

EFFET DU « LAVAGE » SUR LA CONSERVATION DES SPERMATOZOÏDES DE BOUC A BASSE TEMPÉRATURE

J. M. CORTEEL

avec la collaboration technique de G. BARIL

*Station de Recherches sur la Physiologie de la Reproduction,
Centre de Recherches de Tours, I. N. R. A.,
Nouzilly, 37380 Monnaie, B. P. 1*

RÉSUMÉ

Dans une proportion non négligeable d'éjaculats de bouc congelés, le pourcentage de spermatozoïdes réanimés au dégel diminue avec le temps de conservation dans l'azote liquide. Cette diminution a été estimée à 16,3 p. 100 et 22 p. 100 pour des durées de conservation de 3-90 jours et de 91-180 jours. Lorsqu'on lave les spermatozoïdes avant de les diluer et de les congeler, cette diminution est annulée pour les conservations de 3-90 jours et réduite à 1,3 p. 100 seulement pour celles de 91-180 jours.

INTRODUCTION

La congélation du sperme de bouc a déjà été réalisée et la fécondation obtenue avec les spermatozoïdes dégelés et réanimés (WAIDE et NIWA, 1961 ; BONFERT, 1965 ; HAHN, 1969 ; CORTEEL, *et al.*, 1972). Cependant, la proportion des éjaculats qui donnent de bons résultats de fécondation après congélation est faible et dans certains d'entre eux le pourcentage de spermatozoïdes réanimés au dégel diminue avec le temps de conservation dans l'azote liquide. Cette proportion a pu être améliorée en lavant et centrifugeant les spermatozoïdes avant de les diluer dans un milieu de conservation adapté (CORTEEL, 1974, 1975). Dans ce travail, nous avons cherché à savoir si l'effet bénéfique du lavage des spermatozoïdes portait aussi sur leur conservation à l'état congelé.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

1. — *Éjaculats dilués sans lavage préalable*

Immédiatement après la récolte, les éjaculats sont dilués à 30°C dans du lait de vache écrémé reconstitué contenant 0,05 M de glucose. La dilution est telle que chaque ml de semence contient 1×10^9 spermatozoïdes. Les éjaculats sont alors refroidis à + 4°C puis glycérolés par l'adjonction d'un volume égal du même dilueur contenant en plus 14 p. 100 de glycérol. Après trois heures d'équilibration, la semence est répartie dans des paillettes de 0,2 ml et congelée dans les vapeurs d'azote. Dégelée 24 à 48 heures plus tard à 37°C, elle est rediluée au 1/5 dans le dilueur de congélation de façon à réduire la concentration à 100×10^6 spz/ml. Elle est examinée au microscope à contraste de phase pour estimation immédiate du pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Cet examen est répété après des temps de conservation variant de 3 à 180 jours.

2. — *Éjaculats lavés*

Dès la récolte, les éjaculats sont lavés deux fois dans une solution de Krebs-Ringer-phosphate-glucose et centrifugés à 20°C et 700 g ; le surnageant est éliminé. Au terme de la seconde centrifugation, les spermatozoïdes sont dilués à la même concentration et traités de la même manière que ceux des éjaculats non lavés.

3. — *Expression des résultats*

La diminution du taux de spermatozoïdes mobiles au cours de la conservation est exprimée en pour cent par rapport au taux de spermatozoïdes mobiles observé 24 à 48 heures après la congélation considéré comme le taux initial de réviviscence. La proportion d'éjaculats inutilisables est calculée sur ceux dont le pourcentage de spermatozoïdes estimés mobiles au dégel devient inférieur à 33 p. 100.

RÉSULTATS

N'ont été conservés pour l'expérience que les éjaculats qui présentaient de 33 à 66 p. 100 de spermatozoïdes mobiles 24 à 48 heures après congélation soit 51 et 27 éjaculats avec des moyennes respectives de 44,4 et 43,7 p. 100 pour les éjaculats non lavés et lavés.

La diminution du taux de spermatozoïdes mobiles pendant la conservation est indiquée au tableau 1 et la proportion d'éjaculats qui deviennent inutilisables au tableau 2.

TABLEAU 1

Diminution (en p. 100) du taux initial de spermatozoïdes mobiles en fonction de la durée de conservation de la semence et de la technique de congélation () : nombre d'éjaculats examinés

Taux initiaux (%) de spermatozoïdes estimés mobiles 1 à 2 jours après congélation		Durées de conservation (jours)	Diminution du taux de spz mobiles dans les éjaculats non lavés	Diminution du taux de spz mobiles dans les éjaculats lavés
Éjaculats non lavés	Éjaculats lavés			
42,7 (19)	38,9 (14)	3-90	16,6 (19)	0 (14)
41,4 (32)	48,8 (13)	91-180	22,0 (32)	1,3 (13)

La diminution du pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans les éjaculats lavés est nulle pour des durées de conservation n'excédant pas trois mois et de 1,3 p. 100 seulement pour des durées comprises entre 3 et 6 mois. Dans les éjaculats non lavés, pour des durées de conservation équivalentes les diminutions sont respectivement de 16,6 et 22 p. 100.

