

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement  
Spécialité Biologie Animale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Intérêt des huiles essentielles de l'Armoise  
(*Artémisia herba alba*) dans la conservation de la  
mobilité du sperme du bélier à 4°C**

Présenté par :

**Ouatah Syla & Sfacene Nour El-Houda**

Soutenu le : **21 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme Bensaid.	.....	Président
M. IGUER-OU DA M.	Professeur	Encadrant
Mme Talbi.	.....	Examinatrice

**Année universitaire : 2017 / 2018**

## **REMERCIEMENT**

*Tout d'abord, on tient à remercier monsieur «**Iguer-ouada.M**» notre encadrant pour ses précieux conseils, ses orientations qui nous ont clarifié le chemin, son dévouement, et son encouragement toute la période du travail.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont prêté à notre travail.*

***M<sup>me</sup> Bensaïd**, d'avoir accepté de présider et de juger notre travail.*

***M<sup>me</sup> Talbi**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier le directeur de l'abattoir de Bejaia pour sa patience, sa sympathie.*

*Nos sincères remerciements sont adressés également à l'ensemble de personnel du laboratoire particulièrement Mr. Benberkane Amine pour son soutien, son aide, sa disponibilité, sa générosité et le temps qu'il nous a consacré.*

*On tient dans cette occasion à présenter nos vifs remerciements à tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*Kouda et Syla*

## *DEDICACE*

*Je remercie le bon Dieu de m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce travail.*

*J'exprime ma gratitude à ceux qui m'ont bien marqué l'esprit et qui ont toujours cru en mes capacités malgré toutes les difficultés qu'ont pu représenter ces longues années d'études, ils m'ont toujours facilité ce parcours, au prix de nombreux efforts. Il me sera impossible de rendre tout ce qui m'a été offert.*

*Mes parents, mes grands parents, mes sœurs, et mon cher unique frère.*

*Je ne saurais oublier mon fiancé ; et toute sa famille.*

*Mes amies et mes collègues pour leur soutien.*

*A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer*

*A tous ceux qui me sont chers...*

*SYLIA.*

## *DEDICACE*

*A toutes les personnes que je porte dans mon  
cœur.*

*HOUDA*

# ***LISTE DES ABREVIATIONS***

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste de figures</b>	
<b>Liste de tableaux</b>	
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>

## **Partie 1 : Etude bibliographique**

### **Chapitre I : La conservation du sperme**

I.1. La cryoconservation du sperme.....	3
I.1.1. Le sperme.....	3
I.1.2. Les étapes de la conservation.....	3
a) Collecte du sperme.....	3
➤ Sperme épидидinaire.....	3
➤ Sperme éjaculé.....	4
b) Evaluation de la qualité du sperme .....	4
➤ Analyse macroscopique .....	5
➤ Analyse microscopique.....	5
➤ test hypo-osmotique.....	6
➤ test microbiologique.....	6
I.2.3. Technique de conservation.....	6
➤ Conservation à long terme.....	6
➤ Conservation à court terme.....	7
➤ La dilution .....	7
I.2. Stress oxydatif .....	8

### **Chapitre II : Huiles essentielles**

II.1. Huiles essentielles.....	9
1. Généralité et définition.....	9

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

2. Propriétés des huiles essentielles.....	9
3. Toxicité des huiles essentielles.....	10
4. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	10
5. Analyse des huiles essentielles .....	10
II.2. Monographie de <i>l'Artemisia herba-alba</i> .....	11
1. Description et répartition de <i>l'Artemisia herba-alba</i> .....	11
II.3. Huiles essentielles de <i>l'Artemisia herba-alba</i> .....	12
1. Composition chimique des huiles essentielles de <i>l'Artemisia herba-alba</i> .....	12
II.4. Interaction huiles essentielles, sperme.....	13

## **Partie 2 : Etude expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et Méthodes**

I.1 Etude de l'effet des huiles essentielles extraites de la plante étudiée.....	14
1. La préparation des milieux de conservation.....	14
2. Collecte du sperme épидидymaire.....	15
3. Préparation des échantillons (traitement+sperme).....	17
4. Analyse du sperme collecté.....	17
4.2.Analyse macroscopique.....	17
4.2.Analyse microscopique .....	17
I.2. Test de mobilité sur CASA.....	18
I.3. Le test HOST (Intégrité fonctionnelle des membranes).....	19
I.4. Test de démembrement de la flore totale mésophile aérobie a 37°C.....	21
I.5. Analyse statistique.....	22

# ***LISTE DES ABREVIATIONS***

## **Chapitre II : Résultats et Discussion**

II.1. Etude des activités de huile essentielle dans la conservation du sperme.....	23
1. Examen macroscopique.....	23
2. Examen microscopique.....	23
3. Etude de l'effet de l'huile essentielle sur la mobilité.....	24
4. Effet sur l'intégrité membranaire des spermatozoïdes.....	28
5. Effet antibactérienne.....	29
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>31</b>

**Références bibliographiques.**

**Résumé.**

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

- **CASA:** Computer Assisted Sperm Analysis.
- **HE :** Huile essentielle.
- **ml :** Millilitre.
- **µl :** Microlitre.
- **kg :** kilogramme.
- **S :** Seconde.
- **h :** Heure
- **VSL :** Straight Line Velocity.
- **VCL:** Average of Curvilinear Velocity.
- **VAP:** Average of Path Velocity.
- **C° :** Degré Celsius.
- **SPZ :** Spermatozoïde.
- **t :** Temps
- **T :** Température.
- **Tris :** Hydroxyméthyleaminométhane.
- **% :** Pourcentage.
- **ISO:** International Organization for Standardization.
- **CFU:** Colony-forming unit.
- **HOST :** Test Hypo Osmotique
- **CPG :** Chromatographie à phase gazeuse
- **ROS :** Espèces réactives de l'oxygène
- **IA :** Insémination artificielle
- **JO :** Jaune d'œuf
- **FIV :** Fécondation in vitro.
- **[C] :** Concentration.
- **ATB :** Antibiotique.

## ***LISTE DES FIGURES***

**Figure 1 :** Structure d'un spermatozoïde.

**Figure 2 :** L'armoise blanche de la région de Biskra.

**Figure 3 :** Photographie du matériel utilisé pour l'analyse du sperme avec un testicule obtenu de l'abattoir de Bejaïa.

**Figure 4 :** Epididyme isolé d'un testicule.

**Figure 5 :** Semence épидидymaire pure et fraîchement collectée.

**Figure 6 :** Computer Assisted Sperm Analysis (CASA).

**Figure 7 :** Lame Makler.

**Figure 8 :** Schéma représentatif de la réalisation du test HOST

**Figure 9 :** Les spermatozoïdes gonflés (vert) et non gonflés (rouge).

**Figure 10 :** Schéma représentatif de la technique de démembrement de la flore bactérienne.

**Figure 11 :** Histogramme représentant le pourcentage de spermatozoïdes mobiles en fonction du temps dans les différents milieux testés.

**Figure 12 :** Le pourcentage de spermatozoïdes progressifs dans les différentes concentrations de l'HE de l'armoise en fonction du temps.

**Figure 13 :** Histogramme représentant les vitesses (VSL) des spermatozoïdes conservés à 4°C dans des différentes concentrations de l' HE de l'armoise en fonction du temps.

**Figure 14 :** Histogramme représentant les vitesses (VAP) des spermatozoïdes conservés à 4°C dans des différentes concentrations de l' HE de l'armoise en fonction du temps.

**Figure 15 :** Histogramme représentant les vitesses (VCL) des spermatozoïdes conservés à 4°C dans des différentes concentrations de l' HE de l'armoise en fonction du temps.

**Figure 16 :** Histogramme représentant le pourcentage de spermatozoïdes gonflés conservés à 4°C dans des différentes concentrations de l' HE de l'armoise en fonction du temps.

**Figure 17 :** Graphe représentant le nombre de bactéries (UFC/ml) dans les trois échantillons testés : 16µl/ml, 2µl/ml et le contrôle avec et sans antibiotique (ATB, sATB).

## ***LISTE DES TABLEAUX***

**Tableau I** : Notes attribuées aux éjaculats suivant leurs motilités massales.

**Tableau II** : Classification botanique de *l'Artemisia herba-alba*.

**Tableau III** : Composés chimiques de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*.

**Tableau IV** : Les paramètres de la mobilité spermatiques mesurées par le CASA pour chaque spermatozoïde.

**Tableau V** : Tableau représentatif des caractéristiques macroscopique de la semence.

# ***INTRODUCTION***

## **Introduction**

Chez l'homme, comme chez de nombreuses espèces de mammifères, la mobilité des spermatozoïdes est nécessaire à l'expression de leur fonction de fécondation de l'ovocyte. Au cours de leur voyage vers l'ovocyte, les spermatozoïdes rencontrent des micro-environnements très variés et subissent un certain nombre de modifications qui se manifestent notamment au niveau de leur mouvement. Des dysfonctionnements d'origine interne ou dépendants de facteurs externes peuvent perturber la mobilité des spermatozoïdes et donc être responsables d'infertilité (**Pierre et Serres., 1995**).

La biotechnologie de la reproduction a connu un progrès important et rapide ces dernières décennies. Elle inclut des techniques comme l'insémination artificielle, la cryoconservation et autres.

Ces biotechnologies permettent dans certains cas de valoriser et d'amplifier le progrès génétique des reproducteurs les plus demandés (**Mocé et Vicente., 2009**), ainsi que la préservation de la biodiversité. Dans ce sens, le transport de la semence sur de longues distances ou pour de longues durées nécessite des techniques de conservation performantes (**Decuadro-Hansen., 2004**) que se soit pour la conservation à l'état frais ou congelé. Après conservation, le sperme connaît cependant une faible fertilité par rapport au sperme frais.

La conservation de la semence fraîche à 4°C réduit le métabolisme des spermatozoïdes ce qui permet une économie de leur réserves énergétiques et une bonne conservation de leur mobilité qui est restaurée après réchauffement. En revanche, des altérations membranaires sont observées, ce qui les rend plus vulnérables aux éléments toxiques, notamment le stress oxydatif, avec ainsi une perte de motilité spermatique (**Decuadro-Hansen., 2004**). Pour limiter et lutter contre ces dommages, une grande variété d'antioxydants a été utilisée dans les milieux de conservation du sperme.

Dans ce sens, les huiles essentielles (HE) et leurs constituants peuvent être très efficaces contre une grande variété d'oxydants et de micro-organismes. En effet certaines de ces HE ont d'importants effets antioxydants et antibactériens nécessaires pour une meilleure qualité du sperme et une fertilité élevée (**Elmi et al., 2017**).

En Algérie, d'après les témoignages collectés lors d'une enquête ethnobotanique des plantes spontanées utilisées dans la région de Ghardaïa pour le traitement de l'infertilité chez l'homme, nombre de personnes recourt à la phytothérapie comme alternative médicale (**Hadj-Seyd et al., 2016**). Cette enquête, a permis d'inventorier 25 espèces végétales appartenant à 14 familles utilisées pour traiter l'infertilité et dont figure l'*Artémisia herba alba*. Cette plante

## ***INTRODUCTION***

est riche en huile essentielle, et montre en effet une variété d'activités biologiques avec des applications possibles en reproduction. Particulièrement, une investigation de l'effet de ses huiles essentielles sur le sperme pourraient fournir des informations intéressantes sur des actions protectrices (**Hadj-Seyd et al., 2016**).

Le but de la présente étude, est d'évaluer l'effet de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* dans la conservation à 4°C du sperme épидidymaire du bélier et ceci en analysant la qualité de la mobilité des spermatozoïdes, leur intégrité membranaire et l'effet antibactérien sur d'éventuels germes qui se trouverait dans la semence.

La première partie de ce mémoire est dédiée à la littérature sur le sujet, avec un premier chapitre consacré pour la conservation du sperme, un deuxième pour les huiles essentielles et leur interaction avec le sperme. La deuxième partie traite de l'expérimentation avec le matériel et les méthodes utilisés, suivis les résultats obtenus et leur discussion.

