



LABORATOIRE DE FONCTION SPERMATIQUE ET DE
TOXICOLOGIE: RECHERCHE APPLIQUÉE ET
FONDAMENTALE

CRYOCONSERVATION DE LA SEMENCE DE BOUC



UNIVERSITÉ
LAVAL

LabOratoire
de fonction
spermatique
et de toxicologie



Projet de maîtrise présenté par
Geneviève Maher

Plan de la présentation

- Mise en situation
- Hypothèses et objectifs de recherche
- Comparaisons des deux protocoles
- Manipulations à la ferme
- Conclusion



Mise en situation



- Production marginale en croissance
- Augmentation consommation produits chèvres laitiers au Québec
 - 1 million de litre en 1997
 - 7 millions de litre en 2007 (L'élevage de la chèvre, CRAAQ 2009)
- Demande comblée à 70,4% (MAPAQ 2008)
 - Amélioration génétique par l'I.A.

Mise en situation

France

Génétique:

Composantes du lait

I.A. :

Pratique courante



Québec

Conformation des animaux

Pratique rarissime
Importation de semences
France



Hypothèses et Objectifs de recherche

«Les diluants à base d'œuf ou de lait influencent différemment la qualité spermatique et le pouvoir fécondant de la semence de boucs»

- Comparer et optimiser les techniques de cryoconservation de la semence de bouc
- Mettre à l'essai le pouvoir fécondant de la semence cryoconservée par l'I.A.

