

AMELIORATION DE LA CRYOCONSERVATION DE LA SEMENCE DE BOUCS QUEBECOIS

Vianney Salmon^{1,2}, Dany Cinq-Mars¹, François Castonguay¹, Janice L. Bailey^{1,2}

NUMÉRO : 810264

Durée : 03/2011 – 10/2014

FAITS SAILLANTS

Le succès de la cryoconservation de la semence réside dans le maintien de l'intégrité des membranes spermatiques après dégel. Or, la congélation induit des dommages aux spermatozoïdes entraînant une diminution considérable de leur capacité fécondante. Selon notre hypothèse, modifier la composition de la membrane plasmique à l'aide du cholestérol augmenterait la résistance des spermatozoïdes caprins à la cryoconservation. Le cholestérol est un puissant agent cryoprotecteur, mais il est difficile à incorporer dans le dilueur de semence en raison de son hydrophobicité. Nous avons démontré qu'il doit être couplé à la méthyl β -cyclodextrine, une molécule hôte capable de rendre soluble le cholestérol, afin de permettre son incorporation dans les membranes spermatiques. De ce fait, l'efficacité du traitement cholestérol lié à la cyclodextrine (CLC) est augmentée dans un dilueur à base de lait écrémé par rapport à un dilueur à base de jaune d'œuf. Le dilueur à base de jaune d'œuf est moins efficace, car il possède un fort taux de cholestérol qui compétitionne avec le CLC. La semence supplémentée en cholestérol dans un dilueur à base de lait écrémé permet d'augmenter la motilité et la viabilité des spermatozoïdes après décongélation ($P < 0.05$). *In vitro*, nous avons montré que le cholestérol ajouté aux spermatozoïdes n'affecte pas leurs fonctions spermatiques qui sont nécessaires à la fécondation. Le faible nombre de chèvres utilisé dans notre essai *in vivo* n'a pas permis d'observer une amélioration de la fertilité avec la semence traitée au CLC ($P > 0.05$; $n = 4$ boucs). Donc, grâce à cette étude, nous avons observé que le cholestérol spermatique joue le rôle de cryoprotecteur et qu'il pourrait servir comme biomarqueur de la « congélabilité » de semence. D'autres études sur un plus grand nombre de sujets permettraient de préciser l'effet bénéfique du traitement CLC observé *in vitro* sur la fertilité *in vivo*.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

Objectif principal : Tester l'hypothèse que les spermatozoïdes de boucs supplémentés en cholestérol résisteraient mieux à la congélation et ont un meilleur taux de fertilité.

Méthodologique : Les semences de boucs de race Alpine ($n = 4$) ont été traitées avec différentes doses de CLC et soumises à des simulations de congélation pour déterminer la concentration optimale de CLC (3 mg/mL). Les semences de boucs ont donc été traitées avec ± 3 mg/mL de CLC dans un dilueur à base de lait écrémé puis la qualité spermatique (paramètres de motilité / intégrité des membranes spermatiques) et la quantité de cholestérol spermatique ont été évaluées avant et après décongélation. L'efficacité du traitement CLC à préserver les fonctions spermatiques post-dégel a été déterminée *in vitro* par induction de la capacitation et *in vivo* par insémination artificielle sur 40 chèvres préalablement synchronisées.