## Chapitre I : La conservation du sperme

### I.1. La cryoconservation du sperme

#### I.1.1. Le sperme

Le sperme est un liquide biologique animal complexe expulsé du corps (mâle) lors de l'éjaculation. Il varie d'une espèce à une autre et dans la même espèce sa mobilité est différente d'un individu à un autre, avec des volumes et des concentrations différentes. Le sperme est composé de 90% de liquide séminal et de 10% de cellules reproductrices : les spermatozoïdes (SPZ) (Jumeau., 2015). Ces gamètes sont des cellules différenciées responsables du transport de l'information génétique dans le tractus génital femelle et de sa délivrance à l'intérieur de l'ovocyte. Morphologiquement, le SPZ des mammifères est divisé en deux parties : la tête qui comprend l'acrosome et le noyau cellulaire, le flagelle qui comprend la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale (Ponthier et al., 2014) (Figure1).

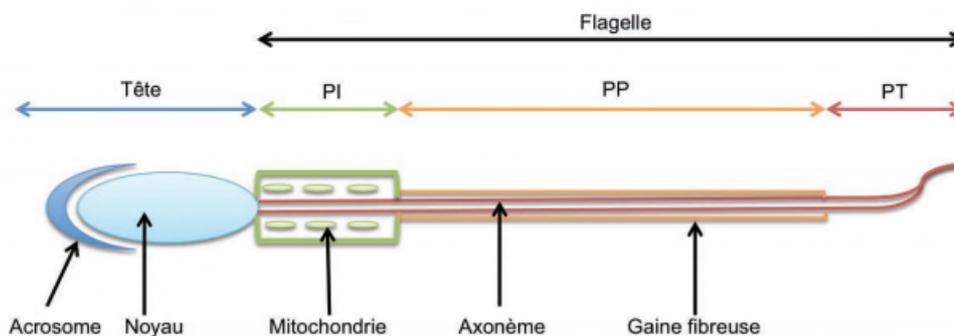


Figure 1 : Structure d'un spermatozoïde (Jumeau., 2015)

#### I.1.2. Les étapes de la conservation

##### a) collecte du sperme

- **Sperme épидидymaire** : Les SPZ testiculaires acquièrent leur fertilité et leur mobilité pendant le transit épидидymaire qui dure environ une quinzaine de jours. Les SPZ fertiles et motiles restent près d'une semaine stockés dans la région caudale de cet organe qui sert de réservoir, c'est donc ce passage à travers l'épididyme qui les transforme en SPZ matures (Baril et al., 1993).

## ***REVUE BIBLIOGRAPHIQUE***

L'utilisation du sperme épидидymaire est une technique qui peut être exploitée dans le cadre de l'insémination artificielle (IA) ou de la fécondation in vitro (FIV). La collecte du sperme épидидymaire se réalise directement à partir de l'épididyme en utilisant la méthode de rétrograde-flushing et permet le recueil de SPZ en nombre suffisant pour plusieurs dizaines d'IA ou de FIV. Le sperme épидидymaire se conserve plusieurs jours à 4°C (**Guérin et al., 2003**).

Il est possible de prélever du sperme épидидymaire d'un animal vivant sous anesthésie générale avec une intervention chirurgicale. Le principe consiste en une microponction du canal déférent. Souvent, il est collecté directement sur des testicules après abattage des animaux.

### **➤ Sperme éjaculé**

#### **1) Collecte au vagin artificiel**

Le vagin artificiel contient de l'eau chaude (40-43°C) qui est protégé par une housse. Les animaux sont entraînés à la collecte, une femelle bête en train est immobilisée dans l'appareil de contention, le bélier effectue une ou deux fausses montes. Après l'éjaculation, l'opérateur secoue énergiquement le vagin artificiel pour faire descendre le sperme dans le tube de collecte (**Christian., 2009**).

#### **2) Collecte à l'électro éjaculateur**

L'électro-éjaculateur lubrifié est introduit dans le rectum et une décharge électrique faible stimule les centres nerveux du bulbe rachidien. Cette technique permet d'obtenir un sperme sans intervention des mécanismes sensoriels et psychiques de l'éjaculation. Le sperme collecté est de moins bonne qualité que celui collecté au vagin artificiel et d'une plus faible concentration (**Christian., 2009**).

#### **b) Evaluation de la qualité du sperme**

L'évaluation de la qualité du sperme a comme objectif d'apprécier ses différentes caractéristiques afin de définir le niveau possible de sa dilution. Elle permet ainsi de préparer une semence correspondant à l'optimum biologique (pouvoir fécondant) et économique (nombres de doses) recherché. Elle comporte des examens macroscopiques, microscopiques, microbiologiques.

# REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## ➤ Analyse macroscopique

- a) **Le volume** : Le volume de l'éjaculat est lu sur le tube de collecte gradué. Ce volume varie de 0,5 à 14 ml selon l'âge, la race, l'alimentation, l'état de santé, les conditions de récolte ainsi que la fréquence de récolte (**Kabera., 2008**).
- b) **La couleur** : Le plus souvent blanchâtre, la couleur du sperme peut être modifiée pour des raisons physiologiques (concentration) mais aussi pathologiques. Certains animaux ont un sperme de couleur rosée ou rougeâtre qui est due à la présence de sang. La couleur jaunâtre peut signifier la présence de pus ou d'urine ce qui compromet le pouvoir fécondant du sperme. La coloration brunâtre est due à la présence de sang altéré et la couleur grisâtre à la présence de pus (**Hanzen., 2008**).
- c) **Viscosité du sperme** : Elle traduit la consistance du sperme et en même temps sa concentration en SPZ. Une bonne viscosité est synonyme d'une bonne concentration en SPZ(**Kabera., 2008**).

## ➤ Analyse microscopique

- a. **Motilité massale** : Elle s'effectue sous microscope au grossissement (x10). L'opération doit se faire très rapidement car le sperme est sensible à l'action toxique de la baisse du PH du plasma séminal, à la lumière, et aux chocs thermique. Une goutte de sperme non diluée est déposée sur une lame, on évalue alors les mouvements et déplacements des SPZ dans le liquide séminal.

Une note de 0 à 5 est attribuée à chaque éjaculat selon une échelle de notation qui est converti en pourcentage fictif de SPZ mobiles (**Tableau I**). L'exigence minimale pour un éjaculat correspond à un bon mouvement qui doit être tourbillonnant doit avoir une note supérieure à 3, les notes 0et1 signifiés l'Absence de spermatozoïdes mobile (**Kabera., 2008**).

**Tableau I : Notes attribuées aux éjaculats suivant leurs motilités massales(Kabera., 2008)**

Note	0	1	2	3	4	5
% des spermatozoïdes mobiles	0%	Environ 20%	Environ 40%	Environ 60%	Environ 80%	Environ 100%

- b. **Motilité individuelle** : S'effectue au microscope au grossissement (x40). C'est l'appréciation du mouvement des SPZ par leurs déplacements à travers 5 champs microscopique. Les mouvements normaux des SPZ sont oscillatoires et progressifs. Ce test peut être réalisé sur du sperme dilué et après refroidissement afin de juger son

## **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

comportement et sa résistance dans le temps. Il permet de déterminer d'une manière subjective le taux de SPZ vivants ou morts (**Kabera., 2008**), ce dernière peut être confirmé par le teste de viabilité.

**c. Concentration du sperme :** Elle peut être déterminée par :

- ✓ Comptage direct des SPZ en utilisant du sperme dilué à 3% de Na Cl avec des cellules comme celle de THOMA.
- ✓ L'utilisation de la densité optique.
- ✓ l'utilisation de compteur électronique.
- ✓ La détermination du volume cellulaire par centrifugation.

### ➤ **Test hypo-osmotique**

Le test hypo-osmotique ou HOST permet d'évaluer l'intégrité membranaire des SPZ qui est d'une importance extrême pour la fonction des gamètes (**Martínez., 2003**). Dans des conditions hypo-osmotiques, la cellule va permettre l'entrée de molécules d'eau à travers sa membrane plasmique, ce flux d'eau entraîne une augmentation du volume intracellulaire qui devient particulièrement visible au niveau de la queue des SPZ (**Jeyendran et al., 1984**). Pour réaliser ce test, la semence est mélangée à une solution hypotonique et le mélange est incubé puis une l'analyse s'effectue sous microscope. Les SPZ dont la membrane est intègre se déforment, ils se reconnaissent à leur flagelle qui se recourbe ou s'enroule sur eux même.

### ➤ **Test microbiologique**

La Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est l'ensemble des micro-organismes (pathogènes ou d'altération) capables de se multiplier à des températures moyennes (entre 20°C et 40°C). La FMAT est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'unité formant une colonie (UFC) présentes dans un produit ou sur une surface. On distingue trois grands types de flore : la flore thermophile (qui se développe à une température optimale de croissance à 45°C) ; la flore mésophile (qui se développe à une température optimale de croissance entre 20°C et 40°C) ; la flore psychrophile (qui se développe à une température optimale de croissance à 20°C).

### **I.2.3. Technique de conservation**

Le but de ces méthodes est de maintenir l'ensemble des fonctions des SPZ en utilisant des milieux adéquats.

### ➤ **Conservation à long terme**

## **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

Nombreuses méthodes de congélation de la semence existent. Deux protocoles principaux sont utilisés. Le protocole de congélation qui comporte deux étapes de dilution : la première consiste à refroidir les SPZ à 4°C et pour les protéger contre les effets délétères du refroidissement, le sperme est dilué dans un milieu à base de lactose + jaune d'œuf. La deuxième étape consiste à inclure le cryoprotecteur, le glycérol, dans les SPZ pour leur permettre de supporter la congélation. Les SPZ sont ensuite conditionnés en paillettes fines de 0,25 ml, congelées dans des vapeurs d'azote et stockées dans l'azote liquide à -196°C. Cette méthode en deux étapes permet de cumuler les effets protecteurs du lait, du jaune d'œuf (JO) et du glycérol.

Il existe d'autres méthodes de congélation en une seule étape avec un milieu contenant un tampon de type zwitterion du glucose, du JO et du glycérol. La dilution est réalisée à 30°C pour limiter les effets négatifs du glycérol, avec une congélation en pastilles. La semence est congelée par dépôt dans des puits de glace carbonique à -80°C avant d'être plongée dans l'azote liquide puis stockée dans des tubes (**Druart et al., 2009**).

### ➤ **Conservation à court terme**

La conservation à court terme se fait à une température voisine de 5°C. Celle-ci doit cependant, pour éviter les chocs thermiques, être atteinte progressivement au rythme moyen de refroidissement de 0.5°C à 1°C par minute ce qui réduit le métabolisme des SPZ et permet ainsi d'économiser leurs réserves énergétiques et une bonne conservation de leurs mobilités. Bien diluée et convenablement refroidie, la semence peut conserver son pouvoir fécondant pendant 2 à 3 jours (**Hanzen., 2010**).

### ➤ **La dilution**

La dilution du sperme a pour but d'accroître le volume total de la masse spermatique, d'assurer un milieu favorable à la survie des SPZ *in vitro* et de réaliser à partir d'un seul éjaculat l'insémination d'un grand nombre de femelles (**Hanzen., 2010**).

#### **a. Les dilueurs à base de lait**

Le lait est un milieu biologique composé de : protéines, sels, glucides, lipides, vitamines, etc. Son pH est d'environ 7,0 et sa pression osmotique est proche de celle du sperme. Il est simple à préparer et peu cher. Le lait est efficace en tant que milieu de dilution et de conservation de la semence car il joue le rôle de tampon, il protège contre le choc thermique et il dispose d'une action antioxydante. De plus, le lait apporte le lactose comme substrat énergétique aux SPZ (**David., 2006**).

## **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **b. Les dilueurs à base de jaune d'œuf**

Le JO est depuis plusieurs années un composant utilisé en routine dans les milieux pour la conservation de la semence de plusieurs espèces. Habituellement utilisé à des concentrations comprises entre 5 et 15 %, celui-ci présente un effet préservateur bien connu sur la mobilité, le métabolisme et la fertilité des SPZ du taureau et du bélier. Le JO a une action protectrice contre le choc thermique, protège aussi les membranes de l'acrosome et de la mitochondrie pendant le refroidissement (**Hanzen., 2010**).

### **c. Substances tampons**

Pour garder un PH neutre (qui varie de 6,7 à 7,0) ainsi qu'une osmolarité adéquate (entre 320-350 mOsm) pour la survie des SPZ, des substances tampon sont utilisées. Elles sont généralement à base de phosphate, de Tris ou de citrate de sodium en association avec de l'acide citrique monohydraté, d'un ou de plusieurs sucre tel que le glucose ou le lactose et des antibiotiques (la pénicilline ou la streptomycine) afin de prévenir la croissance bactérienne (**Lusignan., 2011**).

