

CHAPITRE II :

MIGRATION DES GAMETES DANS LES VOIES GENITALES FEMELLES ET FECONDATION

La fécondation est la fusion d'un gamète mâle et d'un gamète femelle, donnant naissance à l'œuf, cellule à $2n$ chromosomes, réunion des matériels génétiques paternel et maternel. Elle a normalement lieu dans l'ampoule de l'oviducte que l'ovocyte atteint quelques heures après l'ovulation. Sa réalisation nécessite :

1. La mise en place des gamètes mâles dans l'appareil génital femelle par saillie ou insémination artificielle ;
2. La rencontre de gamètes de bonne qualité : ovocytes aptes à être fécondés, spermatozoïdes dont le pouvoir fécondant est intact, ce qui suppose un déplacement des spermatozoïdes du lieu de départ au lieu de fécondation réalisé dans des délais compatibles avec le maintien de leur pouvoir fécondant.

La fécondation a lieu dans le tiers supérieur de la trompe. Les spermatozoïdes doivent effectuer « un véritable parcours du combattant » pour pouvoir féconder l'ovocyte. Ils doivent :

1. D'abord traverser le col de l'utérus,
2. Être transportés de l'utérus à l'oviducte,
3. Subir une capacitation puis fusionner à l'ovocyte,
4. Subir la réaction d'acrosome,
5. Enfin, rompre la zone pellucide et fusionner avec la membrane plasmique de l'ovocyte.

Après fusion avec la membrane plasmique, le spermatozoïde fécondant entre dans le cytoplasme de l'ovocyte et son noyau se décondense. Le pronucléus mâle est formé. Ceci signifie que la **fécondation** est réussie.

1. Moment de l'insémination

L'ovulation survient 12 à 13 heures après la fin des chaleurs chez la vache. L'ovule peut survivre 6 à 8 heures.

De leur côté, les spermatozoïdes ont un délai de survie de 24 heures à compter de leur dépôt dans l'appareil génital femelle.

Leur remontée jusqu'à l'oviducte prend environ 12 heures. Il est donc nécessaire d'inséminer dans le dernier tiers des chaleurs.

Tableau 1 : Transit des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles et moment de l'ovulation

En heures	Spermatozoïdes		Ovules	
	Temps de déplacement chez la femelle	Maintien du pouvoir fécondant femelle	Moment ovulation/chaleurs	Maintien aptitude à être fécondés
Bovins	10 à 12	30 à 48	6 à 19 h après la fin	8 à 24
Ovins	9	30 à 48	32 h après le début	16 à 24
Equins	-	144	36 à 48 h avant la fin	6 à 8

2. Migration des gamètes femelles

Au moment de l'ovulation, les ovocytes sont captés par l'infundibulum. Grâce aux mouvements des cils des cellules de l'épithélium et aux contractions péristaltiques, ils s'engagent dans l'oviducte, progressent vers le lieu de la fécondation.

3. Migration des spermatozoïdes

3.1. Trajet des spermatozoïdes

Après le dépôt de sperme pendant la copulation, les spermatozoïdes sont exposés à une série de différents environnements qui modifient considérablement leur nombre et leur fonction. Le sperme introduit dans le vagin va subir une première sélection. Elle se produit lors de la traversé du col de l'utérus où se trouve une substance muqueuse jouant le rôle de filtre : **la glaire cervicale**. Cette glaire, sous l'influence d'œstrogènes va voir évoluer sa structure qui est plus ou moins dense suivant le cycle. En phase ovulatoire, la glaire a une structure très lâche et permet aux spermatozoïdes mobiles

de traverser. En phase folliculaire et lutéiques, les filaments de la glaire sont très denses et rendent quasiment impossible la pénétration des spermatozoïdes.

Ce réseau permet également :

- d'éliminer les spermatozoïdes anormaux ou immobiles,
- de constituer un refuge pour beaucoup de spermatozoïdes qui peuvent y survivre quelques jours,
- d'éliminer le liquide séminal et de laver les spermatozoïdes (indispensable pour être fécondant).