1. Département des sciences animales, Université Laval

2. Centre de Recherche en Biologie de la Reproduction

RETOMBÉES SIGNIFICATIVES POUR L'INDUSTRIE

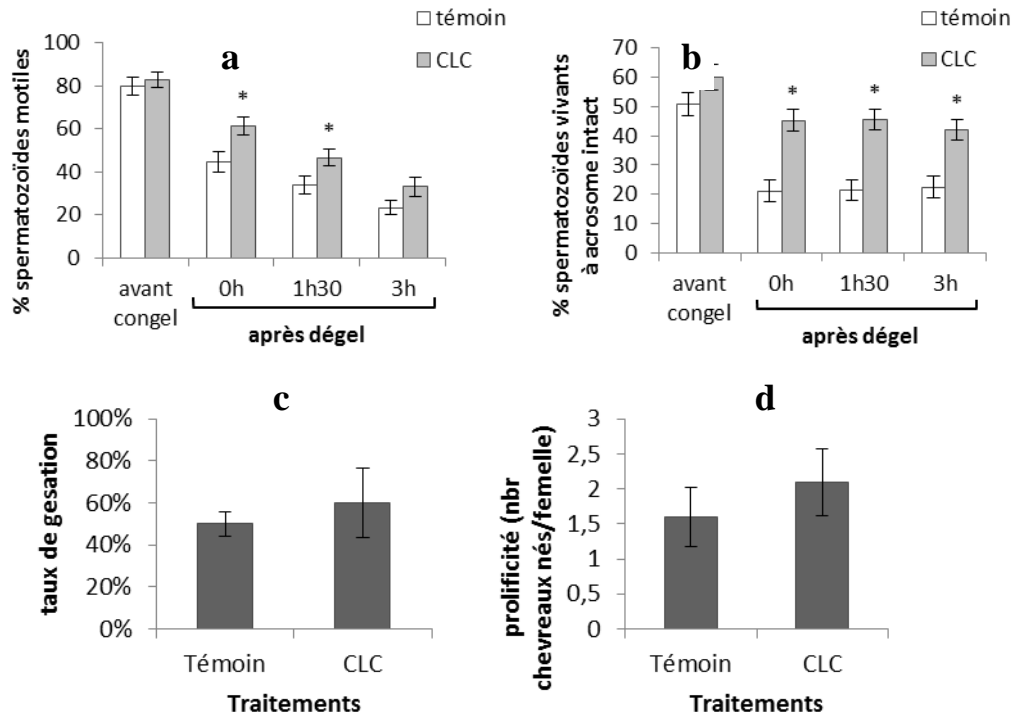


Figure : (a) Le traitement à base de cholestérol (CLC) améliore la motilité spermatique post-dégel versus la semence non traitée (témoin). (b) La viabilité des spermatozoïdes supplémentés en cholestérol est deux fois plus importante après dégel par rapport aux spermatozoïdes non traités. Aucune différence n'est présente entre les traitements pour (c) le taux de fertilité et (d) la prolificité.

* indique une différence significative ($P < 0.05$)

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET SUIVI À DONNER

- 1- Un dilueur à base de lait écrémé supplémenté en cholestérol (CLC) est plus efficace pour la congélation de semence de bouc qu'un dilueur à base de jaune d'œuf commercial. Le dilueur à base de lait écrémé à l'avantage d'être facile à fabriquer et il permet de réduire les risques possibles de contaminations croisées dues à l'utilisation des œufs.
- 2- Bien que le traitement CLC augmente la motilité et viabilité des spermatozoïdes cryoconservés, les taux de fertilité et de prolificité entre le traitement CLC et le témoin ne sont pas différents. La répétition de cette expérience avec un plus grand nombre de femelles permettrait de préciser l'effet bénéfique du CLC observé *in vitro* sur le taux de fertilité *in vivo*.
 - a. Notre étude a montré qu'un seul bouc sur les quatre testé présentait un taux de fertilité et de prolificité inférieure lorsque l'insémination était réalisée avec de la semence traitée au CLC par rapport à la semence non traitée. Ce qui explique l'importante erreur-type observée dans la figure « c ». Nous avons démontré que ce bouc possédait déjà naturellement un haut niveau de cholestérol spermatique. La supplémentation de cholestérol dans cette semence aurait retardé les étapes de modifications spermatiques menant à la fécondation (capacitation, réaction acrosomique).
 - b. Le cholestérol est un puissant agent cryoprotecteur qui pourrait également agir comme un biomarqueur pour la fertilité *in vivo*. Ceci représenterait une avancée

considérable pour l'industrie, car il serait possible d'estimer le taux de fertilité de la semence congelée en fonction de la quantité de cholestérol présente dans les spermatozoïdes. De nouvelles études seront nécessaires pour tester cette hypothèse.

- c. Nous spéculons qu'un meilleur taux de fertilité pour la semence traitée avec du cholestérol pourrait être obtenu en ajustant le protocole d'insémination. En effet le protocole d'insémination actuel est optimisé pour de la semence congelée traditionnellement et qui s'est avérée de moins bonne qualité après décongélation. Cependant, la supplémentation des spermatozoïdes en cholestérol permet d'augmenter la survie spermatique, permettant ainsi d'inséminer beaucoup plus tôt les femelles par rapport au précédent protocole d'insémination. D'autres recherches sont nécessaires pour tester l'hypothèse que l'insémination avec la semence traitée au CLC doit être retardée afin de maximiser le taux de fertilité.
- 3- Cette étude ouvre de nouvelles perspectives de recherche pour l'amélioration de la conservation de semence d'espèces dont la congélation est difficile ou peu connue, comme le mouton, le porc, le bovin de boucherie, l'équin et le poisson.
- 4- Ce projet mène à de nouvelles études sur le sexage de la semence. À ce jour, le protocole de triage de spermatozoïdes par cytométrie en flux induit un stress cellulaire important. Nous testerons l'hypothèse que modifier la membrane spermatique avec du cholestérol à l'aide du CLC protégerait les spermatozoïdes lors du sexage.

POINT DE CONTACT

Janice L. Bailey, Professeure
Université Laval
Tél. : 418 656-2131, poste 3354
Télécopieur : 418 656-3766
Courriel : janice.bailey@fsaa.ulaval.ca

Étudiant à charge du projet :
Vianney Salmon, Candidat au doctorat
Université Laval
Tél. : 418 656-2131, poste 8823
Courriel : mahutin-vianney.salmon.1@ulaval.ca

PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

Cette étude a également été réalisée grâce à la participation du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault qui a fourni les animaux utilisés dans ce projet.