## **II.2. Stress oxydatif**

Durant les différentes étapes de conservation du sperme, un des problèmes majeur rencontré est la dégradation des SPZ au moment de la congélation et de la décongélation. Ceci est dû aux divers stress occasionnés dont le stress oxydant (**Grignard., 2005**).

### **➤ Définition :**

Le stress oxydatif (SO) est un déséquilibre dans la balance métabolique cellulaire durant lequel il y a production des molécules appelées radicaux libres. Ces molécules sont composées d'oxygène, initialement inerte et indispensable aux processus énergétiques des SPZ, et sont des molécules toxiques conduisant à la formation des radicaux libre appelés « espèces réactives de l'oxygène » (ROS) (**Bossokpi., 2002**). Une augmentation de la quantité des radicaux libres et/ou une diminution des composés antioxydants sont responsables du SO. Les SPZ se défendent contre ce stress (**Ben Ali et al., 2012**) et se protègent de l'effet néfaste des ROS grâce aux enzymes anti oxydantes présentes dans leur cytoplasme (**Lusignan., 2011**).

✚ Il existe des antioxydants synthétiques tels que les médicament, la Vitamine E et C (**Gülçin., 2012**).

✚ Il existe également des antioxydants naturels tels que les HE et les polyphénols (**Mighri et al., 2010**).

# **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre II : Huiles essentielles**

### **II.1. Huiles essentielles**

#### **1. Généralités et définitions**

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont été utilisées en phytothérapie comme remède contre plusieurs maladies vue leur richesse en centaines, voire en milliers de composants ayant des vertus thérapeutiques. De nos jours, l'utilisation de ces composés reste un moyen de soin largement utilisé, voire l'unique moyen pour certains autochtones et communautés vivants dans des pays en voie de développement (**Hadj-Seyd et al., 2016**). Parmi les 800 000 espèces de plantes prospérant sur la planète, un nombre relativement important est capable de synthétiser des composants aromatiques que l'on appelle les huiles essentielles (HE).

Au cours des dernières décennies, la communauté scientifique a manifesté un intérêt croissant pour l'application des HE, qui sont des mélanges complexes de composés volatiles issus du métabolisme secondaire des plantes aromatiques. Elles sont caractérisées par une tache translucide sur du papier qui ne persiste pas très longtemps comparativement aux huiles fixes (**Gainard., 2016**). Elles sont dotées de plusieurs activités biologiques et écologiques (**Elmi et al., 2017**).

Les HE sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante, sont souvent exprimé par de petites quantités et leurs compositions diffèrent selon la localisation des organes d'une même espèce et selon les saisons ou les conditions climatiques(**Lakusić et al., 2014**).

#### **2. Propriétés des huiles essentielles**

Généralement, chaque HE présente quelques propriétés principales, et plusieurs propriétés secondaires. Cela est lié à la structure chimique de leurs molécules aromatiques. Elles ont des effets biologiques variés contre une grande variété d'organismes, notamment des effets antiseptiques, un pouvoir cicatrisant, un effet sur les réponses inflammatoires et immunologiques, un effet sur l'activité neurologique et sur le système cardiovasculaire, des effets sur l'activité digestive et d'élimination, des effets anti-infectieux (**Wilson., 2010**) antifongiques (**Mohamed et al., 2011**) et antiparasitaire (**Irola et Ann., 2010**) avec une

## ***REVUE BIBLIOGRAPHIQUE***

activité virucide voir antibiotiques (Fratini et al., 2014) ; (Atilia et Djahoudi., 2015). De plus, il a été démontré que certains composants constitutifs des HE ont d'importants effets antioxydants (Sökmen et al., 2004)(Elmi et al., 2017).

### **3. Toxicité des huiles essentielles**

En dépit de leurs effets bénéfiques, les HE sont loin d'être non-toxiques. Elles ont des effets négatifs, cancérigènes et parfois mortels et plusieurs types de toxicité peuvent être observés qui peuvent être due aux mauvaises connaissances des contre-indications, les modalités d'utilisation, ingestion accidentelle, ou aux effets secondaires notamment l'irritation des muqueuses et les allergies (KEHAL Farida., 2013).

### **4. Les procédés d'extraction des huiles essentielles**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction d'essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles,...), de la nature des composés à extraire, le rendement en huile et la fragilité de certains constituants. Parmi ces méthodes en trouvent :

- Méthodes classiques : il existe plusieurs méthodes parmi les plus connus, l'hydro distillation ou la distillation à la vapeur d'eau (Colette., 2008), l'extraction par solvants, et l'expression à froid (Rassem et al., 2016).
- Méthodes modernes : On cite, l'extraction de fluides supercritiques(Figuero., 2007), l'hydro distillation assistée par micro-ondes, l'extraction assistée par ultrasons et l'hydro diffusion assistée par micro-ondes et de gravité (Rassem et al., 2016).

### **5. Analyse des huiles essentielles**

Quel que soit le domaine d'utilisation des HE, une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et découvrir leur éventuelle spécificité. Cependant, elle demande une opération d'analyse délicate nécessitant diverses techniques. Ces dernières, en particulier la chromatographie en phase gazeuse (CPG), est la mieux adaptée et appropriée pour la séparation et l'identification des composants d'une huile, elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative (Figuero., 2007).

# REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## II.2. Monographie de l'*Artemisia herba-alba*

### 1. Description et répartition de l'*Artemisia herba-alba*

l'Armoise blanche connue sous le nom d'absinthe du désert (Shih) est une plante médicinale fortement aromatique utilisée en médecine traditionnelle par de nombreuses cultures depuis l'Antiquité (Abu-Darwish et al., 2015). C'est une herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, toujours verte, appartenant à la famille des Astéracées (Akrouit., 2004) (Figure 2), cette espèce couvre d'immenses territoires, elle existe dans des bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale et à travers l'Afrique du Nord. En Algérie on trouve l'armoïse dans les zones steppiques (hauts plateaux) elle se répand sur une longueur de 1200 km allant de la frontière tunisienne jusqu'à la frontière marocaine (Bezza et al., 2010).



Figure 2 : l'armoïse blanche de la région de Biskra (Bezza et al., 2010)

Il semblerait que cette plante présente de nombreuses propriétés bénéfiques dans le traitement de plusieurs maladies (Moufid et Eddouks., 2012). Elle est utilisée en médecine traditionnelle comme source d'insecticides contre les moustiques ainsi que sur la croissance des pathogènes microbiens (Aziz et al., 2018). Elle possède une activité antioxydante élevée, et une forte capacité anticancéreuse (Bourgou et al., 2017).

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau II : Classification botanique de *l'Artemisia herba-alba* (Wikipédia., 2018)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement :	<i>Angiospermes</i>
Classe :	<i>Dicotylédones</i>
Ordre :	<i>Asterales</i>
Famille :	<i>Asteraceae</i>
Genre :	<i>Artemisia</i>
Espèce :	<i>Artemisia herba-alba</i>

### II.3. Huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba*

L'HE d'*Artemisia herba alba* renferme une valeur thérapeutique antifongique et anti-inflammatoire, elle est utilisée pour traiter les troubles infectieux et comme antiseptique en médecine traditionnelle (Abu-Darwish et al., 2015). Elle présente des activités antileishmaniales (Hatimi et al., 2001), antioxydantes et antibactériennes (Rafiq et al., 2016), (Younsiet al., 2017).

#### 1. Composition chimique des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba*

L'HE de l'Armoise blanche présente une variation saisonnière de ses composants (Ghanmi et al., 2010). Un total de 86 métabolites ont été identifiés pour la première fois par (Bourgou et al., 2017). Les études phytochimiques ont révélé l'existence de composés majoritaires de ces huiles (tableau III) qui présentent plusieurs activités biologiques intéressantes et bénéfiques. Cependant, il faut signaler que ces activités ne sont pas seulement dues aux composés majoritaires mais à l'ensemble des composés contenus dans cette huile.

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

**Tableau III** : composés chimiques de l'huile essentielle de *Artemisia herba-alba*

Composés d'HE de l'armoise	Composés majeurs	Teneur (%)	Origine	Références
Camphre, $\alpha$ -Pinène, $\alpha$ -Thujone, $\beta$ -Thujone	camphre $\alpha$ -thujone $\beta$ -thujone	19,61 19,40 9,44	<i>Tunis</i>	(Younsi., et al. 2017)
Chrysanthénone, Sabinen	Chrysanthénone Acétate de trans-sabinyle	9,44 9,26		
$\beta$ -pinène, p-Cymene	1,8-cinéole	20,1	<i>South Jordan</i>	(Abu-Darwish et al., 2015)
1,8-Cineole, trans-Sabinol, trans-Pinocarveol, Sabina	$\beta$ -thujone $\alpha$ -thuyone camphre	25,1 22,9 10,5		
cétone, Pinocarvone, Terpinen-4-ol, Acétate de chrysanthényle, trans-Acétate de sabinyle	$\alpha$ -thujone $\beta$ -thujone Acétate de trans-sabinyle	43,85 10,10 17,46	Matmata (Maroc)	(Akrouit., 2004)
Farnesene (-Z) Spathuléol	l'acétate cis-hrysanthényle	25,12 8,39	Biskra (Algérie)	(Bezza et al., 2010)
Eudesmol, Isothujol, $\beta$ -myrcène, Verbénone, Bornéol, Carvone, Spathuléol, Davanone...etc.	2E,3Z-2-éthyliden-6-méthyl-3,5-heptadiènal $\alpha$ -thujone Acétate de myrtényle verbénone	7,85 7,39 7,19		

### II.4. Interaction huiles essentielles, sperme

Les plantes médicinales sont explorées dans le traitement de toutes sortes de maladies, y compris dans les problèmes liés à la fertilité, car de nombreuses substances végétales sont connues pour leurs interférences avec le système reproducteur, notamment masculin. Cependant, une étude sur une période de 25 ans (1980-2005) a révélé l'existence de 105 plantes qui possèdent une activité spermicide (Gupta et Sharma., 2006).

Une étude plus récente a signalé que l'HE de feuilles de goyave (*Psidium guajava*) peut atténuer les effets du stress thermique dans le système reproducteur masculin et améliorer la fertilité. Le traitement des cavies mâles (*Caviaporcellus*) avec une concentration de 100 $\mu$ L/kg/poids corporel en huiles essentielles augmenté l'activité antioxydante, la concentration et la motilité des spermatozoïdes (Ngoula et al., 2017).

Une autre étude réalisée par (Affonso et al., 2012) sur l'évaluation de la toxicité de l'HE de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) chez les rats mâles Wistar à des doses différentes (375, 750, 1500 mg/kg) n'a montré aucun changement significatif dans le système de la reproduction.

# **MATERIEL ET METHODES**

## **Chapitre I : Matériel et Méthodes**

Pour bien mener notre étude, qui s'inscrit dans le cadre de la conservation des caractéristiques de la semence ovine lors de la réfrigération à 4°C, nous avons testé de nouveaux milieux à base d'HE de l'armoise blanche.

La partie pratique de notre travail s'est déroulée au niveau du laboratoire associé en écosystèmes marins et aquacoles au bloc N° 12 au sein de l'université A.MIRA / Bejaïa.

### **I.1. Etude de l'effet de l'huile essentielle**

#### **❖ Matériel**

Pour réaliser l'ensemble des analyses nous avons utilisé le matériel suivant :

Un erlen-Meyer, un bécher, des flacons étiquetés, balance électronique, un agitateur, barons magnétiques, une pipette, micropipette, boîtes de Pétri, des seringues, des lames bistouri, bec benzène, bain-marie, pinces, ciseaux, pipettes pasteur, tubes à essai, du papier aluminium, du papier absorbant, des embouts, des épindorffs, de l'eau physiologique, de l'alcool, des gants en latex, autoclave, étuves, réfrigérateur, les milieux de culture et réactifs, et des œufs.

#### **❖ Méthodologie**

Dans la présente étude, le recours à l'utilisation du sperme épидидymaire de bélier vise à étudier les effets de l'HE d'*Artemisia herba alba* sur les paramètres de mobilité et de l'intégrité membranaires des SPZ. De même leur effet antibactérien dans la semence conservée à 4°C pendant 96h. Pour évaluer ces effets nous avons recouru aux dilutions à différentes concentration de l'HE dans le Tris + le jaune d'œuf (JO). Nous avons quantifié ces effets par l'évaluation de la semence à travers ses paramètre spermatiques mesurés par l'analyse informatique du sperme en utilisant le CASA «Computer Assisted Sperm Analysis» (figure 5).