Tableau 2 : Rôle des voies génitales femelles

Vagin	<ul style="list-style-type: none"> - Mouvement du pénis - Relâchement brusque de l'utérus - Contraction (chatte, lapine) - Bouchon vaginal (rongeurs)
Col	<ul style="list-style-type: none"> - pH alcalin, mucus orienté (favorable aux spermatozoïdes qui passent par eux-mêmes)
Utérus	<ul style="list-style-type: none"> - Sécrétions favorables - Péristaltisme favorables +++ (ocytocine)
Trompes	<ul style="list-style-type: none"> - Zone défavorable - Anti-péristaltisme - Mouvements sécrétoires et ciliaires défavorables parfois brusques - Mouvements péristaltiques favorables

Le tiers seulement des spermatozoïdes ayant franchi le col parvient jusqu'à l'orifice de la trompe (la jonction salpingo-utérine). Dans la partie basse de ce conduit se produit une nouvelle et importante sélection.

Les spermatozoïdes rescapés progressent rapidement dans la trompe : deux heures après l'éjaculation, près d'un millier d'entre eux sont au niveau supérieur des trompes.

La seule poussée de leur flagelle ne leur permet pas de se déplacer à cette vitesse, d'autres facteurs interviennent :

- Contraction des muscles de l'utérus et des trompes,
- Mouvements des cils vibratiles (les contractions des parois sont provoquées par une hormone : l'ocytocine qui est induite par l'excitation du col).

Après insémination, les spermatozoïdes sont éliminés du tractus génital féminin par **transport rétrograde** et beaucoup sont **phagocytés** par les **leucocytes** dans le tractus génital féminin.

Le degré auquel les spermatozoïdes sont perdus du tractus génital femelle dépend de la nature physique de l'éjaculat et du site du dépôt séminal.

Chez certains animaux (**vache, mouton, lapin, primate, chiens et chats**), le mâle dépose le sperme dans le vagin crânien. Dans d'autres (les chevaux et les camélidés), le sperme est soit déposé directement dans le col (chez le porc) ou est jeté à travers la lumière du col pendant la copulation (chez le cheval).

L'étalon éjacule en « jets ». Les 3 à 4 premiers jets contiennent environ 80 % des spermatozoïdes. Les derniers 5 à 8 jets sont émis en faible pression et contiennent moins de spermatozoïdes. Le plasma séminal des derniers jets est très visqueux, il contribue à réduire la perte rétrograde des spermatozoïdes.

En raison du volume important de l'éjaculat du **verrat** (200 à 400 ml), la plupart de la semence passe à travers le col jusqu'à la cavité utérine. Comme chez l'étalon, le verrat éjacule plusieurs fractions séminales : la première fraction est gélatineuse et contient peu de spermatozoïdes tandis que la seconde est riche en spermatozoïdes. La dernière fraction de sperme éjaculée forme un coagulum qui ressemble au pudding de riz. Ce coagulum de sperme sert à réduire la perte des spermatozoïdes par mouvement rétrograde du col de l'utérus vers la vulve.

Chez le **chien**, l'éjaculat se scinde en trois phases, chacune ayant un rôle précis :

- La première phase, dite fraction **urétrale** ou **présperme** est d'origine prostatique. Son volume est généralement faible (de 0.5 à 5 ml, mais jusqu'à 15 ml sur des grands chiens), cette fraction translucide et acellulaire est éjaculée lors des mouvements saccadés du bassin du mâle. Elle assure la

lubrification des voies génitales femelles, favorisant ainsi la pénétration lors de la saillie.

- La deuxième phase est dite fraction épидидymaire ou sperme, de couleur opalescente. Son volume est compris entre 1 et 4 ml. Cette fraction est riche en spermatozoïdes et représente la fraction véritablement fertilisante. Elle contient 300 millions à 2 milliards de spermatozoïdes.
- La troisième phase est dite fraction prostatique ou post-sperme et représente la plus grosse partie de l'éjaculat, son volume variant de 1 à 80 ml. Cette phase est généralement éjaculée tant que les partenaires restent verrouillés après la saillie (entre 10 et 45 minutes) et joue un rôle de « remplissage » au niveau du vagin de la femelle. Tout en favorisant la remontée des spermatozoïdes dans les voies génitales, son contenu apporte également aux gamètes mâles de nombreux facteurs permettant leur survie et leur fonctionnement.

Le volume de l'éjaculat chez le **chat** fait seulement 0.1 à 0.7 ml, il est donc difficile d'évaluer si l'éjaculat est constitué de plusieurs fractions.

