

# UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DES SCIENCES  
ET TECHNIQUES



ECOLE INTER-ETATS DES  
SCIENCES ET MEDECINE  
VETERINAIRES DE DAKAR



Année 2008

N° : 1

## APPRECIATION DE LA QUALITE DE LA SEMENCE BOVINE PRODUITE AU CENTRE NATIONAL D'AMELIORATION GENETIQUE (CNAG) DE DAHRA AU SENEGAL

### MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES DE PRODUCTIONS ANIMALES

Présenté et soutenu publiquement le 21 Janvier 2008 à 09 h à l'EISMV

Par

**Fidèle KABERA**

Né le 08 Avril 1978 à Kiliba (Rwanda)

---

### MEMBRES DU JURY

**PRESIDENT :**

**M. Louis Joseph PANGUI**  
Professeur à l'EISMV de Dakar

**MEMBRES :**

**M. Bhen Sikina TOGUEBAYE**  
Professeur à la FST (UCAD)

**M. Malang SEYDI**  
Professeur à l'EISMV de Dakar

**M. Serge N. BAKOU**  
Professeur à l'EISMV de Dakar

## DEDICACES ET REMERCIEMENTS

### *Je dédie ce travail:*

A **Dieu tout puissant**, le créateur et le pourvoyeur de toutes choses et de toutes œuvres humaines.

A mes **parents** qui m'ont donné la vie, l'amour et la joie de vivre.

A la mémoire de *mon papa, mes frères et sœurs, mon beau-frère et mes nièces.*

A mes frères et sœurs, oncles, tantes, neveux, nièces, cousins et cousines.

Aux Familles BIHIBINDI, MUTWE, KARANGWA, KAZUBWENGE, HAKIZIMANA, BUMBAKARE, Michel SENE et DEFISE.

A mes proches relations et amis de Dakar et d'ailleurs.

### *Nous tenons à exprimer notre immense gratitude à l'endroit de :*

**Mon frère** Joseph et toute sa famille, **ma sœur** (Marie) et **son mari** qui m'ont encouragé et soutenu.

Professeur Serge N. BAKOU, M. Aliou NACRO, M. Hadoque, Mme Espérance

Docteurs Mame Balla SOW, YAMEOGO, KAMGA et M. Konaré.

Toute l'équipe du Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de Dahra

La Coordination des stages et formations post-universitaires

Tout le personnel de l'EISMV de Dakar

Madame DIOUF, bibliothécaire à l'EISMV de Dakar

Ma très chère patrie le Rwanda et le Sénégal mon pays d'accueil

Tous ceux que nous n'avons pas cités, et qui ont œuvré de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

A tous, veuillez recevoir l'expression de notre profonde gratitude.

## HOMMAGES A NOS MAITRES ET JUGES

**A notre président du jury, Monsieur Louis Joseph PANGUI**, Professeur à l'EISMV de Dakar. Vous nous faites l'insigne honneur, malgré vos multiples occupations de présider ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde et sincère gratitude.

**A notre Directeur de Mémoire, Monsieur Serge N. BAKOU**, Maître de conférences agrégé à l'EISMV de Dakar. Vous avez accepté d'encadrer et de diriger ce travail avec rigueur scientifique et pragmatisme. Nous avons été fasciné par votre abord facile et votre simplicité. Vos qualités scientifiques et humaines nous ont profondément marqué. Trouver ici l'assurance de notre profonde gratitude.

**A notre Maître et Juge, Monsieur Malang SEYDI**, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar. Vos qualités humaines et d'homme de science suscitent respect et admiration. Soyez rassuré de notre sincère reconnaissance.

**A notre Maître et Juge, Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE**, Professeur à la FST (UCAD). Votre rigueur d'homme de sciences et vos qualités humaines nous ont beaucoup marqué. Trouver ici notre sincère reconnaissance.

## ABREVIATIONS

**ABP** : Androgen Binding Protein

**AI** : Artificial Insemination

**°C** : Degré Celsius

**Cc** : centimètre cube

**CAG** : Centre d'Amélioration Génétique

**CNAG** : Centre National d'Amélioration Génétique

**FSH** : Follicle Stimulating Hormone

**GnRH** : Gonadotropin Releasing Hormone

**IA** : Insémination Artificielle

**I** : Inhibine

**Km** : Kilomètre

**LH** : Luteinizing Hormone

**MP** : Membrane Plasmique

**MI** : millilitre

**PMSG** : Pregnant Mare Serum Gonadotropin

**PAPEL** : Projet d'Appui à l'Élevage

**PGF2 $\alpha$**  : Prostaglandines F2 $\alpha$

**PNIA** : Programme National d'Insémination Artificielle

**PRODAM** : Projet de Développement Agricole de Matam

**Spz** : spermatozoïdes

**T** : Testostérone

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité massale.....	8
<b>Tableau II</b> : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité individuelle, dans une grille de notation de 0 à 5.....	8
<b>Tableau III</b> : Composition des dilueurs les plus utilisés.....	11
<b>Tableau IV</b> : Seuil d'acceptabilité des éjaculats au CNAG.....	16
<b>Tableau V</b> : Caractéristiques des éjaculats récoltés.....	19
<b>Tableau VI</b> : Caractéristiques moyennes des éjaculats récoltés.....	19
<b>Tableau VII</b> : dilution et préparation des paillettes.....	20
<b>Tableau VIII</b> : Résultats du test de congélabilité.....	20
<b>Tableau IX</b> : Résultats du diagnostic de gestation des vaches inséminées.....	21
<b>Tableau X</b> : Résultats des mises bas.....	21

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Appareil reproducteur du taureau.....	2
<b>Figure 2</b> : Représentation schématique de la morphologie du spermatozoïde mûr.....	4
<b>Figure 3</b> : Contrôle neuro-endocrinien de l'appareil génital masculin.....	4
<b>Figure 4</b> : Schéma du vagin artificiel.....	5
<b>Figure 5</b> : Schéma d'une paillette « CASSOU ».....	12