### **1. La préparation des milieux de conservation**

#### **1.1. Protocole de préparation du dilueur :** Le sperme est dilué dans le milieu Tris+JO.

Dans 100 ml d'eau distillé sous un adjutateur on ajoute :

- 2.7 g du Tris (hydroxyméthylaminométhane) pour avoir des solutions tampons.
- 1.25 g d'acide citrique pour régulariser le PH et l'osmolarité.
- 1.4g de fructose comme élément nutritif pour éviter l'épuisement des spz.
- 0.1 g de pénicilline (antibiotique) destinés à contrôles la flore microbienne, et lutter contre la contamination.

## ***MATERIEL ET METHODES***

- 15% de JO afin de protéger les SPZ contre le choc thermique.

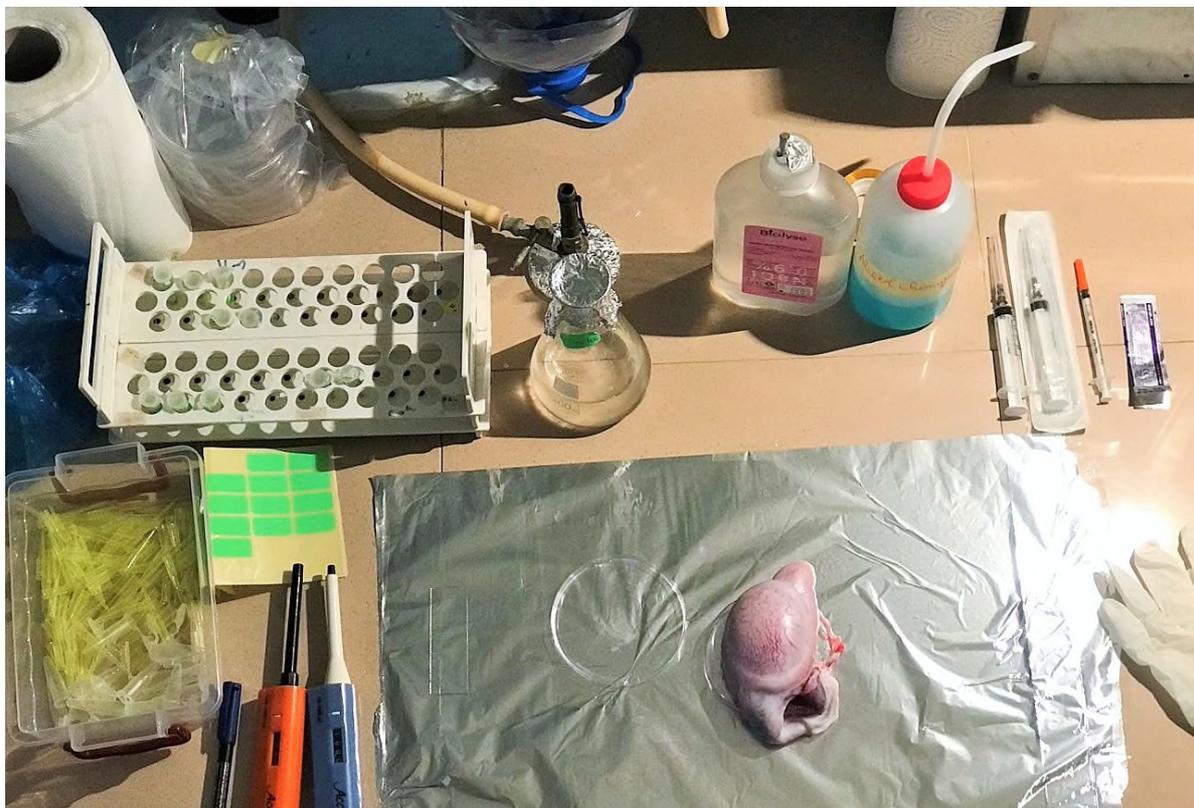
### **1.2. Protocole de préparation des traitements de conservation**

- a) Le contrôle contient uniquement le Tris+ JO.
- b) Préparation des milieux de conservation avec HE :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des HEs qui ont été obtenues à partir de l'espèce *Artemisia herba alba* en choisissant six concentrations : 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 µl /ml.

### **2. Collecte du sperme épидидymaire**

Les testicules (le nombre de testicules =8) sont récupérés au niveau de l'abattoir de Bejaia, après l'abattage des Ovins (**Figure 3**).



**Figure 3 : Photographie du matériel utilisé pour l'analyse du sperme avec un testicule obtenu de l'abattoir de Bejaïa.**

- **La méthode de collecte du sperme**

Pour la collecte du sperme épидидymaire nous avons procédé à la méthode du rinçage rétrograde « retrogarde-flushing » comme suite :

- laver le testicule à l'eau courante et à température ambiante.

## ***MATERIEL ET METHODES***

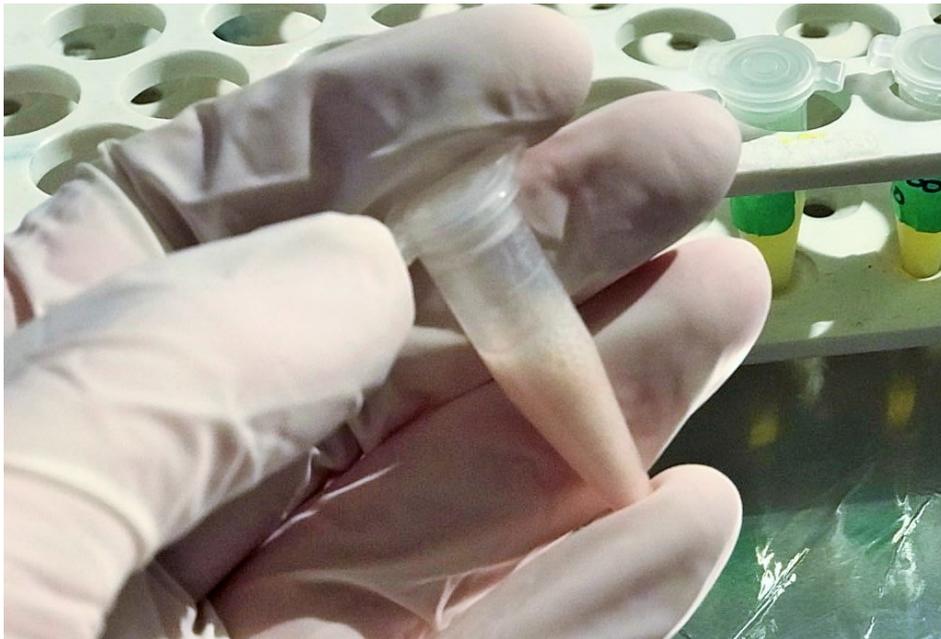
- enlever la membrane externe du testicule (l'albuginée) à l'aide d'une lame bistouri, puis récupérer la partie intérieure du testicule.
- Isoler soigneusement la tête de l'épididyme et le canal déférent du reste du testicule à l'aide d'une lame bistouri stérilisée (**Figure 4**).
- rincer l'épididyme et le canal déférent avec de l'eau physiologique.



**Figure 4 : épididyme isolé d'un testicule**

- réaliser une série de ponctions avec une seringue stérilisée sur la queue épидидymaire afin de rompre les vaisseaux sanguins et de faire sortir le sang qui peut contaminer la semence lors de la collecte, puis nettoyer le sang avec du papier absorbant.
- réaliser une première incision au niveau de la queue épидидymaire avec une lame stérilisée, et récolter le sperme qui s'écoule dans un eppendorf placé contre l'incision.
- introduire une seringue remplie d'air et de 0,5ml du Tris buffer dans la lumière du canal déférent dans la direction de l'incision pour créer une pression qui conduit à l'écoulement de la semence dans l'épидидorff de collecte (**Figure 5**).

## **MATERIEL ET METHODES**



**Figure 5 : semence épидидymaire pure et fraichement collectée.**

### **3. Préparation des échantillons à analyser (traitement+sperme)**

Chaque concentration de l'huile essentielle à été mélangée à la semence avec un rapport de 1:50 volume/volume. Le milieu Tris + le jaune d'œuf sans aucune supplémentation a été utilisé comme contrôle.

Après dilution et homogénéisation de la semence une première analyse est réalisée pour l'ensemble des milieux à T0 (30 min après le mélange de l'huile et du sperme). Le sperme est ensuite mis à 4°C pour conservation et analysé après 2h, 4h, 24h, 48h 72h et 96h.

### **4. Analyse du sperme collecté**

#### **4.1. Analyse macroscopique**

La semence récupérée a été utilisée pour les tests de mobilité, de l'HOST et de prolifération bactérienne. Après la collecte nous avons noté à température ambiante :

- Le volume : lecture directe sur l'éppindorff.
- La couleur de la semence : par observation à l'œil nu.

#### **4.2. Analyse microscopique**

Dans l'analyse microscopique du sperme nous avons utilisé le matériel suivant :

- un analyseur informatique du sperme (CASA) : Computer Assisted Sperm Analysis.
- un microscope optique.
- Lame makler

## ***MATERIEL ET METHODES***

### ➤ **La motilité massale**

Elle se fait par le dépôt d'une goutte de sperme sur une lame pour déterminer la motilité massale en effectuant une observation sous microscope au grossissement (x10). Une note de 0 à 5 est attribuée selon le tableau I.

### ➤ **La motilité individuelle**

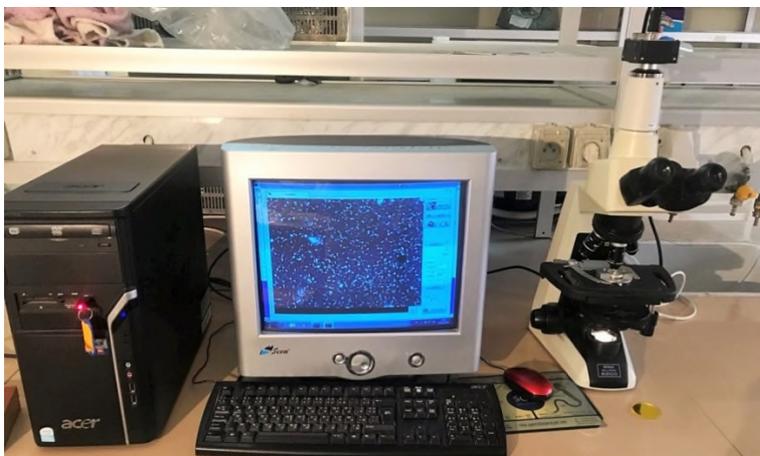
Après dilution du sperme avec le Tris+JO, on dépose une goutte de la semence diluée entre lame et lamelle et on effectue l'analyse à l'aide du CASA.

### ➤ **La concentration**

La concentration du sperme est obtenue directement à partir d'un analyseur informatique du sperme (CASA), en tenant compte du taux de dilution.

## **I.2. Test de mobilité sur CASA**

- On dilue 10 µl de sperme dans 500 µl du milieu Tris+JO.
- Ensuite on dépose une goutte de 10 µl de chaque concentration de l'huile essentielle sur la lame Makler (**Figure6**) et on analyse le sperme par ordinateur (CASA) (**Figure 5**).



**Figure 6 : Computer Assisted Sperm Analysis (CASA).      Figure 7 : Lame Makler**

Les paramètres de la mobilité ont été ainsi enregistrés pour chaque SPZ de chaque échantillon. Les paramètres enregistrés sont :

VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH et BCF dont les définitions sont données dans le tableau suivant :

## ***MATERIEL ET METHODES***

**Tableau IV** : Les paramètres de mobilité spermatique mesurées par le CASA pour chaque spermatozoïde.

Paramètre	Signification
<b>VCL</b>	Vélocité curvilinéaire ( $\mu\text{m/s}$ )
<b>VSL</b>	Vélocité linéaire ( $\mu\text{m/s}$ )
<b>VAP</b>	Vélocité moyenne du trajet ( $\mu\text{m/s}$ )
<b>LIN</b>	Linéarité de la trajectoire curviligne (rapport VSL/VCL) (%)
<b>STR</b>	Rectitude ou de linéarité de la trajectoire moyenne (VSL / VAP) (%)
<b>WOB</b>	Oscillation de la trajectoire réelle par rapport à la trajectoire moyenne. (VAP / VCL) (%)
<b>ALH</b>	Amplitude du déplacement latéral de la tête ( $\mu\text{m}$ )
<b>BCF</b>	Fréquence à laquelle la tête traverse le point milieu de la trajectoire (hz)

### **I.3. Le Test HOST (Intégrité fonctionnelle des membranes)**

Le test hypo osmotique (HOST) est l'une des méthodes les plus efficaces pour évaluer l'intégrité de la membrane plasmique des spermatozoïdes conservés (David., 2008).