Dans certaines espèces, le plasma séminal contient des protéines coagulantes qui forment un bouchon vaginal pour empêcher les spermatozoïdes de subir un écoulement rétrograde à l'extérieur. **Les rongeurs femelles (souris et rats)** ont **un bouchon vaginal** relativement solide qui est visible à l'extérieur après la copulation. La présence de ce bouchon peut être utilisée pour déterminer le moment de l'accouplement. Les animaux domestiques n'ont pas de bouchon vaginal bien visible.

Les spermatozoïdes sont éliminés du tractus génital femelle par :

- Phagocytose par les neutrophiles.
- Transport rétrograde.

Phagocytose des spermatozoïdes

Lorsque le tractus génital femelle est sous l'influence de l'œstradiol pendant les chaleurs, les neutrophiles séquestrent la muqueuse de l'appareil reproducteur, en particulier dans le vagin et l'utérus. Ces neutrophiles sont prêts à attaquer les corps étrangers qui sont introduits dans le tractus génital à la saillie.

En plus des spermatozoïdes, des micro-organismes sont introduits dans le tractus génital pendant la copulation. Ainsi, la population de neutrophiles est importante pour empêcher ces microorganismes de coloniser le tractus femelle.

D'un point de vue immunologique, les spermatozoïdes sont étrangers à la femelle. En conséquence, les neutrophiles phagocytent activement les spermatozoïdes. Ils ne font pas de discrimination entre le spermatozoïde vivant et mort. En fait, un seul neutrophile est capable de phagocyter plusieurs spermatozoïdes mobiles.

6 à 12 heures après l'introduction des spermatozoïdes dans l'utérus, il y a une grande migration des neutrophiles de la muqueuse utérine dans la lumière utérine. Bien que l'infiltration de leucocytes contribue de façon importante aux pertes de spermatozoïdes après l'insémination, cette infiltration est nécessaire pour la prévention d'infections de l'appareil reproducteur.

Parmi les phénomènes les moins bien compris en physiologie de la reproduction sont les facteurs qui régulent la perte des spermatozoïdes du tractus génital femelle. La capacité de la femelle à retenir les spermatozoïdes viables influe sur la fertilité d'un accouplement donné.

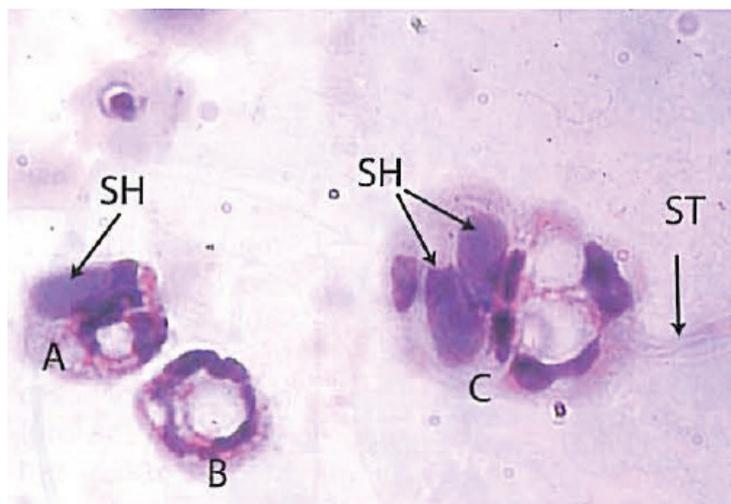


Figure 1 : Trois leucocytes phagocytant les spermatozoïdes (A, B, C). Les têtes de spermatozoïdes peuvent être observées dans le cytoplasme des leucocytes (SH).

Une queue de spermatozoïde (ST) peut être observée (*Saake R.G, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg*)

✚ Perte des spermatozoïdes par mouvement rétrograde

On a supposé à tort depuis des années que la plupart des spermatozoïdes remontent vers l'oviducte peu après leur dépôt dans l'utérus de la vache par insémination artificielle.

