**Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaire de Mr Nabi Ibrahim**

**Optimisation de la conservation du sperme de lapin : congélation et réfrigération**

**Alger, École Nationale Supérieure Vétérinaire : 2019**

**Résumé** :

Le procédé de réfrigération et de congélation altère la qualité du sperme du lapin et compromet son utilisation à grande échelle. L’optimisation des milieux de conservation (dilueurs) qui peuvent protéger efficacement les spermatozoïdes reste ainsi d’une importance capitale. Ainsi, l’objectif de la présente thèse est d’explorer les effets du cholestérol et de la vitamine, les deux solubilisés dans les cyclodextrine, Cholesterol-Laoded-Cyclodextrins (CLC), α-Tocophérol-Laoded-Cyclodextrins (TLC) , respectivement, et la Vitamine C (VitC) , et ceci aussi bien dans la conservation par réfrigération à 4°C que dans la congélation à -196°C dans l’azote liquide. Le sperme à été traité à 4°C avec 2.5mg CLC, 0.625mg TLC et 0.125mg VitC et par différentes combinaisons (CLC+TLC, CLC+VitC, TLC+VitC et CLC+TLC+VitC)/80-100million SPZ. Le sperme congelé a été traité avec 0.35mg de β-cyclodextrins (Cdx), 2mg de Cholestérol (Chl), 0.06mg d’α-tocophérol (Toc), 5.4mg CLC, 0.46mg TLC et 2.7+0.23mg CLC+TLC/80-100million SPZ. Nous avons ensuite analysé la mobilité par un Système CASA (Computer assisted semen analysis) et nous avons mesuré le statut oxydatif du sperme réfrigéré par mesure de la peroxydation lipidique (TBARS), le pouvoir réducteur du radical ABTS et le pouvoir scavenger à l’égard du H2O2. Les résultats ont montré que le CLC et TLC améliorent de manière significative (p <0,05) les paramètres de motilité après 24h de conservation à 4°C et en post-décongélation. La VCL et la VAP du TLC (55.2±21.1, 31.2±13.3 µm/s) sont significativement plus élevées après 24h à 4°C en comparaison avec le contrôle (VCL 48.5±19.6, VAP 26.4±12.3 µm/s) et la VAP de 48h (25.5±10.5 µm/s) est également supérieure à celle du contrôle (20.9±10 µm/s). Pour la congélation (-196°C), le TLC augmente significativement la VCL et la VAP comparativement au contrôle (31.1±0.9, 13.5±0.5 µm/s vs 23.2±0.8, 10.1±0.5 µm/s). En ce qui concerne le statut oxydative du sperme réfrigéré, aucune différence significative n’a été notée pour l’ihnibtion de l’ABTS et du H2O2, alors que CLC a enregistré au test TBARS (1.7-±0.7 nmol/ml) des valeurs significativement plus élevées que le contrôle (1.12±0.3 nmol/ml), VitC (0.9±0.2 nmol/ml) et TLC. En conclusion, nous pouvons retenir que les molécules actives complexées aux cyclodextrines ont amélioré la qualité du sperme aussi bien en réfrigération qu’en congélation, en augmentant essentiellement leur solubilité  
  
  
  
  
  
  
**Abstract:**

The process of refrigeration and freezing deteriorate the quality of rabbit semen and limit its industrial usage. The optimization of extenders which can protect the spermatozoa is of capital importance. In this context, The objective of the present thesis was conducted to explore the effects of Cholesterol-Laoded-Cyclodextrins (CLC), α-Tocophérol-Laoded-Cyclodextrins (TLC) and Vitamine C (VitC) on the quality of rabbit semen preserved at 4°C for 48h or cryopreserved at -196°C in liquid nitrogen. Rabbit semen was treated at 4°C by 2.5mg CLC, 0.625mg TLC et 0.125mg VitC and by different respective duals(CLC+TLC, CLC+VitC, TLC+VitC et CLC+TLC+VitC) for 80-100 million spz/ml. the cryopreserved rabbit semen was treated while equilibration by 0.35mg de β-cyclodextrins (Cdx), 2mg de Cholestérol (Chl), 0.06mg d’α-tocophérol (Toc), 5.4mg CLC, 0.46mg TLC et 2.7+0.23mg CLC+TLC/80-100million SPZ/ml. We analyzed motility by Computer assisted semen analysis (CASA) ; and we analyzed oxidative status of refrigerated semen by measuring lipid peroxidation (TBARS), reduction capacity of ABTS radical and scavenger capacity towards H2O2. The results showed that both CLC and TLC improved significantly (p<0.05) the kinematic parameters after 24h of 4°C conservation and after post-thaw. For example, VCL and VAP of TLC (55.2±21.1, 31.2±13.3 µm/s) were significantly higher after 24h at 4°C comparing with control (VCL 48.5±19.6, VAP 26.4±12.3 µm/s) ; while VAP of 48h (25.5±10.5 µm/s) was higher than control(20.9±10 µm/s). In cryopreservation, TLC significantly raise up post-thaw VCL and VAP (31.1±0.9, 13.5±0.5 µm/s vs 23.2±0.8, 10.1±0.5 µm/s). which concern oxidative status of refrigerated semen, no significant difference was noted concerning ABTS or H202; however CLC showed TBARS (1.7-±0.7 nmol/ml) significantly higher compared to control (1.12±0.3 nmol/ml), VitC (0.9±0.2 nmol/ml) et TLC. for 48h, TLC (1.6±0.7 nmol/ml) and CLC-TLC-VitC (1.56±0.13 nmol/ml) showed higher MDA concentrations but without significant effect. In conclusion, we observed that cyclodextrins ameliorate the quality of preserved semen either in refrigeration or cryopreservation; it would be attributed for higher solubility of cholesterol and α-tocopherol for trigger actif molecules against membrane deterioration caused by low temperature chock