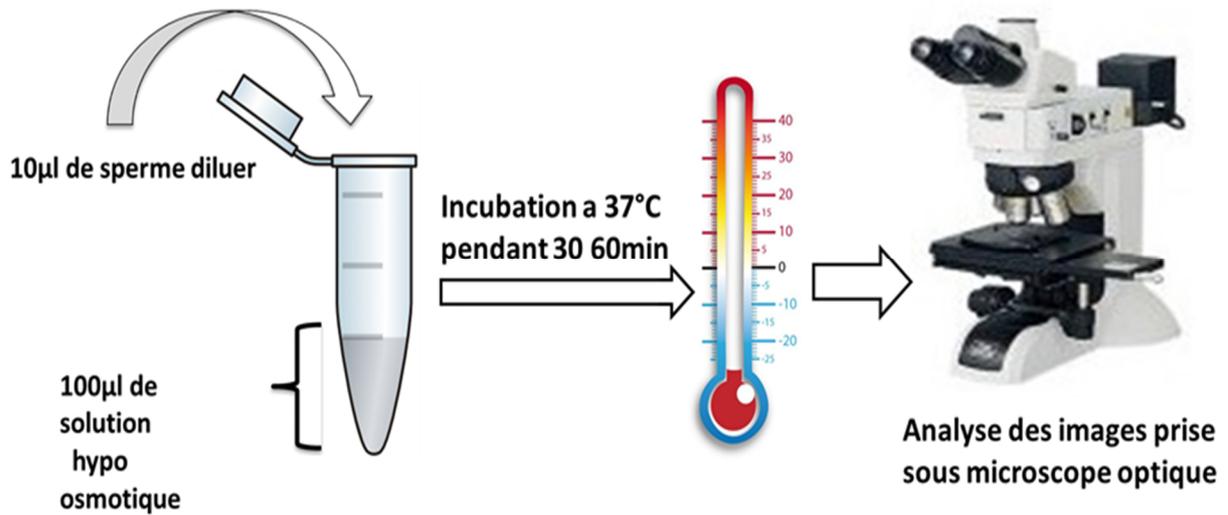
Dans la présente expérience, nous avons utilisé la solution hypo osmotique obtenue en mélangeant dans 100 mL d'eau distillée :

- 0.735g de sodium citrate dihydrate
- 1.351 g de D-fructose.

Le test HOS est préparé en mélangeant 10 $\mu\text{L}$  de semence à 4°C et 100  $\mu\text{L}$  de la solution hypo-osmotique et en les laissant incuber à 37°C pendant 30-60 minutes (**Figure 7**).

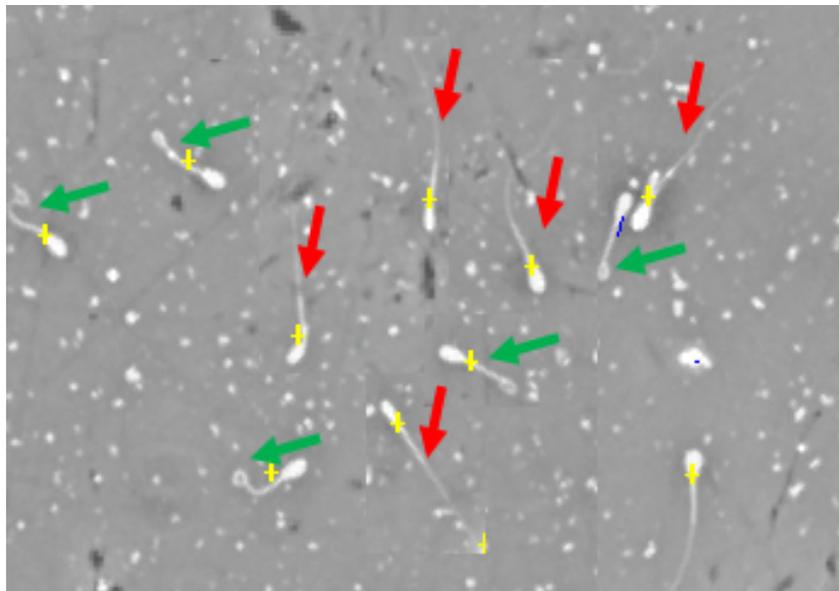
L'observation d'une goutte placée sur une lame Makler se fait au microscope au grossissement (x20).

## MATERIEL ET METHODES



**Figure 8 : schéma représentatif de la réalisation du test HOST**

Le test consiste à dénombrer, parmi 100 spermatozoïdes, les spz « gonflés », c'est-à-dire ceux avec une queue enroulée (**figure 8**) et déterminer ainsi le pourcentage de SPZ ayant une membrane fonctionnelle. Le comptage est effectué deux fois sur des images différentes et la moyenne des deux comptages est considérée.



**Figure 9 : les spermatozoïdes gonflés (vert) et non gonflés (rouge)**

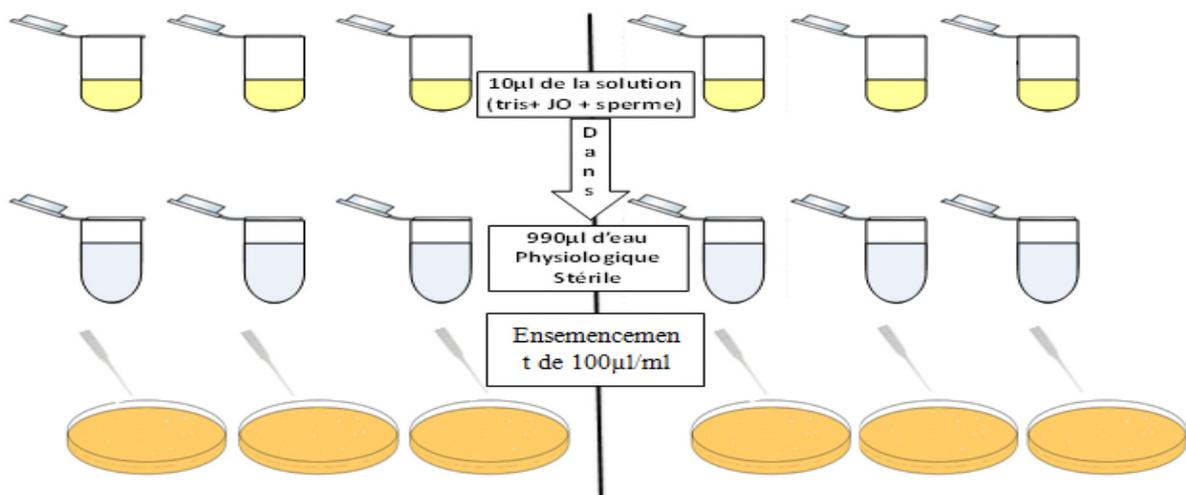
## **MATERIEL ET METHODES**

### **I.4. Test de dénombrement de la flore totale mésophile aérobie à 37°C**

Pour investiguer l'effet antibactérien des HE, nous avons utilisé dans ce travail le contrôle microbiologique par la technique de Miles-Misra (**Quinn et al., 1994**) avec le dénombrement de FMAT qui permet d'évaluer le nombre d'UFC présentes dans les milieux de conservation du sperme. Les échantillons analysés étaient les concentrations 2 et 16  $\mu\text{l/ml}$  avec un contrôle sans huiles essentielles. Chacun de ces trois groupes était avec ou sans antibiotique (pénicilline). L'analyse est effectuée à  $t_0$  et après 24h de stockage à 4°C.

La technique est effectuée dans des conditions aseptiques sous la flamme du bec benzène avec un matériel stérile. On ensemence 100 $\mu\text{l}$  de sperme conservé à partir de chaque traitement dans deux boîtes de Pétri agar contenant la gélose (Mueller Hinton). Ceci permet d'immobiliser les bactéries et donc former des colonies bien définies. Le mélange est homogénéisé lentement par des mouvements circulaires puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

La technique de dénombrement de la flore est résumée dans la (**figure 9**).



**Figure 10: schéma représentatif de la technique de dénombrement de la flore bactérienne**

Pour l'interprétation des résultats on compte l'ensemble des colonies lenticulaires apparues dans les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies (après 24h). Il est difficile de compter une boîte contenant plus de 300 colonies en raison d'un risque d'erreur. Un nombre moyen de colonies à partir de deux boîtes a été obtenu pour chaque échantillon.

## ***MATERIEL ET METHODES***

### **I.5. Analyse statistique**

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité de l'HE ont fait l'objet d'une étude statistique. Tous les graphes et les histogrammes représentés dans le document ont été réalisés en utilisant le logiciel Statview.

# RESULTATS ET DISCUSSION

## Chapitre II : résultats et discussion

Ce chapitre sera consacré à la présentation et la discussion l'ensemble des résultats obtenus lors des différentes expérimentations. Dans un premier temps nous présenteront les résultats relatifs à l'effet des HE de l'*Artemisia herba alba* sur les paramètres de mobilité et l'intégrité membranaires des spermatozoïdes, ensuite ceux relatifs à l'effet antibactérien. Nous discuterons ensuite les résultats obtenus.

### II.1. Etude des activités de l'huile essentielle sur la conservation du sperme

#### 1. Examen macroscopique

Les caractéristiques macroscopiques du sperme de chaque testicule étudié sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau V : tableau représentatif des caractéristiques macroscopiques de la semence.**

N°	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Couleur</b>	Blanche rosâtre	Blanche rosâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanche jaunâtre	Blanche jaunâtre	Blanchâtre
<b>Volume</b>	0.3ml	0.3ml	0.5ml	0.5ml	0.5ml	0.8ml	0.8ml	0.4ml

Les volumes de sperme peuvent varier en fonction de l'état corporel des mâles, leur âge, l'environnement et aussi l'alimentation (**Hanzen., 2009**). Le volume enregistré reste dans les normes rapportées pour le sperme épидидymaire.

Les semences N°3, 4, 5 et 8 ont une couleur blanchâtre ce qui signifie que le sperme est normal. Les semences N°1 et 2 sont de couleur rosâtre lié à la présence de petites quantités de sang qui n'ont cependant pas d'effet apparent sur la mobilité des spermatozoïdes.

#### 2. Examen microscopique

##### ❖ La motilité :

Dans ce travail, le mouvement des SPZ est estimé directement après chaque collecte. Les semences récoltées ont une bonne motilité massale et le sperme est de bonne qualité. Il présente plus de 80% de SPZ mobiles.

## RESULTATS ET DISCUSSION

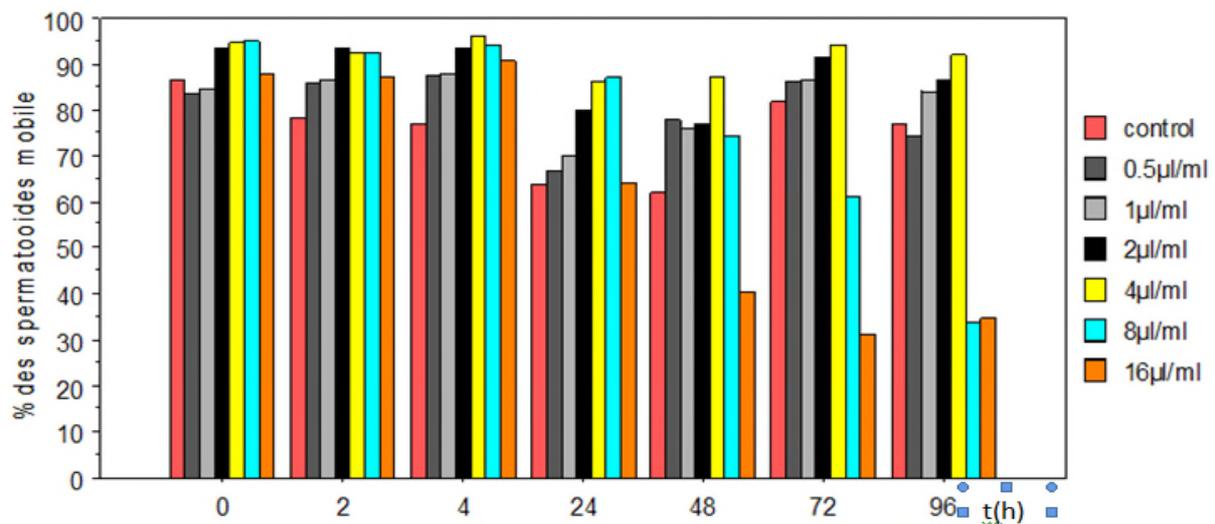
### 3. Etude de l'effet de l'huile essentielle sur la mobilité

Afin de proposer un milieu de conservation à 4°C adéquat et convenable pour le sperme ovin, nous avons évalué l'effet de l'HE de *Artemisia herba alba* sur la mobilité des gamètes. Le meilleur milieu sera celui qui assurera une meilleure conservation de cette mobilité.