Cependant, des études récentes ont montré qu'un pourcentage élevé de spermatozoïdes déposés dans l'utérus de la vache ou de la brebis sont perdus du tractus génital par **mouvement rétrograde**. Chez la plupart des vaches inséminées artificiellement, plus de 60 % des spermatozoïdes sont éliminés du tractus génital femelle dans les 12 heures suivant leur dépôt. Compte tenu de ces résultats, une interprétation logique serait que l'insémination artificielle des spermatozoïdes profondément dans l'utérus se traduirait par une réduction des pertes rétrogrades. Cette hypothèse n'est pas vraie car lorsque les spermatozoïdes sont déposés profondément dans les deux cornes utérines (par opposition au corps utérin), le degré de sperme récupéré du vagin (indication de perte rétrograde) est assez similaire entre les deux sites de dépôt. Cependant, lorsque les spermatozoïdes sont déposés au milieu du col, un degré significativement plus élevé de perte rétrograde des spermatozoïdes est constaté.

Chez les bovins, les spermatozoïdes déposés dans une seule corne utérine subissent un transport intercornual.

C'est-à-dire que lorsque les spermatozoïdes sont déposés dans une corne utérine (droite ou gauche), ils sont ensuite redistribués de sorte que les deux cornes utérines finissent par contenir un nombre important de spermatozoïdes. Ce phénomène se produit également chez les porcins.

En résumé, lorsque l'insémination artificielle est réalisée chez la vache et que le sperme est déposé dans le col, une plus grande proportion de spermatozoïdes est perdue à l'extérieur que lorsque le dépôt se fait au corps de l'utérus. Ainsi, lorsque l'insémination implique un dépôt cervical (une erreur technique grave), la fertilité peut être compromise en raison d'une plus grande perte de spermatozoïdes.

❖ **Phases de transport des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles**

Le transport des spermatozoïdes après la copulation peut être divisé en deux phases : la phase de transport rapide et la phase de transport soutenue.

Quelques minutes après l'accouplement, les spermatozoïdes se retrouvent dans les oviductes. **La phase rapide** du transport était autrefois considérée comme importante car elle livrait les spermatozoïdes au site de fécondation très peu de temps après la copulation, où ils attendaient l'arrivée des ovocytes.

Cependant, d'autres recherches ont montré que les spermatozoïdes arrivant dans les oviductes quelques minutes après la copulation n'étaient pas viables. L'importance fonctionnelle de la phase rapide de transport du sperme n'est pas évidente. Il peut simplement s'agir d'une rafale d'activité de transport provoquée par les contractions de la musculature des voies génitales femelles pendant l'accouplement.

La composante la plus importante du transport des spermatozoïdes dans les voies génitales femelle est la **phase soutenue**. La phase de transport soutenue des spermatozoïdes achemine les spermatozoïdes du col de l'utérus à l'ampoule de l'oviducte d'une manière plus uniforme sur une période de temps soutenue.

Le transport des spermatozoïdes est principalement le résultat d'une augmentation de la tonicité et de la motilité de la musculature des voies génitales femelles.

3.2. La capacitation

Les spermatozoïdes ne sont pas capables de féconder les ovocytes dès leur expulsion dans les voies génitales femelles. Ils n'acquièrent leur pouvoir fécondant qu'après un séjour dans les voies génitales femelles ; ce délai est plus ou moins long :

- Lapine : 11 heures
- Brebis : 2 heures
- Truie : 6 heures

Ce délai correspond à la capacitation. Elle implique l'élimination du facteur chimique de « décapacitation » présent dans le liquide séminal les modifications morphologiques de l'acrosome :

- Des changements membranaires.
- Des changements de mobilité : l'amplitude du battement du flagelle est augmentée, il en résulte un battement de la tête.
- Des changements métaboliques.

Chang avait observé que du sperme de lapin « capacité » perd cette propriété de fertilisation s'il est incubé dans du plasma séminal mais qu'il récupère après mise en contact des sécrétions du tractus génital femelle, de là est née la notion de l'existence d'un facteur de décapacitation dans le plasma séminal et de la nécessité de son élimination pour donner au sperme le pouvoir de fertilisation.

Durant ce transit, les spermatozoïdes sont au contact des sécrétions d'origine femelle. Celles-ci vont permettre la fusion de la membrane plasmique du spermatozoïde et de la membrane externe de l'acrosome.

La capacitation demande au plus 6 à 8 heures et le spermatozoïde peut survivre **plusieurs jours voire plusieurs semaines** dans des sites privilégiés de la **jonction utéro tubaire, isthme.**

Les sécrétions utérines et tubaires possèdent donc une double potentialité : assurer la capacitation tout en permettant une longue survie. Ainsi, la durée de vie des spermatozoïdes dans le tractus génital femelle chez la plupart des mammifères de laboratoire présente de grandes variations entre les espèces : de 6 à 12 heures chez le rat, elle atteint 135 jours chez la chauve-souris.