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
<b>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DU TAUREAU.....</b>	<b>2</b>
<b>I.1. RAPPELS ANATOMIQUES DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DU TAUREAU ..</b>	<b>2</b>
<b>I.2. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES DE L'APPAREIL GENITAL MALE .....</b>	<b>3</b>
<b><i>I.2.1. Production de gamètes .....</i></b>	<b>3</b>
<b><i>I.2.2. Régulation de la fonction sexuelle mâle .....</i></b>	<b>3</b>
<b><i>I.2.3. Emission du sperme .....</i></b>	<b>4</b>
<b>CHAPITRE II : TECHNOLOGIE DE LA SEMENCE.....</b>	<b>5</b>
<b>II.1. RECOLTE DU SPERME .....</b>	<b>5</b>
<b><i>II.1.1. Récolte au vagin artificiel .....</i></b>	<b>5</b>
<b><i>II.1.2. Electro-éjaculation .....</i></b>	<b>6</b>
<b>II.2. EVALUATION DE LA QUALITÉ DU SPERME.....</b>	<b>6</b>
<b><i>II.2.1. Examens macroscopiques .....</i></b>	<b>6</b>
<b><i>II.2.2. Examens microscopiques .....</i></b>	<b>7</b>
<b><i>II.2.3. Etude physico-chimique et biochimique du sperme .....</i></b>	<b>9</b>
<b><i>II.2.4. Analyse du spermogramme .....</i></b>	<b>9</b>
<b>II.3. PREPARATION ET CONSERVATION DE LA SEMENCE.....</b>	<b>10</b>
<b><i>II.3.1. Principe .....</i></b>	<b>10</b>
<b><i>II.3.2. Techniques de préparation et conservation de la semence .....</i></b>	<b>10</b>
<b>DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>13</b>
<b>I.1. MATERIEL .....</b>	<b>13</b>
<b><i>I.1.1. Milieu d'étude : Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de Dahra.....</i></b>	<b>13</b>
<b><i>I.1.2. Matériel animal.....</i></b>	<b>13</b>
<b><i>I.1.3. Autre matériel.....</i></b>	<b>14</b>
<b>I.2. METHODES .....</b>	<b>15</b>
<b><i>I.2.1. Prélèvements du sperme .....</i></b>	<b>15</b>
<b><i>I.2.2. Caractéristiques du sperme après récolte .....</i></b>	<b>16</b>
<b><i>I.2.3. Préparation de la semence.....</i></b>	<b>17</b>
<b><i>I.2.4. Phases de refroidissement, d'équilibration et de conditionnement .....</i></b>	<b>17</b>
<b><i>I.2.5. Congélation et conservation de la semence .....</i></b>	<b>17</b>
<b><i>I.2.6. Evaluation de la qualité fécondante des semences produites par le CNAG .....</i></b>	<b>18</b>
<b><i>I.2.7. Analyses statistiques.....</i></b>	<b>18</b>

<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>19</b>
<b>II.1. RESULTATS .....</b>	<b>19</b>
<i>II.1.1. Prélèvements et Caractéristiques du sperme .....</i>	<i>19</i>
<i>II.1.2. Préparation de la semence .....</i>	<i>20</i>
<i>II.1.3. Test de congélabilité .....</i>	<i>20</i>
<i>II.1.4. Résultats du programme-test des semences produites par le CNAG .....</i>	<i>21</i>
<b>II.2. DISCUSSION.....</b>	<b>21</b>
<i>II.2.1. Prélèvements du sperme.....</i>	<i>21</i>
<i>II.2.2. Caractéristiques du sperme récolté.....</i>	<i>22</i>
<i>II.2.3. Préparation de la semence .....</i>	<i>23</i>
<i>II.2.4. Conservation de la semence .....</i>	<i>24</i>
<i>II.2.5. Test de congélabilité .....</i>	<i>26</i>
<i>II.2.6. Résultats du programme-test des semences produites par le CNAG .....</i>	<i>26</i>
<b>PERSPECTIVES.....</b>	<b>27</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>28</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>29</b>

## INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, malgré l'importance et l'accroissement de l'élevage au Sénégal, la production laitière reste toujours faible. La satisfaction de la demande en lait et produits laitiers demeure tributaire des importations.

Plusieurs initiatives ont été entreprises pour favoriser le développement de la production laitière, face à une forte demande due à l'accroissement du taux d'urbanisation associé à une forte croissance démographique. C'est ainsi qu'à travers différents projets de développement (PAPEL, PNIA, PRODAM), l'utilisation de l'insémination artificielle (IA) bovine a été initiée au Sénégal. En effet, l'IA reste une biotechnologie de la reproduction adaptée à l'amélioration des productions animales en milieu rural.

Malgré son succès appréciable au Sénégal, l'IA coûte cher. Selon plusieurs auteurs, les coûts liés à l'importation des semences pèsent très lourd sur le coût de revient de l'IA au Sénégal. KOUAMO (2007) rapporte 6500 FCFA pour une dose de semence importée ; soit 19,69% du coût de revient de l'IA sur chaleurs induites contre 21,86% sur chaleurs naturelles. DIAKHOUMPA (2003) rapporte 6000 FCFA par dose ; soit 12,5% du coût de revient de l'IA sur chaleurs induites.

C'est dans l'optique de la réduction du coût de revient de l'IA au Sénégal que le Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) a été mis en place. L'appréciation qualitative de la semence est nécessaire avant son utilisation à grande échelle.

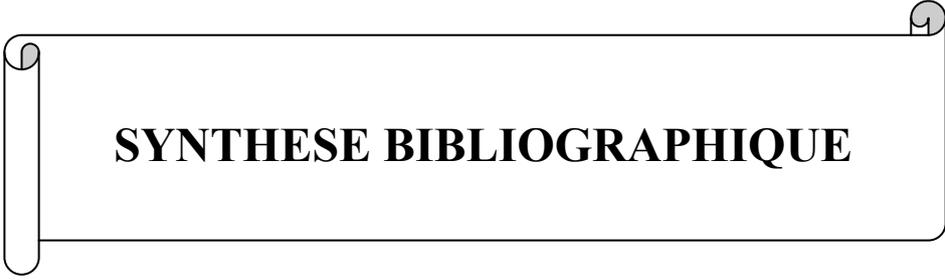
Ainsi, notre travail a pour objectif principal d'apprécier la qualité de la semence bovine produite au CNAG de Dahra au Sénégal.