TABLEAU 2

Augmentation (en p. 100) des éjaculats inutilisables avec la durée de conservation et la technique de congélation () : nombre d'éjaculats examinés

Durée de conservation (jours)	Éjaculats non lavés	Éjaculats lavés
3-90	10,7 (19)	0 (14)
91-180	31,3 (32)	7,7 (13)

Les taux d'éjaculats devenant inutilisables sont de 0 p. 100 dans les éjaculats lavés contre 10,7 p. 100 dans les éjaculats non lavés pour des conservations de 3-90 jours et de 7,7 vs 31,3 p. 100 pour des durées de conservation de 91-180 jours. Le seul éjaculat lavé devenu inutilisable présentait 33 p. 100 seulement de spermatozoïdes mobiles 24-48 heures après congélation.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La diminution du taux de spermatozoïdes mobiles pendant la conservation à basse température a été observée dans la semence de taureau mais après des temps de conservation de plusieurs années (MIXNER et WIGGIN, 1964 ; MIXNER, 1968). Le déclin de la fécondance de ces spermatozoïdes interviendrait dès le début de la seconde année de conservation pour des causes non encore élucidées (SALISBURY et HART, 1970). Chez le bélier, SALAMON (1972) et SALAMON et VISSER (1974) n'observent pas de phénomènes semblables pour des durées de conservation de 3 et 5 ans.

La diminution du taux de spermatozoïdes mobiles que nous avons observée intervient dès les trois premiers mois de conservation. La rapidité avec laquelle elle se produit paraît caractéristique du sperme de bouc. Elle semble devoir être reliée à une action délétère d'un composant du plasma séminal sur le devenir des spermatozoïdes congelés puisqu'en l'absence de plasma, il n'y a plus de diminution pour les durées de conservation étudiées.

On sait depuis longtemps que le plasma séminal n'est pas le meilleur milieu de conservation des spermatozoïdes. La consommation de glucose C₁₄ par les spermatozoïdes de taureau est réduite lorsque ceux-ci sont conservés avec leur plasma séminal (FLIPSE, 1954). Il est peu probable que le métabolisme du spermatozoïde soit perturbé à la température de — 196°C. Par contre, l'inaptitude du spermatozoïde de bouc à se conserver à basse température pourrait résulter d'une inhibition métabolique impor-

tante survenue au cours des manipulations du sperme avant de le congeler comme le suggèrent les résultats antérieurs (CORTEEL, 1974). Quoi qu'il en soit, dans nos conditions expérimentales, le lavage améliore la conservation des spermatozoïdes de bouc dans l'azote liquide.

Reçu pour publication en avril 1975.

SUMMARY

EFFECT OF WASHING ON DEEP FROZEN GOAT SEMEN PRESERVATION

In deep-frozen-thawed goat semen, the percentage of mobile sperm decreases by 16,3 p. 100 and 22,0 p. 100 in the three and six month periods following deep-freezing. Washing the spermatozoa prior to freezing reduces the decrease down to 0 p. 100 and 1,3 p. 100 in the same periods.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BONFERT A., 1965. Possibilités et limites de l'insémination artificielle caprine. *Tierzuchter*, **17**, 154-156.
- CORTEEL J. M., COUROT M., ORTAVANT R., 1972. Fertility of multiparous goats inseminated with liquid or deep frozen semen after hormonal synchronization of œstrus before the onset and in the course of the Breeding Season. *VIIth Intern. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Munich*, **2**, 1009-1014.
- CORTEEL J. M., 1974. Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal : effet du glucose. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **14**, 741-745.
- CORTEEL J. M., 1975. The use of progestogens to control the œstrus cycle of the dairy goat. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* (Sous presse).
- FLIPSE R. J., 1954. Metabolism of bovine semen. I. Uptake of glucose C₁₄ by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, **37**, 425-430.
- MIXNER J. P., WIGGIN, 1964. The effects of ageing on the motility and fertility of frozen bull semen. *Proc. VII Intern. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Trento*, **3**, 264-268.
- MIXNER J. P., 1968. Fertility of bull semen frozen for twelve years. *Proceed. VIIth Intern. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Paris*, 1095-1098.
- SALAMON S., 1972. Fertility of ram spermatozoa frozen-stored for three years. *Proceed VIIth Intern. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Munich*, **2**, 1493-1495.
- SALAMON S., VISSER D., 1974. Fertility of ram spermatozoa frozen stored for 5 years. *J. Reprod. Fert.*, **37**, 433-435.
- SALISBURY G. W., HART R. G., 1970. Gamete aging and its consequences. *Biol. Reprod. Suppl.*, **2**, 1-13.