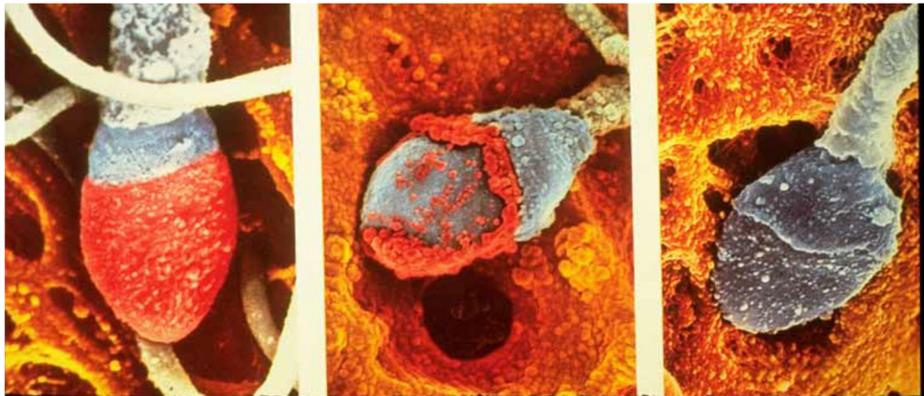


Figure 2 : Capacitation du spermatozoïde

Suite à cette élimination, survient alors la réaction de l'acrosome qui aboutit à la libération et à l'activation d'enzymes de l'acrosome telles que l'acrosine et une enzyme analogue à la neuraminidase qui vont permettre la pénétration de la corona radiata et de la zone pellucide. Cette modification de la membrane acrosomique se produit en plusieurs étapes : **vésiculation, apparition de pertuis et finalement disparition de la membrane.**

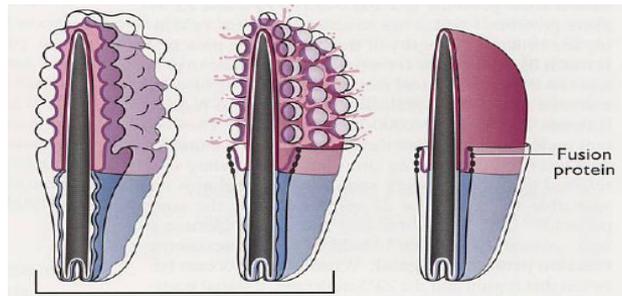


Figure 3 : Illustration de la réaction d'acrosome

La capacitation et la réaction acrosomique vont de pair avec l'augmentation de l'activité métabolique du spermatozoïde.

3.3. Sécrétions utérines lors de la remontée des spermatozoïdes

La sécrétion utérine doit dans un premier temps participer au lavage et au conditionnement du spermatozoïde qui a séjourné pendant un temps parfois long dans un environnement qui est le produit des sécrétions testiculaires et des glandes annexes, fortement inhibitrices de son métabolisme (le plasma séminal).

Le volume des sécrétions utérines est maximal au moment de l'œstrus (quelques ml). La composition chimique résulte de l'activité sécrétrice de **l'épithélium endométrial** et de la **filtration de composés sériques**. Il ne semble pas y avoir de synthèses de protéines spécifiques à rôle clairement défini, lors de la remontée des spermatozoïdes dans l'utérus. L'équipement enzymatique du fluide utérin est très complet.

Les enzymes protéolytiques présentes aident sans doute à l'élimination des composés de surface du spermatozoïde, préparant ainsi le processus de capacitation. Les estérases et les osidases peuvent permettre une fourniture permanente de composés de faible poids moléculaire, directement assimilables par le spermatozoïde. Le volume de liquide, relativement important, associé à son mouvement de va et vient, sous l'effet des contractions, augmente l'efficacité des actions enzymatiques.