Comparaison entre les 2 protocoles



Diluant - Lait



Tampon

+



1^{er} Centrifugation 15min

2^{em} Centrifugation 15min



Ajout diluant lait sans glycérol

Ajout diluant lait avec glycérol

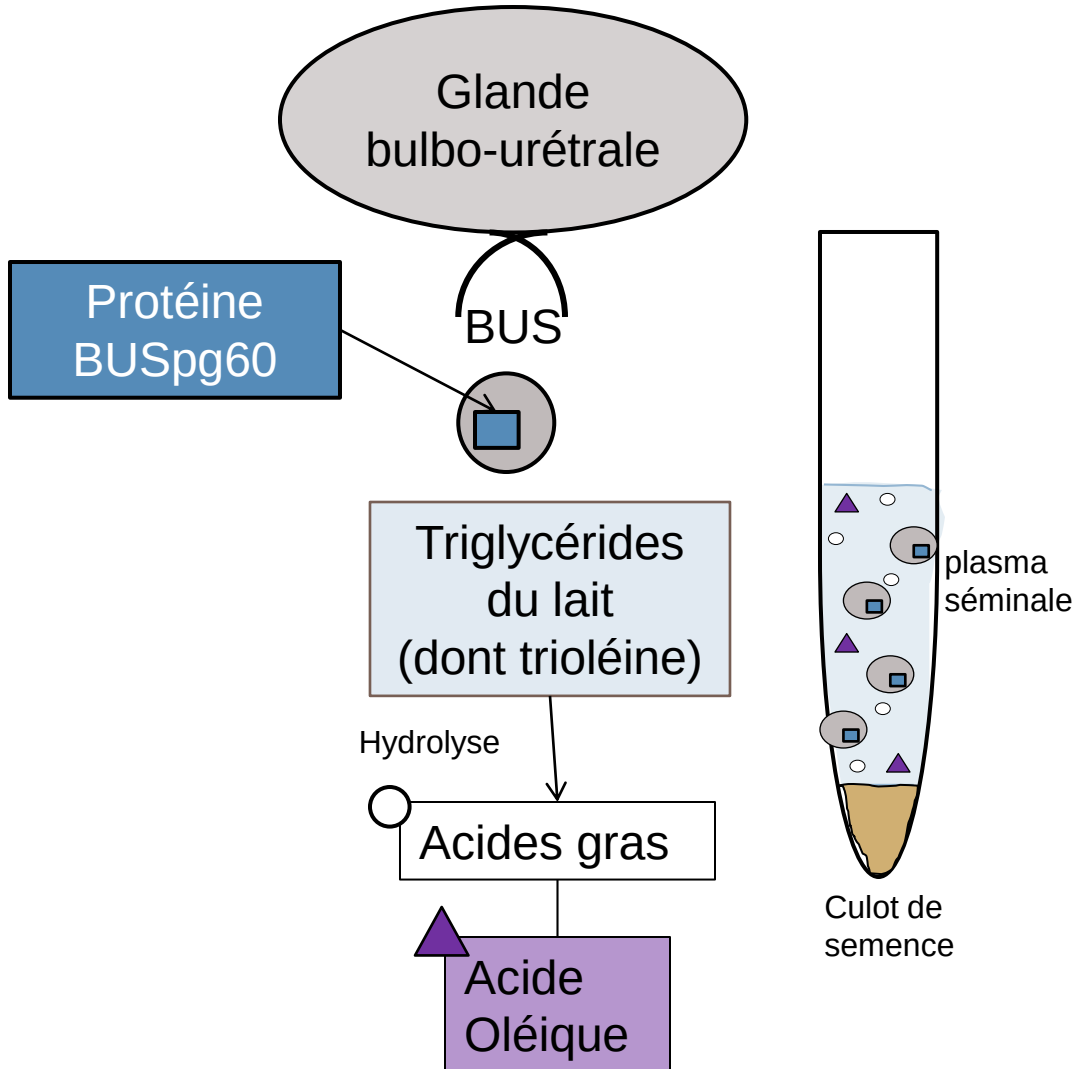


Conservation 1h30 à 4 °C



Congélation

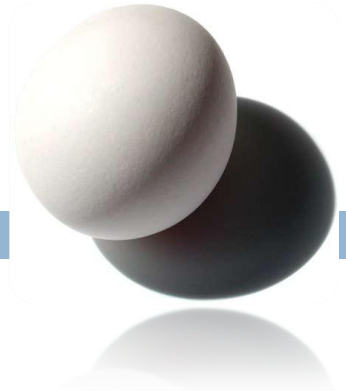
Diluant - Lait



BUSpg60

- BUSpg60 provient de protéine BUSIII
- 95% réactions acrosomales spontanées (Leboeuf et al. 2000)

Diluant - Jaune d'œuf



Tris, acide citrique, glycérol,
jaune d'œuf

+



Semence

Conservation à 4 °C



Congélation

*«La qualité de la semence diluée dans le jaune d'œuf
avec ou sans lavage est similaire après congélation »*

Salamon et Ritar 1982

Diluant– Jaune d'œuf



Glande
bulbo-urétrale

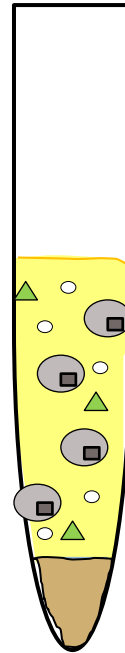
BUS

Egg Yolk
Coagulating
Enzyme
(EYCE)

Lécithine
du jaune
d'œuf

Acides gras

Lysolécithine



plasma
séminal

Culot de
semence

EYCE

- Phospholipase
 - Hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf en acides gras et lysolécithine (toxique)
 - Varie selon T^0 , concentration plasma séminal, saison de reproduction
- (Leboeuf et al. 2000)

