

Etude de la conservation à 4°C des spermatozoïdes de taureaux dans différents dilueurs

Study of different extenders for the preservation at 4°C of bull semen

P. DUMONT, P. MAITRE, B. GUÉRIN

Laboratoire pour le Contrôle des Reproducteurs

UNCEIA - Services Techniques - 13, rue Jouët - B.P. 65 - 94703 Maisons-Alfort

L'objectif de l'étude est de chercher à conserver les spermatozoïdes de taureau à 4°C sans jaune d'oeuf et d'étudier l'influence de la concentration en glycérol dans le dilueur sur leur survie. Huit éjaculats de taureau (un par taureau) ont été récoltés et dilués dans 4 dilueurs : (1) le Triladyl (ND, Minitüb), tampon Tris contenant 20 % de jaune d'oeuf et 6,4 % de glycérol, (2) le Biladyl (ND, Minitüb), tampon proche du Triladyl-jaune d'oeuf mais préparé avec 2 % de glycérol, (3) le Biociphos Plus (ND, IMV) contenant un substitut de jaune d'oeuf et 7 % de glycérol, (4) un Biociphos Plus modifié contenant seulement 2 % de glycérol. Après dilution à 30°C à la concentration de 25 millions de spermatozoïdes par millilitre, la semence a été refroidie en une heure à 4°C puis conditionnée en paillettes de 0,25 ml (IMV). Les paillettes ont été conservées pendant 5 jours à 4°C (de J0 à J4). Quatre évaluations *in vitro* de la vitalité des spermatozoïdes ont été réalisées quotidiennement : estimation visuelle du pourcentage de spermatozoïdes fléchants (motilité) et de la note de mouvement; évaluation sur 200 cellules du pourcentage de spermatozoïdes à membrane intègre après coloration au fluorochrome Hoechst 33258; évaluation sur 200 cellules du pourcentage de spermatozoïdes à acrosome intègre en microscopie à contraste interférentiel. Les données ont été étudiées, sans transformation, par analyse de variance.

Une importante altération de la qualité de la semence est observée de J0 à J4 pour les 4 dilueurs sauf avec la technique du Hoechst. L'évolution défavorable est plus accentuée pour la motilité avec le Biociphos Plus à 2% qu'avec les 3 autres dilueurs. Le classement des différents dilueurs entre eux est différent selon les paramètres (tableau 1) : la motilité est plus élevée avec le Triladyl (61% versus 55, 53 et 36% pour Biladyl, Biociphos Plus et Biociphos Plus à 2%), la note de mouvement est meilleure avec le Biociphos Plus (2,9 versus 2,7 2,4 et 2,3 pour Biociphos Plus à 2%, Biladyl et Triladyl), le pourcentage d'acrosomes intègres est plus élevé avec les deux dilueurs à 6,4 et 7% de glycérol, le Biociphos Plus et le Triladyl (69%, versus 65 et 60% pour Biociphos Plus à 2% et Biladyl). Par ailleurs, il existe une interaction taureau x dilueur ($p < 0,0005$).

Il semble donc possible de conserver à 4°C des spermatozoïdes de taureau en l'absence de jaune d'oeuf avec le Biociphos Plus, et d'obtenir une survie comparable à celle obtenue avec le Triladyl en présence de jaune d'oeuf. Les résultats de viabilité apparaissent meilleurs avec la concentration en glycérol la plus élevée.

Tableau 1.

Moyennes des résultats de spermatozoïdes mobiles, de note de mouvement et de pourcentage d'acrosomes intègres pour les 4 dilueurs. Les moyennes n'ayant pas de lettre commune sont significativement différentes au seuil de 5%.

Motilité			Note			Acrosome		
Dilueur	Moy		Dilueur	Moy		Dilueur	Moy	
Triladyl	60,5	A	Biociphos +	2,93	A	Biociphos +	69,4	A
Biladyl	54,6	AB	Biociphos 2%	2,65	AB	Triladyl	68,7	A
Biociphos +	52,5	B	Biladyl	2,41	B	Biociphos 2%	65,0	A
Biociphos 2%	35,9	C	Triladyl	2,28	B	Biladyl	60,4	B