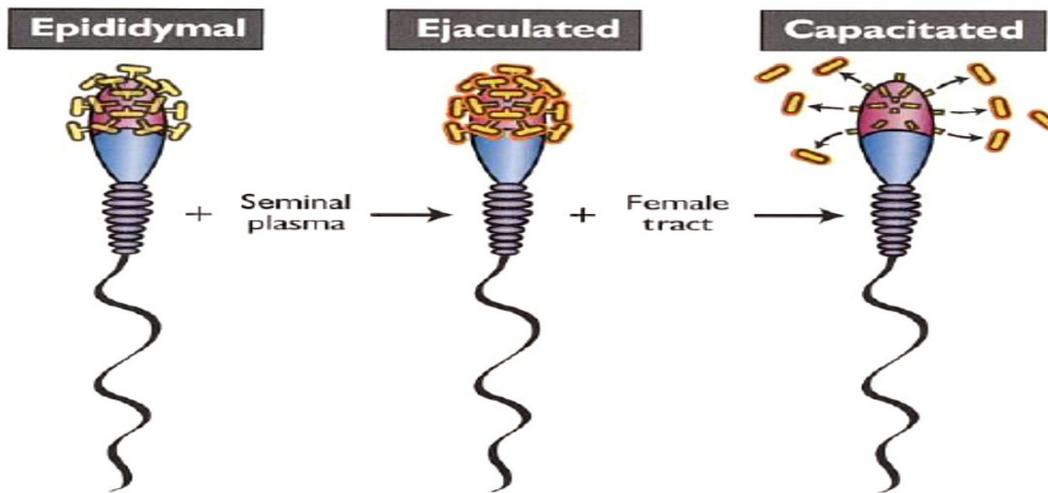


Figure 4 : Capacitation du spermatozoïde : élimination des composés de surface du spermatozoïde au contact avec les sécrétions utérines

3.4. Viabilité et durée de la capacité fertilisante des spermatozoïdes

Chez la vache, la durée de fertilisation du gamète mâle serait d'environ 24 heures ; dans cette espèce, la fertilité est optimum lors de saillie ou d'insémination artificielle. Réalisée 13 à 19 heures avant l'ovulation (85 %), elle tombe à 57 % si la saillie a lieu 6 heures avant l'ovulation et elle se réduit à 30 % quand le rapprochement sexuel a lieu 2 heures ou moins avant l'ovulation.

Le nombre de spermatozoïdes atteignant l'endroit de fertilisation est extrêmement faible par rapport à leur nombre dans l'éjaculat. Ce phénomène a entre autres effets de prévenir la possibilité de polyspermie et dès lors d'un développement anormal de l'œuf.

Il est important de retenir que, pour assurer une bonne fécondation chez les femelles domestiques, il faut s'en tenir 24 heures comme durée moyenne de maintien de la capacité fertilisante du sperme dans les voies génitales femelles. On a cependant signalé des durées de 30 heures chez la vache, et la brebis, de 24 à 48 heures chez la truie et de 144 heures chez la jument.

Tableau 3 : Durée de fécondance, de motilité des spermatozoïdes et durée de fécondabilité des ovules dans les voies génitales femelles

Espèce	Spermatozoïdes		Ovules	
	Durée de fécondance (heures)	Durée de motilité (heures)	Durée de transit à travers l'oviducte (heures)	Durée de fécondabilité (heures)
Vache	30 – 48	70 – 90	90	8 – 24
Jument	72 – 144	144	98	6 – 24
Brebis	30 – 48	48 – 80	72	10 – 24
Chienne	20 – 40	268	168	24 – 192
Chatte	50	120	148	/
Lapine	30 – 40	30 – 45	60	4 – 10
Rate	12 – 14	17	96	7 – 14
Souris	6 – 12	13	72	6 – 18
Macaque	/	/	96	23

4. Fusion des gamètes : la fécondation proprement dite

Elle aboutit à la formation de l'œuf, cellule à $2n$ chromosomes qui subit très rapidement une première division cellulaire conduisant à deux cellules filles, première étape de la vie du produit de la conception. Au cours du déroulement de la fécondation, on peut distinguer plusieurs stades caractéristiques :

4.1. Le piégeage des spermatozoïdes et la traversée des enveloppes de l'ovocyte

Le gamète femelle et la masse visqueuse qui l'entoure, obstruent le fin canal de la trompe. Les spermatozoïdes qui remontent la trompe sont piégés. De plus, les spermatozoïdes sont attirés par l'ovocyte qui émet des hormones : **les fertilisines**.