De façon spécifique, notre étude consiste en :

- ☞ la description des conditions de préparation et de conservation de la semence ;
- ☞ l'évaluation de la qualité du sperme pur et des semences après leur congélation et décongélation ;
- ☞ l'évaluation de la fécondité des taureaux du CNAG de Dahra.

Ce travail sera présenté en deux parties :

- ✓ une synthèse bibliographique dans laquelle des rappels anatomo-physiologiques de l'appareil reproducteur mâle et la technologie de la semence bovine seront abordés ;
- ✓ une partie expérimentale comprenant la méthodologie de travail, la présentation et discussion des résultats ainsi que les perspectives.

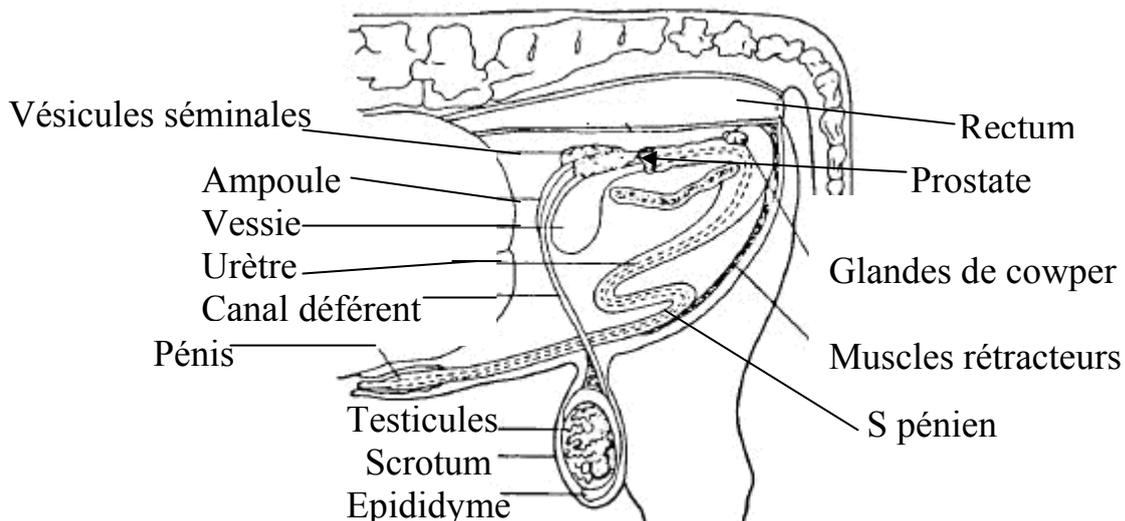


**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre I : RAPPELS ANATOMO-PHYSIOLOGIQUES DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DU TAUREAU**

### **I.1. Rappels anatomiques de l'appareil reproducteur du taureau**

L'appareil génital mâle comprend les glandes génitales que sont les testicules, productrices des spermatozoïdes, et les voies spermatiques représentées successivement par l'épididyme, le canal déférent et l'urètre. Des glandes annexes se trouvent associées aux voies spermatiques ainsi que des formations érectiles. L'essentiel du tractus génital mâle se trouve hors de la cavité abdominale : testicules et épидидymes dans le scrotum, extrémité pénienne dans la cavité du prépuce. La cavité abdominale héberge les conduits excréteurs des gamètes et des liquides dans lesquelles ceux-ci baignent, ainsi que les glandes annexes génératrices de ces sécrétions. La figure n°1 illustre les différentes parties de l'appareil reproducteur du taureau.



**Figure 1** : Appareil reproducteur du taureau (THIBIER, 1977).

Les tubes séminifères constituent l'unité fonctionnelle des testicules chargées d'élaborer les spermatozoïdes. Le sperme est continuellement produit par les testicules et entreposé dans l'épididyme. La prostate, les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales (glandes de Cowper) sécrètent le liquide spermatique. Le canal déférent faisant suite à l'épididyme présente un épaississement appelé ampoule déférentielle qui est le lieu de stockage des spermatozoïdes avant l'éjaculation.

Pendant l'accouplement, le pénis sort du fourreau à la suite du déploiement de l'inflexion sigmoïde du pénis en forme de S ; les spermatozoïdes sont transportés des testicules jusqu'à l'urètre par le canal déférent et sont expulsés par le pénis.

## **I.2. Rappels physiologiques de l'appareil génital mâle**

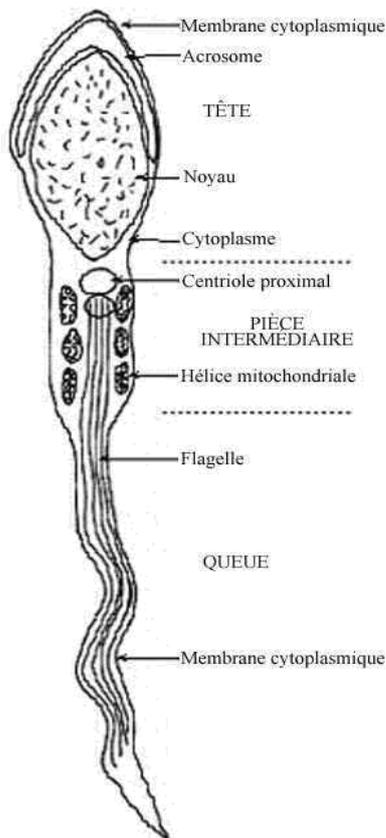
### **I.2.1. Production de gamètes**

La production des gamètes est un processus complexe appelé spermatogenèse qui, à partir des cellules germinales primordiales, conduit à la formation des cellules très différenciées, les spermatozoïdes. Elle est influencée principalement par la température et l'alimentation. En effet, la température excessive au niveau des testicules entraîne une dégénérescence de la lignée germinale. Chez le jeune, une carence marquée en calories se traduit par une hypoplasie des testicules et des glandes annexes, avec un retard de la puberté. Chez l'adulte, la sous-alimentation en général, la carence en protéines et en vitamine A en particulier, se traduit par un déclin de la libido, une fonte testiculaire une baisse du volume de l'éjaculat et de ses qualités biologiques. L'obésité induit également une détérioration de la spermatogenèse et une baisse de la fertilité du fait de l'accumulation de graisses au niveau du scrotum qui gêne la thermorégulation testiculaire. Ainsi, les taureaux reproducteurs doivent être alimentés correctement et collectés durant les moments de fraîcheur.