#### a) La mobilité

##### Pourcentage de spermatozoïdes mobile

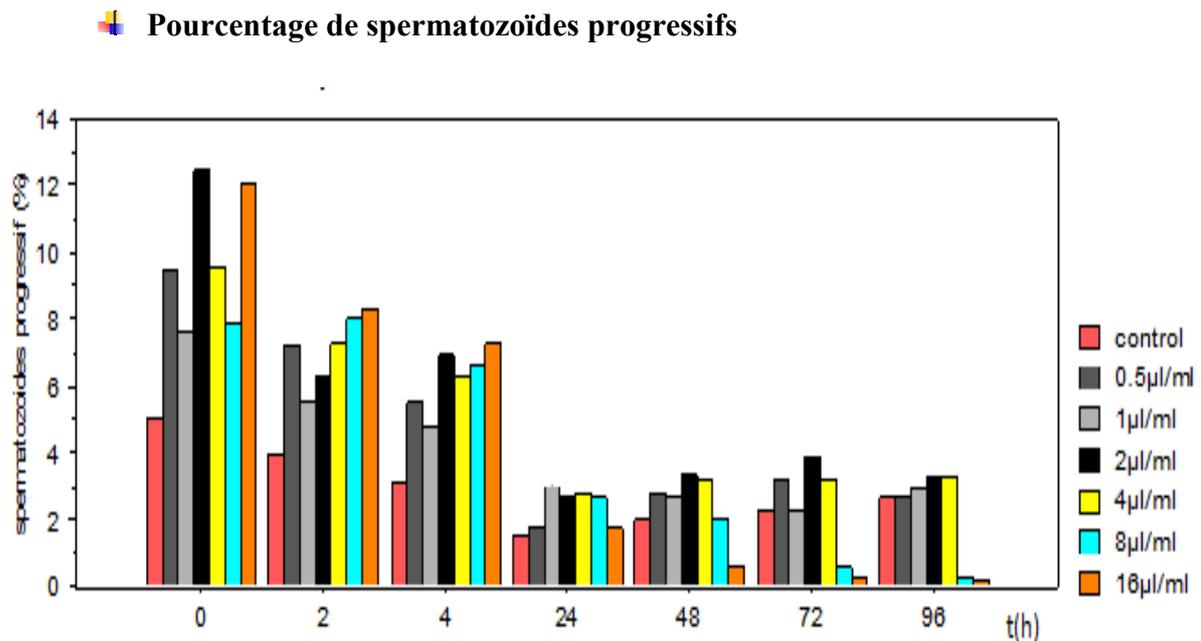
Le pourcentage des SPZ mobiles est illustré sur la **figure 10**.



**Figure 11 : Histogramme représentant le pourcentage de spermatozoïdes mobiles en fonction du temps dans les différents milieux testés.**

Nous pouvons constater que trois concentrations en l'huile essentielle se distinguent par la l'amélioration du pourcentage de mobilité, 2, 4, et 8 µl/ml pendant les 24 premières heures. Après, c'est surtout la concentration de 4 µl/ml qui maintien le plus la mobilité. Des améliorations importantes sont observées par rapport au contrôle, à l'exception des temps allant de 48h où une inhibition de la mobilité est observée avec les plus grandes concentrations (8 et 16 µl/ml).

## RESULTATS ET DISCUSSION



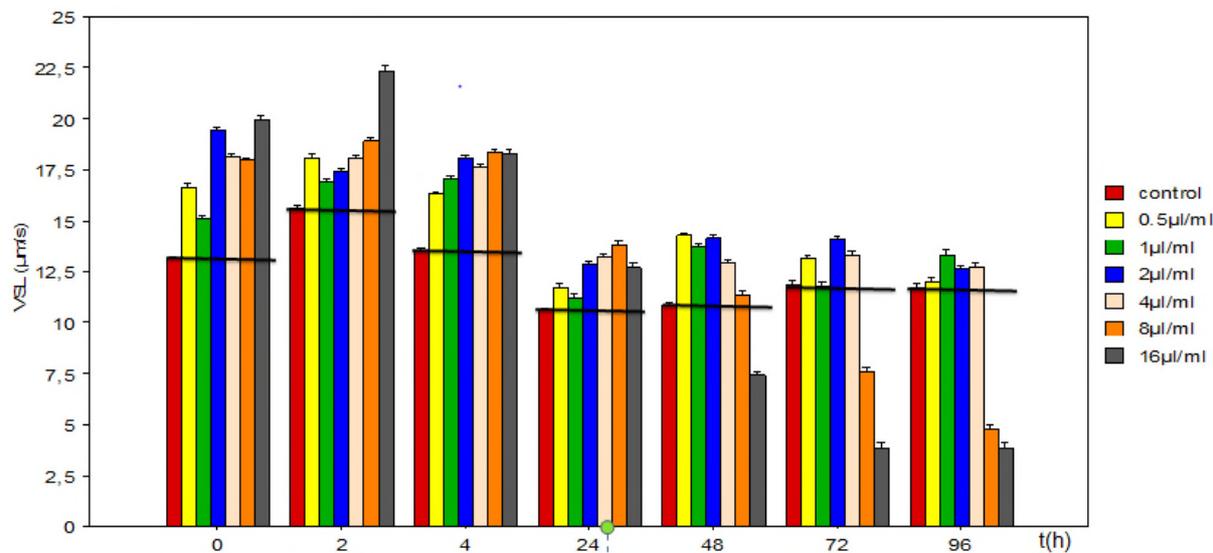
**Figure 12 : Le pourcentage de spermatozoïdes progressifs dans les différentes concentrations de l'HE de l'armoise en fonction du temps.**

Comme nous pouvons le constater sur la **figure 11**, le pourcentage de SPZ progressifs dans les huiles essentielles est supérieur au contrôle, à l'exception des concentrations 8 et 16 µl/ml qui expriment une diminution de ce paramètre à partir de 48h de conservation.

### **b) La cinétique de mouvement des spermatozoïdes**

La vitesse linéaire des spermatozoïdes (VSL) est déterminée en considérant la distance entre le point d'arrivée et le point de départ, en ligne droite des gamètes (**figure 12**). La vitesse moyenne de trajet (VAP) quant à elle considère la distance parcourue par les spermatozoïdes sur un trajet moyen pendant la durée d'observation (**figure 13**), alors que la VCL tient compte de la distance réelle parcourue (**figure 14**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

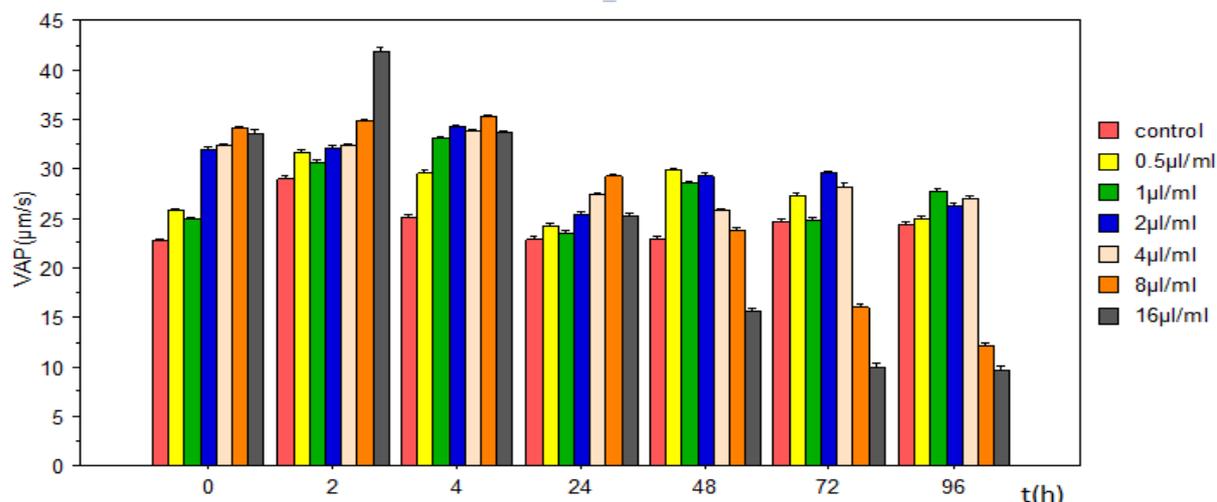


**Figure 13 : Histogramme représentant les vitesses (VSL) des spermatozoïdes conservés à 4°C dans différentes concentrations de l'HE de l'armoise en fonction du temps.**

Les résultats indiquent la VSL des spermatozoïdes sont largement supérieures dans les milieux contenant les huiles essentielles et ce n'est qu'après 48h que des vitesses moins importantes sont observées dans les concentrations 8 et 16  $\mu\text{l/ml}$ . Les mêmes constatations peuvent être retenues pour la VAP (figure 13) et la VCL (figure 14).

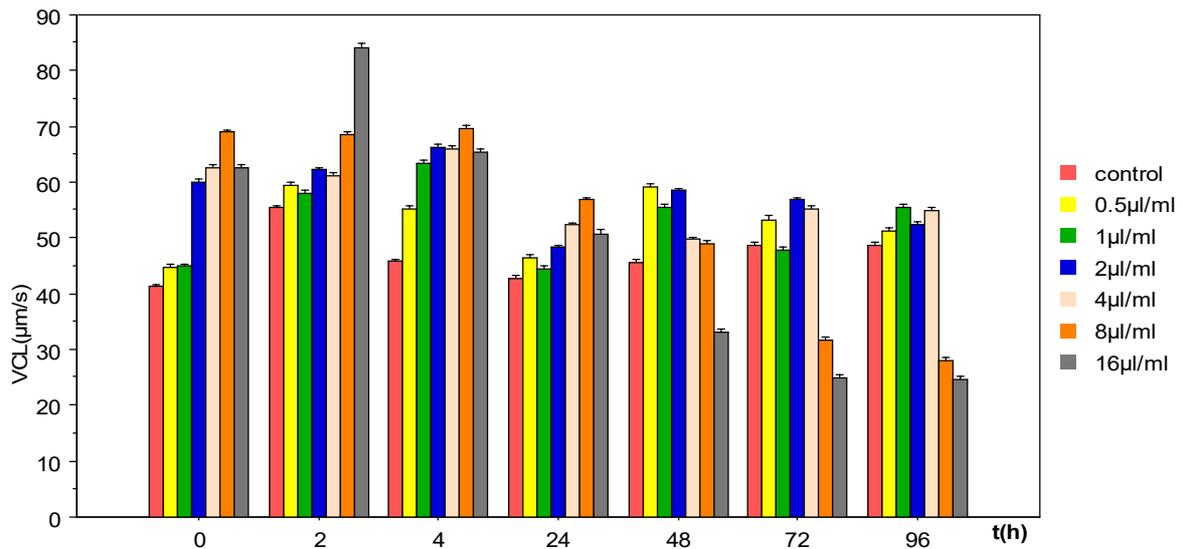
### ✚ La vitesse de trajet (VAP, VCL)

L'historgramme suivant (figure 13) représente la variation de (VAP).



**Figure 14 : Histogramme représentant les vitesses (VAP) des spermatozoïdes conservés à 4°C dans différentes concentrations de l'HE de l'armoise en fonction du temps.**

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 15 : Histogramme représentant les vitesses (VCL) des spermatozoïdes conservés à 4°C dans différentes concentrations de l'HE de l'armoise en fonction du temps.**

Par l'utilisation des HE deux effets sont rapportés dans la littérature, une action spermicide révélée dans les études *in vitro* et une action amélioratrice démontrée dans les études *In vivo* quand ces huiles sont administrées aux animaux.

