérol (CD-CHL) et Cyclodextrine-Vitamine E (CD-Vit E). A cet effet, deux expérimentations ont été menées :l’Expérimentation 1 a été réalisée pour étudier l’impact bénéfique du cholestérol (CHL) et de la vitamine E lorsqu’ils sont pré-chargés dans la cyclodextrine (CD), seul ou associée, sur le sperme épididymaire cryoconservé. L’Expérimentation 2 a été effectuée pour optimiser la concentration de CD-Vit E associée à la CD-CHL (2mg/120x106 Spz) pour la cryoconservation du sperme d’éjaculat du bélier de race Ouled Djellal. Les résultats montre, qu’après décongélation, l’association de CD-Vit E avec CD-CHL (CD-CHL-Vit E) améliore significativement (P< 0.05) la mobilité totale, la mobilité progressive, la fonctionnalité de la membrane, les différentes vitesses de mobilité (VCL, VSL, VAP) et LIN par rapport au contrôle et aux autres traitements. De même que, CD-CHL-Vit E confère une protection significativement (P< 0.05)plus élevée contre la peroxydation des lipides membranaires. Par ailleurs, nos expériences indiquent que la concentration de 2 mg de CD-Vit E est, significativement la plus efficace pour l’amélioration des paramètres suscités ainsi que la viabilité des spermatozoïdes et leur protection contre la peroxydation des lipides membranaires par rapport au contrôle et aux autres concentrations de 4 et 6mg. En conclusion, nos résultats révèlent que la nouvelle approche associant, à la fois, les 2 complexes CD-CHL et CD-Vit E dans le milieu de congélation améliore significativement le taux de survie des spermatozoïdes du bélier après décongélation. De plus, les résultats obtenus montrent que la concentration optimale du complexe CD-Vit E associé au complexe CD-CHL, pour la cryoconservation du sperme du bélier de race Ouled Djellal,est de 2mg/120x106 Spz.

**Abstract:**During cryopreservation, plasma membrane of ram spermatozoa presents a very high susceptibility to cold shock and lipid peroxidation. The objective of this work was to develop a new approach for the cryopreservation of ram sperm. This approach consisted of simultaneous protection against cold shock and lipid peroxidation by a prefreezing treatment of sperm with the complexes,Cyclodextrin-Cholesterol (CD-CHL) and Cyclodextrin-Vitamin E (CD-Vit E). For this purpose, 2 experiments were conducted: Experiment 1 was carried out to investigate the potential benefit of vitamin E (Vit E) and cholesterol (CHL) when preloaded in cyclodextrins (CD), alone or in association to protect ram epididymal sperm during the freezing-thawing process. Experiment 2 was performed to optimize the concentration of CD-Vit E associated with CD-CHL (2mg /120x106Spz) for Ouled Djellal breed ram semen cryopreservation. The results show that, after thawing, the association of CD-CHL with CD-Vit E (CD- CHL-Vit E) improve total motility, progressive motility, membrane functionality, sperm velocities (VCL, VSL and VAP) and LIN (P < 0.05), compared to control and other treatments. Similarly, CD-CHL-Vit E provides significantly (P < 0.05) higher protection against membrane lipid peroxidation. Moreover, our experiments show that the concentration of 2 mg of CD-Vit E is significantly(P <0.05) the most effective for the improvement of the parameters mentioned, as well as the viability of the spermatozoa and their protection against membrane lipidperoxidation compared to control and other concentrations of 4 and 6 mg. In conclusion, our results reveal that the new approach combining the both complexes, CD-CHL and CD-Vit E, in the freezing extender improves significantly the cryosurvival of ram sperm. Moreover, the obtained results show that the optimal concentration of the CD-Vit E complexto be associated with the CD-CHL, for cryopreservationofOuled Djella breed ram sperm, is 2mg /120x106 Spz.