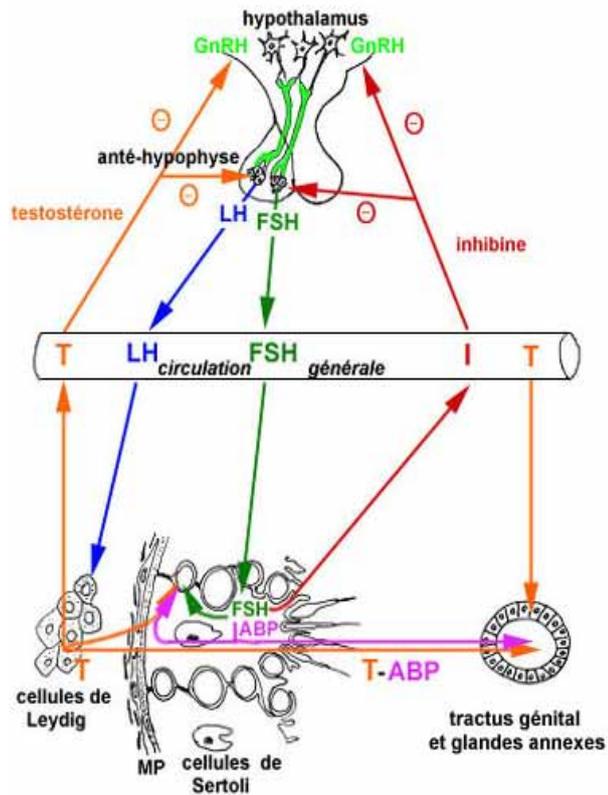
Les spermatozoïdes (figure n°2) sont en suspension dans le liquide spermatique et l'ensemble est appelé « sperme ». Le fructose est la seule source énergétique de leur métabolisme. La pièce intermédiaire constitue la principale zone d'activité métabolique. Le flagelle constitué de fibrilles contractiles joue un rôle moteur. La capacité de motilité (mouvements sans déplacement) des spermatozoïdes est acquise lors du transit épидидymaire. Leur activité métabolique est aérobie dans le milieu extérieur et anaérobie dans le milieu intra-utérin. Leur durée de survie hors des voies génitales mâles est de 24 heures.

### **I.2.2. Régulation de la fonction sexuelle mâle**

La fonction sexuelle mâle est essentiellement contrôlée par les sécrétions hormonales. L'hypothalamus sécrète un peptide appelé GnRH qui stimule la synthèse hypophysaire et la libération de deux hormones gonadotropes FSH et LH. Les cellules de Sertoli (cellules somatiques des tubes séminifères) possèdent des récepteurs sensibles à la FSH. Les cellules de Leydig (cellules interstitielles des testicules) possèdent des récepteurs sensibles à la LH. La testostérone sécrétée par les cellules de Leydig intervient dans le contrôle des caractères sexuels primaires (développement de l'appareil reproducteur et de son fonctionnement), secondaires (morphologie de type mâle) et tertiaires (comportement). Les cellules de Sertoli produisent l'Inhibine qui exerce une rétroaction au niveau hypophysaire. Elles produisent également de l'ABP (Androgen Binding Protein) assurant le transport de la testostérone vers les cellules germinales et la lumière du tube séminifère. Les interactions entre ces hormones contribuent à assurer un équilibre dynamique (Figure n°3) indispensable au déroulement de la gamétogenèse et à l'émission du sperme.



**Figure 2**



**Figure 3**

**Figure 2:** Représentation schématique de la morphologie du spermatozoïde mûr (Source: <http://mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio2460/images/Pagee12a.jpeg>, page consultée le 5 octobre 2007)

**Figure 3 :** Contrôle neuro-endocrinien de l'appareil génital masculin (Source: <http://spiral.univ-lyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasculin/gm6rd.html> (page consultée le 20 septembre 2007).

### I.2.3. Emission du sperme

Le sperme est composé de deux parties :

- les spermatozoïdes produits par les testicules et stockés dans l'épididyme ;
- le plasma séminal (liquide séminal) produit par les glandes accessoires (prostate, vésicules séminales).

Les deux parties ne se mélangent qu'au moment de l'éjaculation pour donner le sperme. Son émission dans les conditions naturelles est obtenue lors de l'éjaculation qui fait suite à l'érection. Ce sont des phénomènes réflexes contrôlés par les centres nerveux médullaires. Les voies sensibles afférentes sont assurées par le nerf honteux innervant les zones érogènes du tractus génital. Les voies motrices efférentes sont représentées par le sympathique vasoconstricteur pour l'éjaculation et le parasympathique vasodilatateur pour l'érection. Il y a interaction entre le centre érecteur et le centre de l'éjaculation : l'activation prolongée du centre érecteur entraîne l'activation du centre de l'éjaculation. La meilleure connaissance du mécanisme physiologique de l'émission du sperme a permis de développer un ensemble de technique pour créer les conditions réflexes d'éjaculation et de récolte du sperme.

## Chapitre II : TECHNOLOGIE DE LA SEMENCE

La semence est obtenue après récolte du sperme, examen, dilution, conditionnement et conservation.