Manipulation à la ferme

- Installations
- Manipulations
- Analyses
- Inséminations artificielles

Manipulations- Installations

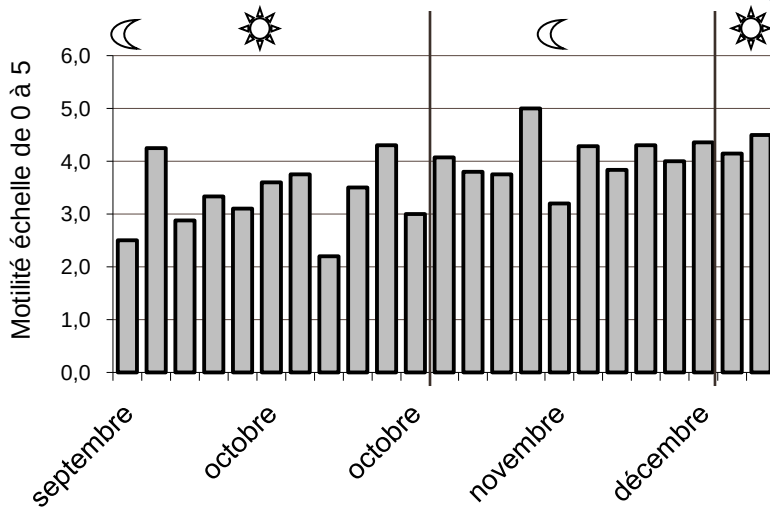
- Centre de Recherche en Sciences Animales de Deschambault (CRSAD)
- 8 boucs
- 10 chèvres mannequins
- Photopériode de 6 semaines



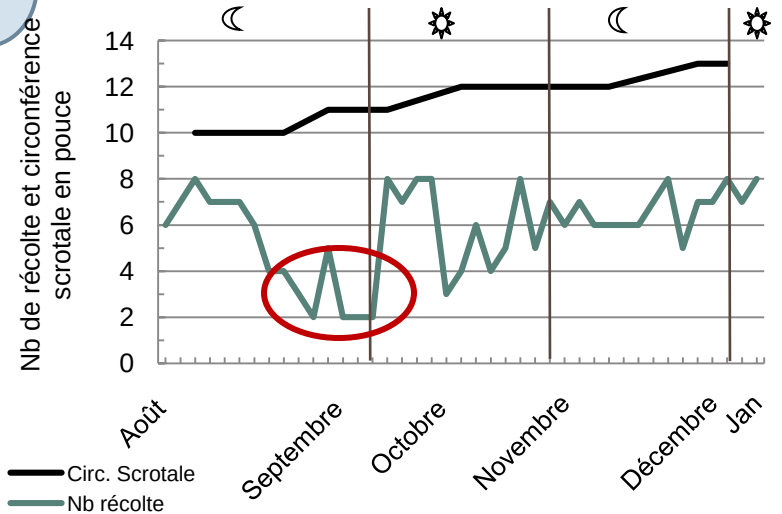
La photopériode

On vise une stabilité

Motilité de la semence selon la photopériode



Libido et circonférence scrotale chez les boucs



Date	Août								Septembre					Octobre					Novembre						Déc.	J															
Photo-période	Jours courts										Jours longs								Jours courts								JL														
Nb récolte	6	7	8	7	7	7	6	4	4	8	2	5	2	2	2	8	7	8	8	3	4	6	4	5	8	5	7	6	7	6	6	6	6	7	8	5	7	7	8	7	8
Circ. Scrotale	10			10				11			11			12			12		12		12						13			13											
Évènement	Oestradiol								Oestradiol				G		Oestradiol																										

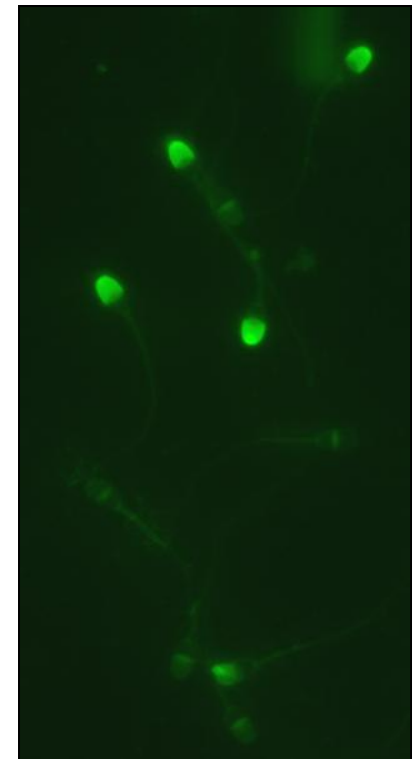
Manipulations

- Récolte des boucs
- Analyses semence fraîche
- Congélation de la semence selon les deux protocoles
- Analyse semence décongelée
- I.A.