Les effets de l'HE de *Satureja khuzestanica*, a montré qu'une administration pendant 0 à 15 de gestation, augmente le nombre d'implantation et des fœtus vivants chez la femelle (Abdollahi et al., 2003) et améliore tous les paramètres de la reproduction chez le mâle (Haeri et al., 2006). De même, il est rapporté que cette huile permet de protéger la sphère de reproduction du mâle soumis à un traitement anticancéreux par la cyclophosphamide avec un impact sur la qualité du sperme, la spermatogénèse et la fertilité (Rezvanfar et al., 2008).

*In vitro*, les effets des huiles essentielles dépendent de la concentration utilisée, en effet il est montré que l'HE de *Rosmarinus officinalis* reste bien tolérée par les SPZ porcins jusqu'à une concentration de 0.6mg/ml alors que l'HE de *Thymbra capitata* a un effet spermicide à une concentration de 0.4mg/ml (Elmi et al., 2017). Cet effet concentration dépendant, est observé dans les présents résultats.

Cependant, l'effet protecteur *in vitro* n'a, à notre connaissance, jamais été rapporté. Nos résultats sont parmi les premiers à montrer l'intérêt des huiles essentielles de l'armoise blanche dans la conservation du sperme. Une récente étude réalisée par Touazi et al., (2018) a retrouvé les mêmes effets protecteurs avec l'HE de *Rosmarinus officinalis*.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 4. Effet sur l'intégrité membranaire des spermatozoïdes

Le pourcentage des spz gonflés, signifiant l'intégrité membranaire, est montré sur la figure 15.

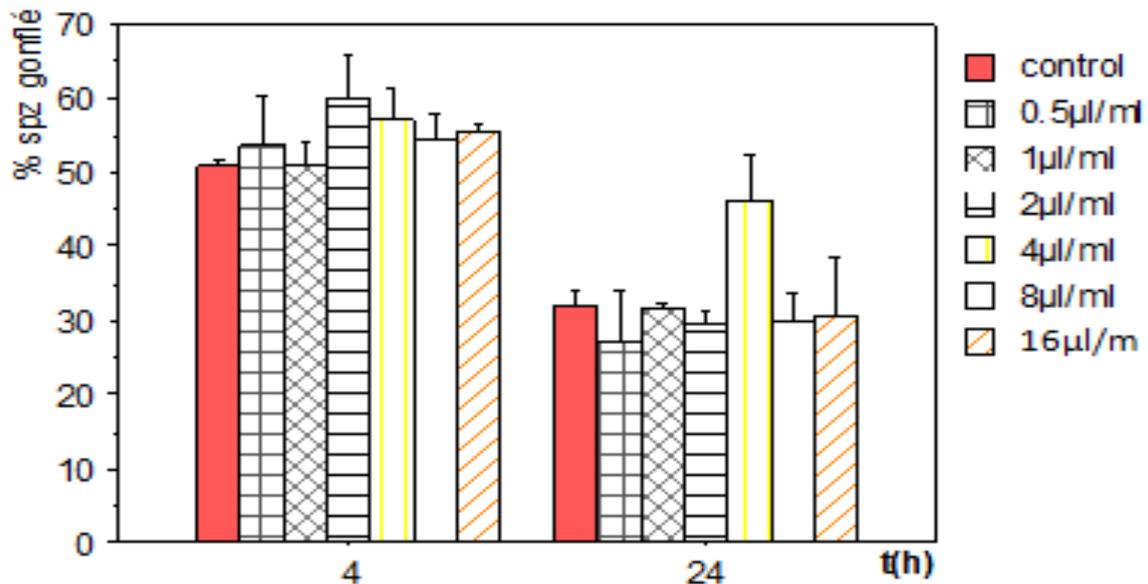


Figure 16 : Histogramme représentant le pourcentage de spermatozoïdes conservés à 4°C dans différentes concentrations de l'HE de l'armoise en fonction du temps.

Les résultats montrent qu'à t4 il n'existe pas de grandes différences entre les différents traitements. Après 24h de conservation, seule la concentration de 4 µg/ml fournit la meilleure protection de la membrane cytoplasmique.

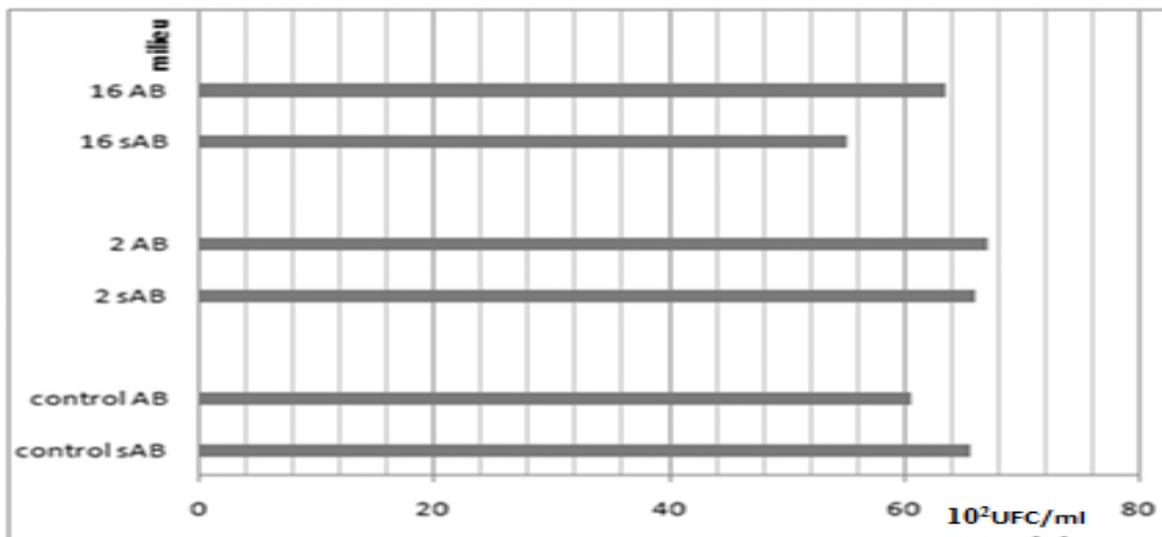
Cet effet protecteur n'est pas rapporté antérieurement car utilisant des concentrations plus importantes que les nôtres. En effet (Paul & Kang., 2010, 2011) et Chikhouné et al., (2015) ont rapporté des effets altérant la cellule spermatique en utilisant respectivement les huiles essentielles de l'Ajowan (*Trachyspermum ammi*) et du Thymus *munbyanus*.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 5. Effet antibactérien

Dans cette étude nous avons testé l'effet antibactérien de l'HE de l'*Artemisia herba alba* dans les milieux de conservation, par le dénombrement de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT).

Pour la genèse des résultats on compte l'ensemble des colonies présentes dans les milieux, avec ou sans antibiotique (ATB) après incubation à 37°C pendant 24h. Les résultats de dénombrement sont présentés sur la **Figure 16**.



**Figure 17 : Graphe représentant le nombre de bactéries (UFC/ml) dans les trois échantillons testés : 16 µl/ml, 2 µl/ml et le contrôle avec et sans l'antibiotique (AB, sAB).**

Les résultats montrent que la moindre concentration bactérienne est observée dans la plus grande concentration en l'huile essentielle sans ajout d'antibiotiques (16 sAB) suivi par celle du contrôle avec antibiotique (control AB). Ceci met en évidence le pouvoir antibactérien des huiles de l'armoise blanche. Nous pouvons voir aussi que quand ces huiles sont mélangées avec l'antibiotique la multiplication bactérienne augmente. Ceci témoigne probablement d'une interaction mutuelle avec l'antibiotique avec au final une diminution de l'effet antibactérien.

Face au problème de l'émergence des bactéries multi résistantes aux antibiotiques, le retour à l'utilisation des huiles essentielles semble être une voie prometteuse. Elles provoquent une activité importantes sur les parois bactériennes (Atilia et Djahoudi., 2015) et cette propriété est commune à toutes les huiles essentielles (Fratini et al., 2018).

## ***RESULTATS ET DISCUSSION***

Les résultats de notre travail, bien que préliminaires, montrent que les huiles essentielles de l'armoise blanche présentent un réel potentiel dans la conservation du sperme à 4°C en luttant contre le stress oxydatif et en inhibant le développement bactérien.

## ***CONCLUSION ET PERSPECTIVE***

Le présent travail dédié à l'étude de l'intérêt des huiles essentielles d'*Artémisia herba alba* dans la conservation du sperme du bélier à 4°C en utilisant le sperme épидидymaire. Trois paramètres indicateurs de la qualité de la semence sont mesurés : mobilité et l'intégrité membranaires des spermatozoïdes et le développement bactérien.

Les résultats ont fait ressortir une augmentation de la mobilité spermatique qui reste maintenue jusqu'à 96h avec une protection de l'intégrité membranaire notamment avec la concentration de 4 µl/ml en HE. Les concentrations intermédiaires sont celle qui ont montré le plus d'efficacité pour la préservation de la mobilité. Les plus faibles concentrations sont celles qui ont présenté le plus de similitude avec le contrôle, témoignant ainsi qu'aucun effet n'est opéré. Les plus grandes concentrations ont induit un effet inhibiteur comparativement au contrôle, signifiant, notamment à la fin de la période de conservation. Un effet antibactérien à la concentration de 16 µl/ml d'HE fait ressortir l'intérêt des huiles essentielles dans la protection contre le développement des germes, en plus de l'effet antioxydant.

Des perspectives intéressantes s'ouvrent à la lumière des résultats du présent travail, elles pourront concerner une meilleure optimisation les plus efficaces avec une meilleure investigation des effets antibactériens. Enfin, la recherche des molécules individuelles actives de l'huile essentielle de l'armoise blanche pourrait constituer une alternative à l'utilisation de l'huile totale.

## Références bibliographiques

- Abdollahi, M., Salehnia, A., Mortazavi, S. H. R., Ebrahimi, M., Shafiee, A., Fouladian, F., ... Kazemi, A. (2003). Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of *Satureja Khuzestanica* in rat in vivo: a oxicopharmacological study. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 9(9), BR331-R335. <https://doi.org/3991> [pii]
- Abu-Darwish, M. S., Cabral, C., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Efferth, T., & Salgueiro, L. (2015). *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses. *Journal of Ethnopharmacology*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.005>
- Affonso, C. R. G., Fernandes, R. M., De Oliveira, J. M. G., De Carvalho E Martins, M. D. C., De Lima, S. G., De Sousa Júnior, G. R., ... Zanini, S. F. (2012). Effects of the essential oil from fruits of *Schinus terebinthifolius raddi* (Anacardiaceae) on reproductive functions in male rats. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(1), 180–185. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000100025>
- Akrout, A. (2004). Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata ( Tunisie ). *Cahiers Options Méditerranéennes*, 62(January 2004), 289–292.
- Atailia, I., & Djahoudi, A. (2015). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de géranium rosat ( *Pelargonium graveolens* L' Hér .) cultivé en Algérie. *Phytothérapie, AROMATHÉRAPIE EXPÉRIMENTALE*, 13, 156–162. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0950-2>
- Aziz, A. T., Alshehri, M. A., Panneerselvam, C., Murugan, K., Trivedi, S., Mahyoub, J. A., ... Benelli, G. (2018). The desert wormwood (*Artemisia herba-alba*) – From Arabian folk medicine to a source of green and effective nanoinsecticides against mosquito vectors. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180(2017), 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.012>
- Baril G., Chemineau P., Cognie Y., Guerin Y., Leboeuf B., Orgeur P., V. J. C. (1993). *Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et caprins*.
- Ben Ali, H., Atig, F., Mehri, S., Saad, A., & Ajina, M. (2012). Analyse du statut oxydatif spermatique chez des patients infertiles. *Andrologie*, 22(4), 233–240. <https://doi.org/10.1007/s12610-012-0198-8>
- Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., & Kaloustian, J. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytotherapie*, 8(5), 277–281. <https://doi.org/10.1007/s10298-010-0576-3>
- Bossokpi, I. P. L. (2002). *Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae)*.
- Bourgou, S., Bettaieb Rebey, I., Mkadmini, K., Isoda, H., Ksouri, R., & Ksouri, W. M. (2017). LC-ESI-TOF-MS and GC-MS profiling of *Artemisia herba-alba* and evaluation of its bioactive properties. *Food Research International*, 99(February), 702–712. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.009>
- Chikhoun, A., Stouvenel, L., Iguer-Ouada, M., Hazzit, M., Schmitt, A., Lorès, P., ... Touré, A. (2015). In-vitro effects of *Thymus munbyanus* essential oil and thymol on human sperm motility and function. *Reproductive BioMedicine Online*, 31(3), 411–420.