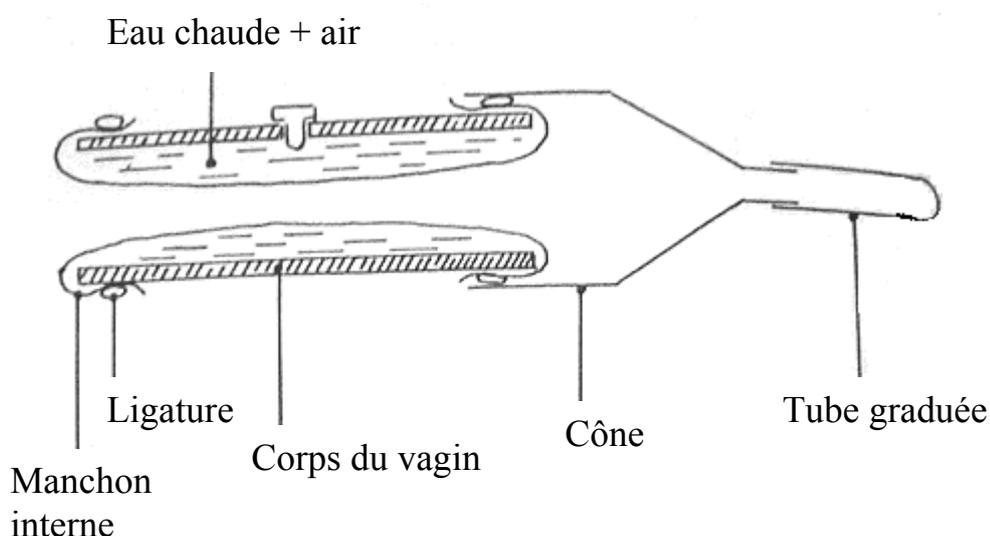
### II.1. Récolte du sperme

La récolte du sperme est un procédé par lequel on obtient le sperme sur l'animal vivant. La récolte ne se fait que sur des animaux sains, reconnus indemnes vis-à-vis de certaines infections. Il existe plusieurs méthodes de récolte du sperme. En pratique, les méthodes les plus couramment utilisées, de nos jours, sont la récolte au vagin artificiel et l'électro-éjaculation.

#### II.1.1. Récolte au vagin artificiel

La récolte au vagin artificiel est la méthode la plus couramment utilisée sur le terrain. Le vagin artificiel simule les conditions naturelles offertes par le vagin de la vache. Le principe est de rassembler dans un appareil simple et pratique les conditions naturelles présentées par les voies génitales de la vache au moment du coït et de recueillir rapidement un éjaculat total et non souillé (DERIVAUX, 1971). Le vagin artificiel est un assemblage de quatre pièces (Figure n°4) :

- le corps du vagin (manchon cylindrique rigide) muni d'un orifice à valve par lequel on peut introduire de l'eau tiède ou l'air : 35 cm de longueur et 7,5 cm de largeur ;
- le manchon interne en caoutchouc souple. Entre le manchon et le corps, la température de l'eau et la pression de l'air sont réglées à 38°C ;
- le cône : permet de relier le corps du vagin artificiel au tube gradué ;
- le tube gradué pour l'appréciation de la quantité de sperme récoltée.



**Figure 4** : Schéma du vagin artificiel (Source : BARRET, 1992)

La récolte se fait avec :

- ❖ un animal boute-en-train : il peut être mâle ou femelle. Au moment de la monte, l'opérateur dévie la verge du taureau dans le vagin artificiel.
- ❖ chariot mannequin : le récolteur installé dans le mannequin présente le vagin artificiel au taureau.

Malgré la facilité apparente de cette méthode, certains taureaux refusent le vagin artificiel ou sont dans l'impossibilité d'assurer la monte suite à une arthrite ou à une douleur au niveau du train postérieur. Dans ces conditions, le prélèvement peut être réalisé par électro-éjaculation.

### **II.1.2. Electro-éjaculation**

L'électro-éjaculation s'accomplit par stimulation électrique des muscles lisses de l'ampoule et du canal déférent à l'aide d'une sonde intra-rectale et d'une source électrique avec contrôle de la tension. Elle permet d'obtenir le prélèvement de sperme à partir du taureau sans intervention des mécanismes normaux, sensoriels et psychiques de l'éjaculation.

Après contention de l'animal, l'électrode lubrifiée est introduite dans son rectum vidé au préalable. Puis, une série de stimulations répétées est appliquée au rectum, en augmentant progressivement l'intensité selon les instructions du fabricant jusqu'à l'érection complète et l'éjaculation de l'animal. Le sperme est recueilli par un appareil de récolte.

Les éjaculats recueillis par électro-éjaculation sont généralement d'un volume plus important et d'une concentration plus faible en spermatozoïdes que ceux recueillis par le vagin artificiel (SALISBURY et VANDERMARK, 1961). Cependant, le nombre total de spermatozoïdes, le pouvoir fertilisant et l'aptitude à la congélation ne semblent pas être affectés. L'utilisation de l'électro-éjaculation même durant une longue période (plus d'une année) n'a aucun effet néfaste sur la santé et sur la fertilité de l'animal (HASKOURI, 2001).

## **II.2. Evaluation de la qualité du sperme**

L'évaluation de la qualité du sperme a pour objectif d'apprécier ses caractéristiques afin de définir le niveau possible de sa dilution. Elle permet ainsi de préparer une semence correspondant à l'optimum biologique et économique recherché. Elle comporte des examens macroscopiques, microscopiques, physico-chimiques et biochimiques.

### **II.2.1. Examens macroscopiques**

Ils ont pour but d'apprécier le volume de l'éjaculat, sa couleur et sa viscosité.

- **Volume de l'éjaculat**

Le volume de l'éjaculat est lu sur le tube de collecte gradué. Ce volume varie de 0,5 à 14 ml, en fonction de l'âge, la race, l'alimentation, l'état de santé, les conditions de récolte ainsi que de la fréquence de récolte. Le volume moyen est de 6 ml chez un taureau adulte, tandis qu'il est de l'ordre de 2 ml chez le jeune.

- **Couleur du sperme**

Chez le taureau, la couleur normale du sperme est dans la plupart des cas ivoire-crème ou blanc-laiteux, blanc-jaunâtre (en fonction de la concentration de spermatozoïdes). La couleur de l'éjaculat peut varier du blanc clair au jaune brillant (EZEKWE, 1988). L'aspect est généralement homogène et crémeux (DJABAKOU *et al.*, 1984).

Le sperme pathologique peut avoir, selon les cas, une couleur brunâtre, rosée, bleuâtre, jaunâtre, rougeâtre ou grisâtre.