L'un des spermatozoïdes va toucher la membrane pellucide et le désagréger par l'intermédiaire d'une enzyme « **la hyaluronidase** » qui est contenu dans son acrosome et sous une poussée de son flagelle arrive au contact de la membrane plasmique de l'ovocyte.

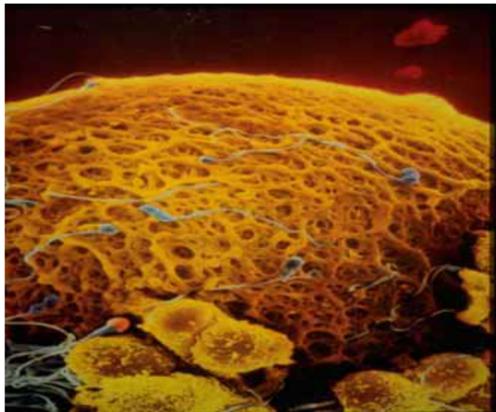


Figure 5 : Piégeage des spermatozoïdes

4.2. L'entrée du spermatozoïde et la réaction corticale

Le spermatozoïde s'accôle tangentiellement à l'ovocyte. La membrane plasmique de celui-ci fusionne avec la membrane qui subsiste en arrière de l'acrosome. Le spermatozoïde alors débarrassé de son flagelle s'enfonce.



Figure 6 : Entrée du spermatozoïde et la réaction corticale

4.3. Formation d'une membrane de fécondation

Au début de la pénétration du spermatozoïde, de minuscules granules de la zone périphérique du cytoplasme ovulaire libèrent leur contenu. Le matériel ainsi rejeté permet la constitution d'une membrane de fécondation qui se soulève au-dessus de l'ovule empêchant ce dernier d'être pénétré par des spermatozoïdes surnuméraires.

Il s'agit donc d'un mécanisme de protection contre la **polyspermie**. Il y a reprise de la division de la méiose (l'ovocyte II est bloqué au stade métaphase de la deuxième division méiotique depuis l'ovulation) puis émission du deuxième globule polaire.

4.4. Fusion des noyaux

Le noyau de l'ovocyte devenu ovule se réhydrate et gonfle : le pronucléus femelle. Après une rotation de 180°, la tête du spermatozoïde s'arrondit et augmente considérablement de volume en se réhydratant : il devient le pronucléus mâle. Les deux pronucléi se rapprochent l'un de l'autre vers le centre de l'ovule, il y a dissolution des membranes, fusion des différents lots haploïdes de chromosomes, formation d'une nouvelle membrane nucléaire : c'est **l'amphimixie**. Dans ce noyau, diploïde, apparaissent les chromosomes qui décrivent très rapidement les transformations caractéristiques de la première mitose de segmentation.