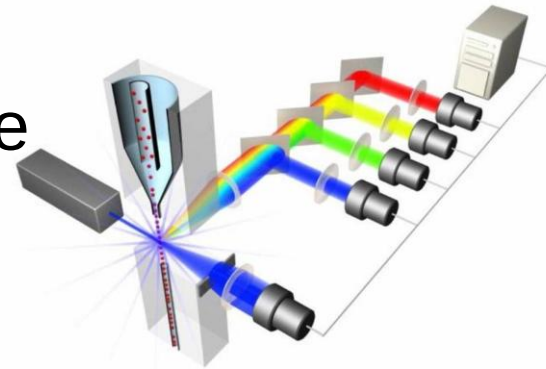
Manipulations — Analyse semence fraîche

- Volume
- pH
- Motilité
 - ▣ Subjectif
- Viabilité
 - ▣ Lame E/N
- Réaction acrosomale
 - ▣ Lame PSA
- Capacitation
 - ▣ Lames CTC



Manipulations- Analyses semence décongelée

- Motilité
 - ▣ Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)
- Cytométrie en flux
 - ▣ Intégrité de la membrane et acrosomique
 - ▣ Intégrité des mitochondries
 - ▣ Stabilité structurelle de la chromatine
 - ▣ Taux de calcium intracellulaire



Manipulations — Analyse semence décongelée

Cytomètre en Flux

	5	46	49
Date de congélation	26-nov	26-nov	24-nov
ŒUF			
% mort	33	65	59
% réacté	74	70	40
ADN	0,8	0,9	1,55
Mitochondries (% en dépolarisation)	5	2	6
Mitochondries (% dépolarisé)	47	84	59
% Calcium intracellulaire	73	66	81
Lait			
% mort	45	48	68
% réacté	53	60	68
ADN	0,9	1,2	1,6
Mitochondries (% en dépolarisation)	8	16	3
Mitochondries (% dépolarisé)	71	57	45
% Calcium intracellulaire	70	67	57

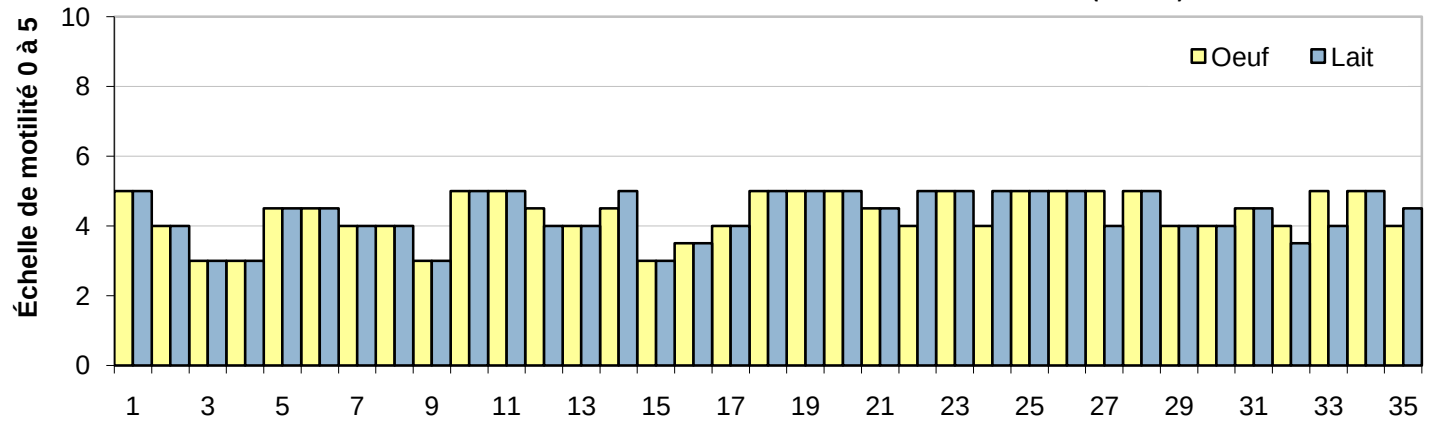
Motilités après décongélation avec CASA (% motiles)