- **Viscosité du sperme**

Elle traduit la consistance du sperme et en même temps sa concentration en spermatozoïdes. Une bonne viscosité est probablement synonyme d'une bonne concentration en spermatozoïdes.

## **II.2.2. Examens microscopiques**

Ils comportent l'évaluation de la motilité, de la concentration en spermatozoïdes, du pourcentage en spermatozoïdes vivants et de la morphologie des spermatozoïdes.

- **Motilité**

C'est un élément d'appréciation de la vie ou de la mort des spermatozoïdes et de leur niveau de vivacité. Elle peut porter sur la semence globale après récolte (motilité massale et motilité individuelle) ou sur la semence diluée en s'intéressant aux spermatozoïdes individualisés (motilité individuelle).

- **Motilité massale**

Elle s'apprécie au microscope au grossissement x10. A l'examen microscopique d'une goutte de sperme non diluée, l'observateur s'intéresse aux mouvements et à l'effet du déplacement des spermatozoïdes dans le liquide séminal. A l'issue de l'observation, en fonction du mouvement de masse des spermatozoïdes, une note de 0 à 5 est attribuée à chaque éjaculat. Certains auteurs convertissent cette note en pourcentage fictif de spermatozoïdes mobiles. L'exigence minimale pour un éjaculat correspond à un bon mouvement de masse qui doit être tourbillonnant [une note supérieure à 3 (environ 60% de spermatozoïdes mobiles)] (Tableau I).

**Tableau I** : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité massale

Note	0	1	2	3	4	5
% de spermatozoïdes mobiles	0%	Environ 20%	Environ 40%	Environ 60%	Environ 80%	Près de 100%

Source : Présentation de la coopérative de l'AIGLE.

<http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm>, page consulté le 12 Septembre 2007

### ➤ Motilité individuelle

Elle s'apprécie au microscope au grossissement x40. C'est l'appréciation du mouvement des spermatozoïdes par leur déplacement à travers le champ microscopique. Les mouvements normaux des spermatozoïdes sont oscillatoires et progressifs. Ce test se réalise sur du sperme dilué à 1/10 de sérum physiologique. Il permet de déterminer approximativement le taux de spermatozoïdes vivants et d'affecter au sperme une note allant de 0 à 5 (Tableau II). Un bon sperme doit avoir au moins 60 à 70 % de spermatozoïdes vivants.

**Tableau II** : Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité individuelle, dans une grille de notation de 0 à 5.

Critères	Notes
Absence de spermatozoïdes : azoospermie	0
Absence de spermatozoïdes vivants : spermatozoïdes morts (absence de mobilité)	1
25% de spermatozoïdes vivants	2
60% de spermatozoïdes vivants	3
80% de spermatozoïdes vivants	4
100% de spermatozoïdes vivants	5

### • Concentration du sperme

Elle peut être déterminée par :

- comptage direct des spermatozoïdes en utilisant la cellule de THOMA sur du sperme dilué à 3% de Na Cl ;
- l'utilisation de la densité optique ;
- l'utilisation de compteur électronique ;
- la détermination du volume cellulaire par centrifugation.

Après comptage des spermatozoïdes, en utilisant la cellule de THOMA, le nombre de spermatozoïdes est déterminé par la formule suivante :  $C=N \times 4 \times 10 \times d$ , avec :

- N : le nombre de spermatozoïdes (spz) dans quatre grandes carrées de la cellule de THOMA ;
- C : la concentration en spermatozoïdes du sperme ;
- x4 : puisque la cellule contient 16 carrées ;
- x10 : profondeur de la chambre ;
- d : taux de dilution.

Le bon sperme a une concentration supérieure à  $0,5 \cdot 10^9$  spermatozoïdes/ml.

- **Pourcentage de spermatozoïdes vivants**

La détermination se fait à l'aide de colorants spéciaux (Eosine nigrosine, bleu de méthylène ou bleu de bromophénol) qui peuvent traverser la membrane des spermatozoïdes morts et les différencient donc des vivants. En fonction du taux de spermatozoïdes vivants, une note est attribuée à chaque éjaculat et varie de 0 à 5 (Tableau II).

- **Morphologie des spermatozoïdes**

L'examen morphologique permet de différencier les spermatozoïdes normaux des anormaux et les spermatozoïdes vivants des morts. Cette méthode est basée sur la coloration sélective de certains organes selon qu'ils soient normaux ou anormaux ou selon que les cellules soient mortes ou vivantes. La morphologie est appréciée sur des frottis de sperme colorés (encre de Chine, Giemsa, Eosine-aniline ou bleu de bromophénol). Pour être admissible, le sperme doit contenir moins de 25% de spermatozoïdes anormaux et plus de 60 % de spermatozoïdes vivants (note  $\geq 3$  : tableau II).

### **II.2.3. Etude physico-chimique et biochimique du sperme**

L'activité métabolique des spermatozoïdes est un important indicateur de la qualité du sperme. L'évaluation peut se faire par plusieurs moyens tels que la mesure du pH (DERIVAUX, 1971), l'indice de fructolyse, la réduction du bleu de méthylène, le test de résistance au NaCl, l'oxydation du pyruvate (MELROSE et TERNER, 1952), la réduction de la résazurine, etc. Le pH normal du sperme est proche de la neutralité (pH=7) avec de faibles variations (6,8 à 7,2). Mais plusieurs auteurs cités par TRAORE (1996) préconisent qu'il est légèrement acide car le pH peut descendre à 6,5.

### **II.2.4. Analyse du spermogramme**

La décision de garder ou détruire le sperme récolté est fonction des résultats que fournit l'examen de sa qualité. Les normes communément admises pour l'évaluation de la qualité d'un éjaculat dans le cadre de son utilisation pour l'insémination artificielle sont (PAREZ et THIBIER, 1983) :

- volume  $> 1$  ml ;
- concentration supérieure à  $0,5 \times 10^9$  par ml ;
- motilité supérieure ou égale à 3 ;
- pourcentage de spermatozoïdes vivants  $> 60\%$  ;
- taux de spermatozoïdes sans anomalies majeures  $> 80\%$  ;
- pH compris entre 6,5 et 7,2.