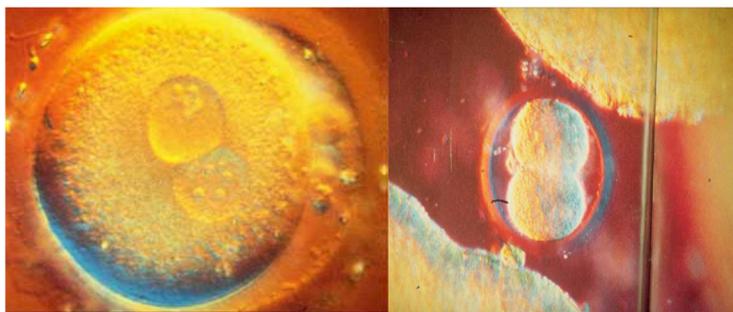


Figure 7 : Fusion des deux noyaux

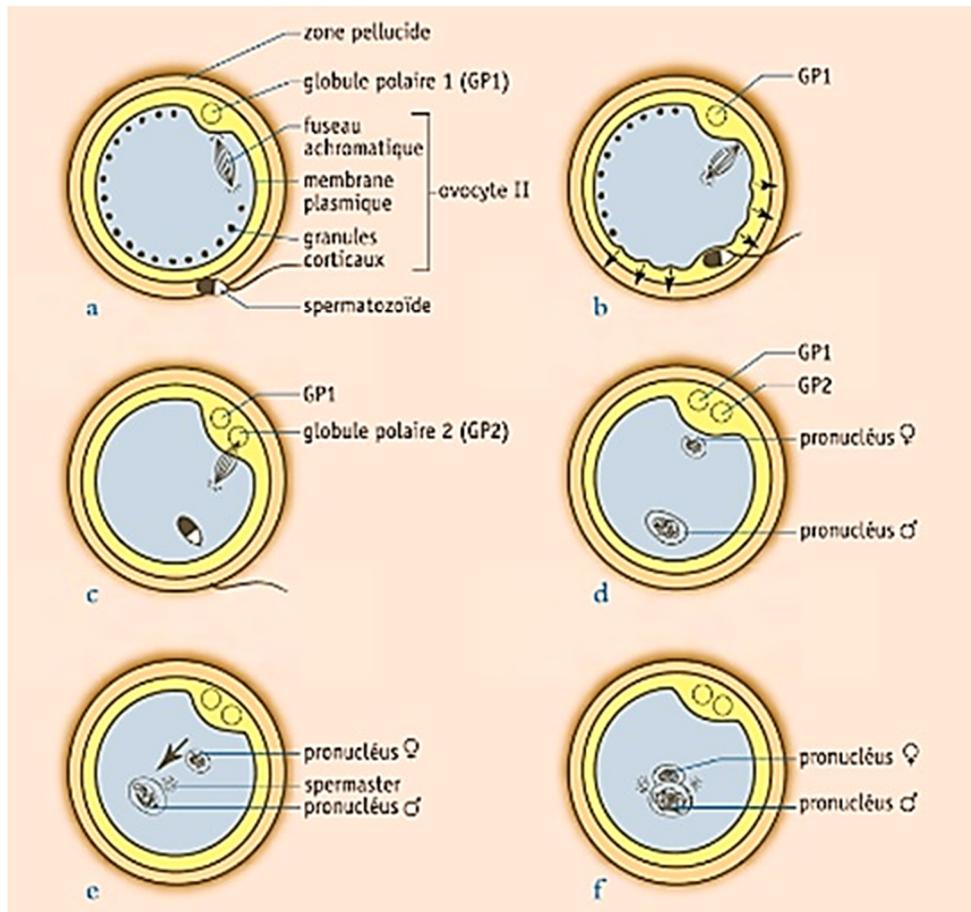


Figure 8 : Les stades de la fécondation

(Reproduction des animaux d'élevage, Educagri, 3^{ème} édition, 2013)

Au cours du déroulement de la fécondation, on peut distinguer plusieurs stades caractéristiques. Chez la brebis, la vache, la truie, la couronne radiée se désagrège rapidement dans l'oviducte. Pour atteindre l'ovocyte II, le spermatozoïde ne doit donc franchir que la zone pellucide, sous l'action de la poussée du flagelle et grâce à l'action de la hyaluronidase acosmique qui dissout l'acide hyaluronique de la zone pellucide (a). Lorsque le spermatozoïde atteint l'ovocyte, l'acrosome a totalement disparu et il ne reste à la surface de son noyau qu'une mince membrane plasmique.

Le spermatozoïde entre en contact avec l'ovocyte II. Les membranes plasmiques des deux gamètes fusionnent. Ce phénomène déclenche l'activation de l'ovocyte II jusqu'à bloqué au stade métaphase de la deuxième division de la méiose.

Des granules corticaux présents dans le cytoplasme de l'ovocyte fusionnent avec la membrane et libèrent leur contenu dans l'espace périvitellin. Il en résulte un blocage

de la pénétration de spermatozoïdes surnuméraires (b). L'ovocyte II achève la deuxième division, il y a émission du deuxième globule polaire (c).

La tête du spermatozoïde pénètre dans le cytoplasme du gamète femelle et gonfle, formant le pronucléus mâle. La pièce intermédiaire et le centriole proximal pénètrent également, mais se détachent du pronucléus mâle. La queue reste en général à l'extérieur (c).

Le noyau femelle gonfle, formant un pronucléus femelle (d).

Le centriole du spermatozoïde s'organise en un demi-fuseau de division, appelé spermastère, qui attire le pronucléus femelle. Les deux pronucléi se rapprochent tandis que leur ADN se duplique (e).

Les deux pronucléi s'accolent (f). Le stade œuf est atteint ; il entre très rapidement en division. Il s'est écoulé depuis la mise en contact du spermatozoïde avec la zone pellucide : 10 à 12 heures chez le lapin, 16 à 18 heures chez le mouton, 20 à 24 heures chez le bovin.