Date de récolte	# bouc	Après décongélation	
26-nov	5	37	57
17-nov	24	44	36
26-nov	46	18	45
24-nov	49	23	45

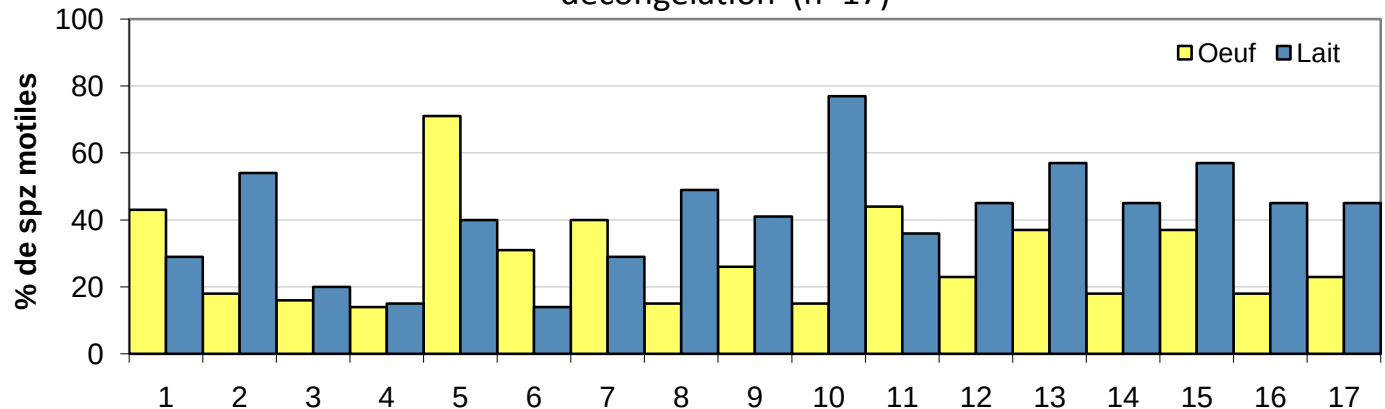
Manipulations — Comparaison des motilités

Motilité similaire
dans les 2
diluants

Motilité de la semence fraîche (n=35)



Motilité de la semence dans le diluant lait et jaune d'œuf après
décongélation (n=17)



Motilité
✓ Œuf: 28.76%
✓ Lait: 40.06%

Manipulations – I.A.

Phase 1: Vérifier l'action des diluants sur le pouvoir fécondant de la semence chez les chèvres en chaleurs synchronisées artificiellement

Phase 2: Vérifier l'action du diluant le plus performant sur le pouvoir fécondant de la semence chez les chèvres en chaleurs naturelles



Manipulations – I.A. Phase 1

- ❑ Décembre 2009
- ❑ Synchronisation des chaleurs avec CIDR
- ❑ Détection des chaleurs
- ❑ 4 boucs
- ❑ Observation motilité



Résultats des I.A.



ŒUF
7% gestation
▪ Motilité de 10%

LAIT
36% gestation
▪ Motilité de 40%
et 30%

Chaleurs



Semence et Technique



Conclusion

Hypothèse: Impact de l'EYCE sur la semence à long terme

- Reprise de l'IA phase 1 en mai 2010
 - Récolte et congélation en jours courts
- Analyse de la qualité de la semence décongelée au cytomètre en flux à différent temps d'incubation.



Merci