Divers facteurs tels que le mode de collecte, l'hygrométrie, la température, la pluviométrie, la saison et l'alimentation peuvent influencer la variation du spermogramme.

## **II.3. Préparation et conservation de la semence**

### **II.3.1. Principe**

La semence est le sperme préparé (dilué - conditionné - conservé) par une technique appropriée en vue de son emploi en insémination artificielle. En effet, un éjaculat contient un nombre de spermatozoïdes supérieur à ce qui est requis pour une insémination. Selon plusieurs auteurs rapportés par TRAORE (1996), au moment de l'insémination, une paillette doit contenir au minimum 8-10 millions de spermatozoïdes mobiles après dégel. Selon le même auteur, il a été admis qu'une paillette de semence bovine doit contenir au moins 15 à 20.10<sup>6</sup> spermatozoïdes avant congélation. Prenant en compte les pertes liées à la congélation et à la décongélation, certains auteurs préconisent la concentration de 30 à 40.10<sup>6</sup> spermatozoïdes par dose au conditionnement.

Ainsi, la préparation de la semence a pour objectifs :

- d'accroître le volume (dilution) de telle façon qu'un plus grand nombre de femelles puissent être inséminées ;
- de protéger les spermatozoïdes pour qu'ils puissent supporter sans dégradation la succession des opérations de refroidissement, congélation et décongélation ;
- de conditionner et conserver une dose individuelle qui servira à l'insémination de la vache.

### **II.3.2. Techniques de préparation et conservation de la semence**

L'éjaculat accepté, en fonction des résultats de son évaluation, doit passer par plusieurs étapes avant d'être mis en paillettes et conservé dans l'azote liquide.

#### **✓ Dilution**

Le milieu de dilution doit être non toxique pour les spermatozoïdes, cryoprotecteur et réduire le développement microbien. Ainsi, les substances bactéricides ou bactériostatiques [Sulfanilamide (0,3 %), la pénicilline (500 à 1000 UI/ml), la streptomycine (1mg/ml)] sont additionnées aux milieux de dilution. Les milieux les plus utilisés (Tableau III) sont à base de lait préchauffé, écrémé et dont le pouvoir protecteur est accru avec addition de 10% de jaune d'œuf de poule et d'antibiotique ; ou à base de solution de citrate de sodium (2,9%) additionné au jaune d'œuf (25%). Dans l'optique de limiter tous les risques possibles de transmission des pathologies entre espèce, l'utilisation des milieux de dilution synthétiques est de plus en plus courante.

Le taux de dilution dépend de la concentration en spermatozoïdes souhaitée dans la dose de semence, du volume et de la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat prélevé.

**Tableau III** : Composition des dilueurs les plus utilisés

Milieu à base de jaune d'œuf et de citrate de sodium	Milieu IVT (Illinois, Variable, Temperature)	Milieu à base de lait de vache (LAICIPHOS <sup>ND</sup> )
Citrate de sodium 2,9 % Jaune d'œuf 25 % Glycérol 7,5 % Antibiotiques	Bicarbonate de soude 0,2 g Citrate trisodique (2H <sub>2</sub> O) 2 g Chlorure de potasse 0,04 g Glucose 0,3 g Jaune d'œuf 10 % Antibiotiques	Lait 54% Jaune d'œuf 10% Glycérol 6% Antibiotiques

Source : NAGASE et NIWA cités par LAMINO, 1999

La réalisation pratique de la dilution se fait en deux étapes. Elle consiste à :

- ☞ diluer avec la moitié du diluant contenant 3 % de glycérol (faiblement toxique pour les spermatozoïdes à 30°C) et à réfrigérer de façon progressive à 5°C. Notons que le refroidissement peut se faire aussi après la dilution finale, selon la pratique du centre et le dilueur utilisé ;
- ☞ effectuer la 2<sup>ème</sup> phase de dilution (la glycérolisation). Ajouter progressivement à 5°C (1/4 toutes les 15 mn), le reste du dilueur à 11 % de glycérol (ou 14 % si la première dilution n'en contenait pas). Le glycérol se trouve alors à un volume de 7 %. Le taux final de glycérol ajouté à la solution est fixé, pour des problèmes de toxicité, à 7%.

Le glycérol, par ses effets cryoprotecteurs, permet :

- un ralentissement du processus de cristallisation extra et intra cellulaire, ainsi que la formation de cristaux plus petits et cela de façon réversible ;
- une atténuation du choc osmotique en réduisant la quantité d'eau qui se transforme en glace ;
- une protection des membranes cellulaires en réduisant le phénomène de dislocation cellulaire.

#### ✓ Refroidissement et équilibrage de la semence

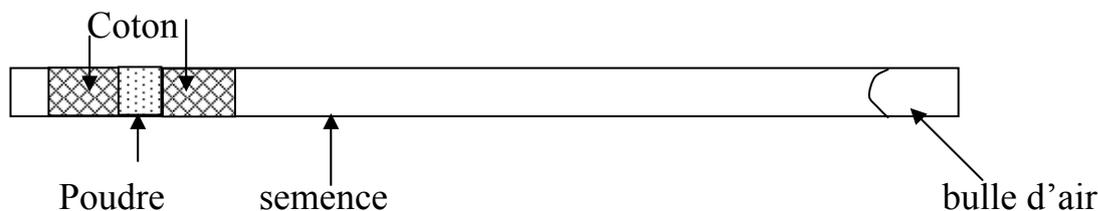
Pour éviter la détérioration de la qualité de la semence, la température est abaissée jusqu'à +5°C. Le métabolisme des spermatozoïdes est ainsi réduit. Le refroidissement peut se faire pendant ou après la dilution. La vitesse de refroidissement doit être rapide pour réduire au maximum la durée du passage dans la zone critique de température mais aussi suffisamment lente pour éviter le choc thermique. La température de +5°C est obtenue après un refroidissement progressif en une heure 30 minutes, maximum dans une vitrine réfrigérée. Il peut être nécessaire d'ajouter de la glace à partir de +15°C.