<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.06.011>

- Christian, M. (2009). La reproduction des ovins, des caprins et des chameaux cas de la zone tropicale, 1–42.
- Colette, B. (2008). *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées* To cite this version : HAL Id : tel-00399135. UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE.
- DAVID, A. S. (2006). *Conditions de développement de l'insémination artificielle dans les élevages petits ruminants du Nordeste du Brésil :*
- David, I. (2008). *Genetic analysis and models for semen production and artificial insemination result in sheep.*
- Decuadro-Hansen, G. (2004). La réfrigération et la congélation du sperme : expérience chez l'animal Chilled and frozen semen : the animal experience. *Journée Thématique de La SFEF*, 32, 887–893. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2004.09.003>
- Druart, X., Guérin, Y., Gatti, J.-L., & Dacheux, J.-L. (2009). Conservation of ovine semen | Conservation de la semence ovine. *Productions Animales*, 22(2), 91–96.
- Elmi, A., Ventrella, D., Barone, F., Filippini, G., Benvenuti, S., Pisi, A., ... Bacci, M. L. (2017). Thymbra capitata (L.) cav. and rosmarinus officinalis (L.) Essential oils: in vitro effects and toxicity on swine spermatozoa. *Molecules*, 22,2162, 12. <https://doi.org/10.3390/molecules22122162>
- Figueredo, G. (2007). *Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne.* BLAISE PASCAL.
- Fratini, F., Casella, S., Leonardi, M., Pistelli, L., Pistelli, L., Pisseri, F., & Ebani, V. V. (2014). Activité antibactérienne des huiles essentielles , de leurs mélanges et des mélanges de leurs constituants principaux contre certaines souches favorisant la mammite du bétail. *Fitoterapia*, 96, 1–7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.04.003>
- Fratini, F., Casella, S., Pistelli, L., Leonardi, M., Pistelli, L., Pisseri, F., & Ebani, V. V. (2018). Antibacterial activity of essential oils , their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis, 3–5.
- Gainard, A. (2016). *Lavandes et lavandin , utilisation en aromathérapie : enquête auprès des pharmaciens d'officine* To cite this version : HAL Id : dumas-01304457. Université de Bordeaux.
- Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Isamili, M. R., Houti, H., Monfalouti, H. El, ... Harki, L. (2010). Article original la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l' armoise blanche ( Artemisia herba-alba ) de la région de Guerçif ( Maroc oriental ). *Phytothérapie*, 8, 295–296. <https://doi.org/10.1007/s10298-010-0578-1>
- Grignard, E. (2005). Analyse de protéines spermatiques post-testiculaires, et développement d'outils pour le contrôle de la fertilité de différents mammifères ; Equus caballus, Bos taurus, Arvicola terrestris Scherman Jury.
- Guérin, Y., Locatelli, Y., Comizolli, P., Mauget, R., Mermillod, P., Legendre, X., ... Dacheux, J.-L. (2003). Conservation et utilisation du sperme épидидymaire d'ovins et de cervidés en insémination artificielle et fécondation in vitro. *Les Actes Du BRG*, 4(OCTOBER), 173–183.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3),

345–391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>

- Gupta, R. S. et, & Sharma, R. (2006). A review on medicinal plants exhibiting antifertility activity in males. *Natural Product Radiance*, 5(5), 389–410.
- Hadj-Seyd, A., Kemassi, A., Hadj Kouider, Y., & Harma, A. (2016). Traitement de l'infertilité : plantes spontanées du Sahara septentrional. *Phytothérapie*, 14(4), 5. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-1000-9>
- Haeri, S., Minaie, B., Amin, G., Nikfar, S., Khorasani, R., Esmaily, H., ... Abdollahi, M. (2006). Effect of Satureja khuzestanica essential oil on male rat fertility. *Fitoterapia*, 77(7–8), 495–499. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.05.025>
- Hanzen, P. C. (2008). La propédeutique de l' appareil reproducteur et l' examen du sperme des ruminants . Année 2007-2008, 1–21.
- Hanzen, P. C. (2009). *La propédeutique de l' appareil reproducteur et l' examen du sperme des ruminants* .
- Hanzen, P. C. (2010). L' insémination artificielle chez les ruminants , 1–15.
- Hatimi, S., Boudouma, M., Bichichi, M., Chaib, N., & Idrissi, N. (2001). In vitro evaluation of antileishmania activity of Artemisia herba alba Asso. *Bull Soc Pathol Exot*, 94(1), 29–31.
- Irola, M., & Ann, E. (2010). *PARASITOSSES DIGESTIVES DES ÉQUIDÉS Synthèse bibliographique et conclusions de la réunion d' experts organisée par l' AVEF. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT* Année.
- Jeyendran, R.-S., Van Der Ven, H.-H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B.-G., & Zaneveld, L.-J.-D. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics.
- Jumeau, F. (2015). Caractérisation du protéome du spermatozoïde humain To cite this version : HAL Id : tel-01144470, 250.
- Kabera, F. (2008). APPRECIATION DE LA QUALITE DE LA SEMENCE BOVINE PRODUITE AU CENTRE NATIONAL D' AMELIORATION GENETIQUE ( CNAG ) DE DAHRA AU SENEGAL MEMOIRE DE DIPLOME D' ETUDES Fidèle KABERA, 42.
- KEHAL Farida. (2013). *Utilisation de l' huile essentielle de Citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche. Mémoire de diplôme de Magister*. Constantine 1 , Algerie.
- Lakusić, B., Lakusić, D., Ristić, M., Marcetic, M., & Slavkovská, V. (2014). Seasonal variations in the composition of the essential oils of Lavandula angustifolia (Lamiaceae). *Nat Prod Commun*, 9(6), 859–862.
- LUSIGNAN, M.-F. (2011). Étude Du Mécanisme De Protection Des Spermatozoïdes De Mammifères Par Le Lait, 186.
- Martínez, H. R. (2003). Laboratory semen assessment and prediction of fertility: Still Utopia? *Reproduction in Domestic Animals*, 38(4), 312–318. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00436.x>
- Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrouf, A., Najjaa, H., & Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia herba-alba essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3), 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2009.09.008>

- Mocé, E., & Vicente, J. S. (2009). Rabbit sperm cryopreservation : A review. *Journal Homepage: Www.elsevier.com/locate/anireprosci Review*, 110, 1–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.08.015>
- Mohamed M I, A., Titouche, A., & Hazzit, M. (2011). Effet de l'irradiation Gamma sur les activités antioxydantes et antifongiques et sur le rendement en extraits volatils de l'Artemisia herba alba Asso. In *12èmes Journées Internationales des Sciences Vétérinaires* (Vol. 43, p. 29). Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=lls&AN=85325104&site=ehost-live>
- Moufid, A., & Eddouks, M. (2012). Artemisia herba alba: A Popular Plant with potential Properties. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(24), 1152–1159.
- Ngoula, F., Guemdjo, T. M., Kenfack, A., Tadondjou Tchingo, C. D., Nouboudem, S., Ngoumtsop, H., ... Tchoumboue, J. (2017). Effects of heat stress on some reproductive parameters of male cavia (Cavia porcellus) and mitigation strategies using guava (Psidium guajava) leaves essential oil. *Journal of Thermal Biology*, 20. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.01.001>
- Paul, S., & Kang, S. C. (2010). Studies on the viability and membrane integrity of human spermatozoa treated with essential oil of Trachyspermum ammi (L.) Sprague ex Turrill fruit. *Andrologia*, 44(SUPPL.1), 117–125. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2010.01148.x>
- Paul, S., & Kang, S. C. (2011). In vitro determination of the contraceptive spermicidal activity of essential oil of Trachyspermum ammi (L.) Sprague ex Turrill fruits. *New Biotechnology*, 28(6), 684–690. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.02.008>
- Pierre, J., & Serres, C. (1995). Mouvement normal et pathologique du spermatozoïde humain, 555–562.
- Ponthier, J., van den Berghe, F., Parrilla Hernandez, S., Hanzen, C., & Deleuze, S. (2014). Congélation de sperme dans l'espèce équine: état des lieux et perspectives. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 159(1), 56–71.
- Quinn, P. J. ., Carter, M. E., & Carter, G. R. (1994). Clinical Veterinary Microbiology. *Carter Wolfe Publishing*, 18, 648.
- Rafiq, R., Hayek, S. A., Anyanwu, U., Hardy, B. I., Giddings, V. L., Ibrahim, S. A., ... Kang, H. W. (2016). Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Artemisia herba-alba Asso., Pelargonium capitatum ^ radens and Laurus nobilis L. *Food and Nutritional Sciences*, 5,28, 12. <https://doi.org/10.3390/foods5020028>
- Rassem, H. H. A. ., Nour, A. H., & Yunus, R. M. (2016). Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants : A Review. *AUSTRALIAN JOURNAL OF BASIC AND APPLIED SCIENCES*, 10(6), 117–127.
- Rezvanfar, M. A., Sadrkhanlou, R. A., Ahmadi, A., Shojaei-Sadee, H., Rezvanfar, M. A., Mohammadirad, A., ... Abdollahi, M. (2008). Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; Evidence for role of free-radical toxic stress. *Human and Experimental Toxicology*. <https://doi.org/10.1177/0960327108102046>
- Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., ... Sokmen, A. (2004). Activités Antioxydantes , Antimicrobiennes et Antivirales In Vitro de Cultures d â€™ Origanum acutidens. *Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3.

Touazi, L., Aberkane, B., Bellik, Y., Moula, N., & M, I.-O. (2018). Effect of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* ( L .) on rooster sperm motility during 4 ° C short-term storage motility during 4 ° C short-term storage. *Veterinary World*, *11*(5), 590–597. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.590-597>

Wikipédia. (2018).

«[https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Armoise\\_herbe\\_blanche&oldid=144574662](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Armoise_herbe_blanche&oldid=144574662)».

Wilson, M. (2010). *Huiles essentielles, Pour la cuisine et le bien-être. Techniques de l'ingénieur Constantes chimiques*.

Younsi., F., Mehdi, S., Aissia, O., Rahalia, N., Jaouadia, R., Boussaida, M., & Messaouda, C. (2017). Paper reduction using scs-slm technique in stfbc mimo-ofdm. *ARP Journal of Engineering and Applied Sciences*, *12*(10), 3218–3221. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>

## Résumé

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les effets protecteurs de l'huile essentielle (HE) de l'*Artemesia herba alba* lors de la conservation du sperme du bélier à 4°C. Trois paramètres indicateurs de la qualité du sperme sont mesurés : la mobilité évaluée par l'analyse informatique (CASA), l'intégrité membranaire analysée par le test hypo-osmotique (HOST) et le développement bactérien. Six (06) concentrations de l'HE ont été testées, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 µl/ml. Les résultats ont montré un effet protecteur de la mobilité avec les concentrations intermédiaires, les concentrations les plus faibles n'ont montré aucun effet mais les plus grandes ont exprimé un effet inhibiteur de la mobilité, notamment à la fin de la période de conservation. La concentration de 4 µl/ml est celle qui a exprimé le plus de protection de l'intégrité membranaire. Le plus faible développement bactérien est observé à la concentration de 16 µl/ml. L'huile essentielle de l'armoise blanche semble offrir un réel potentiel dans la conservation du sperme de bélier à 4°C.

**Mots clé :** Sperme, Huile Essentielle, *Artemesia herba halba*, Conservation.

## Abstract

The objective of the present study is to evaluate the protective effects of the essential oil (EO) of *Artemesia herba alba* during the conservation of the sperm of the ram at 4 ° C. Three parameters indicating sperm quality are measured: mobility assessed by computer analysis (CASA), membrane integrity analyzed by the hypo-osmotic test (HOST) and bacterial development. Six (06) concentrations of the HE were tested, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 µl / ml. The results showed a protective effect of mobility with intermediate concentrations, the lowest concentrations showed no effect but the largest ones expressed an inhibitory effect on mobility, especially at the end of the storage period. The concentration of 4 µl / ml is the one that expressed the most protection of the membrane integrity. The lowest bacterial growth is observed at a concentration of 16 µl / ml. The essential oil of white mugwort seems to offer a real potential in the conservation of the sperm of the ram at 4°C.

**Key words:** Sperm, Essential Oil, *Artemesia herba halba*, Conservation.