Pour permettre aux spermatozoïdes de perdre une partie de l'eau de façon à réduire la cristallisation intra cellulaire, il faut laisser équilibrer 3 à 5 heures, avant le conditionnement et la congélation de la semence.

Cette période dite « d'équilibration » est considérée comme le temps nécessaire aux spermatozoïdes pour s'adapter au milieu qui leur est imposé (contact avec le glycérol du dilueur).

### ✓ Conditionnement de la semence

Il consiste à fractionner la semence en doses fécondantes destinées à être utilisées à court, moyen ou long terme. La forme de conservation la plus courante et la plus pratiquée reste les paillettes. Ce sont des tubules spéciaux en matière plastique creuses avec des volumes de 0,25 ou 0,5ml. Elles sont ouvertes sur un côté avec 2 boules de coton pour pousser la semence (Figure 5). L'autre côté est soudé automatiquement après remplissage de la paillette par une machine de remplissage et de soudage. Lorsque la semence est destinée à une utilisation lointaine la paillette fait l'objet d'une identification. Elle va porter ainsi les renseignements sur la traçabilité de la semence (le nom du géniteur, race, numéro de code, date de récolte, N° de récolte, centre ou lieu de production, etc.).



**Figure 5** : Schéma d'une paillette « CASSOU »

### ✓ Conservation

La conservation est fonction du mode d'utilisation de la semence. Ainsi :

- pour une utilisation directe, les semences en paillettes sont maintenues dans un bain-marie (thermos) à la température de 36-38°C ;
- pour une utilisation de la semence dans 24 à 48 h, la semence peut se conserver au frais. Les dilueurs utilisés permettent la conservation du pouvoir fécondant des spermatozoïdes à +5°C pendant 46 à 72 heures ;
- pour une utilisation à long terme, après le conditionnement, la conservation de la semence se fait dans une bonbonne contenant de l'azote liquide à -196°C. La congélation est progressive et peut se faire à l'aide de machines spécialisées ou de façon manuelle. Les paillettes sont d'abord congelées à -140°C au dessus d'une vapeur d'azote liquide pendant 9 mn, puis plonger dans l'azote liquide.

Après quelques jours, un test de congélabilité de la semence est réalisé avant sa conservation. C'est un test de vitalité des spermatozoïdes après décongélation renvoyant à l'examen de motilité individuelle. Si la semence présente une bonne congélabilité, elle est retenue et conservée pour une utilisation future en insémination artificielle.



**PARTIE EXPERIMENTALE**

## **Chapitre I : MATERIEL ET METHODES**

### **I.1. Matériel**

#### **I.1.1. Milieu d'étude : Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de Dahra**

Le centre national d'amélioration génétique où nous avons effectué notre travail, est localisé à trois kilomètres de la ville de Dahra sur la route de Linguère (Région de Louga). Créé par l'arrêté n°006137 du 09 novembre 2005, le Centre d'Amélioration Génétique (CAG) a été désormais dénommé CNAG à partir du 20 juin 2006. Les premières paillettes de semences ont été produites en mai-juin 2006. Les premières inséminations-tests ont été effectuées à Louga, Mbacké, Touba, Dahra et Linguère. Le CNAG a pour mission :

- d'assurer l'autonomie en matière d'approvisionnement en semences ;
- de contribuer à la valorisation du cheptel exotique laitier ;
- de coordonner les activités d'amélioration génétique ;
- d'assurer le contrôle de performances zootechniques et l'évaluation génétique ;
- de contribuer à la formation technique des éleveurs et des inséminateurs.

Actuellement, le centre dispose de deux taureaux de race Montbéliarde et deux de race Holstein. Les critères de sélection des taureaux sont les suivants :

- ✓ l'âge compris entre 18 et 24 mois ;
- ✓ être sans expérience sexuelle pour faciliter l'entraînement à la récolte et l'acceptation du vagin artificiel ;
- ✓ être cliniquement sain, indemne d'affections génitales et des maladies infectieuses transmissibles (annexe 2 : certificat sanitaire) ;
- ✓ avoir fait l'objet d'un contrôle de performances individuelles et obtenu un agrément zootechnique pour son utilisation en IA (annexe 1: fiche zootechnique).

L'équipe du CNAG, pour mener à bien sa mission, travaille étroitement avec les producteurs, les coopératives de collecte de lait, les entreprises de transformation laitière et les professionnels de l'élevage.

#### **I.1.2. Matériel animal**

Dans notre étude, pour la récolte du sperme, nous avons utilisé un taureau Holstein âgé de 24 mois et d'un poids de 598 kg. Ce taureau est alimenté avec du fourrage, complémenté par les concentrés, minéraux et vitamines.

Par ailleurs, pour apprécier la fécondité des taureaux du CNAG, nous avons réalisé un suivi des vaches inséminées avec les semences produites par le CNAG. Il s'agit de 56 vaches de races locales en stabulation dans les centres de Dahra et Louga.

### **I.1.3. Autre matériel**

#### **✓ Matériel de collecte du sperme**

Il comprend le vagin artificiel, les manchons de protection (contre les rayons ultra-violet) pour tube et cône et le taureau boute-en-train.

#### **✓ Matériel d'évaluation du sperme**

Il est constitué de microscope trinoculaire à contraste de phase couplé à un écran téléviseur, de plaque chauffante, de lames et de lamelles, de spectrophotomètre digital complet pour sperme bovin et de bain-marie.

#### **✓ Matériel de dilution du sperme (préparation de la semence)**

Il est constitué de biberon, de Bain marie, d'Erlermeyer en pyrex, d'éprouvettes graduées, de thermomètre à mercure (+10° - +110°C), d'un agitateur magnétique chauffant, de barreau aimanté et de milieu de dilution « BIOXCELL™ ».

Le milieu de dilution « BIOXCELL™ » est une solution saline concentrée additionnée d'un mélange de glycérol, d'un substitut de jaune d'œuf et d'antibiotiques (Lincomycine, Spectinomycine, Gentamycine, Tylosine). C'est un dilueur indiqué pour la préparation des doses de semence fraîche (+4°C) ou destinées à la congélation (-196°C). Il est facile à préparer et maintient la bonne fécondité dans des doses de sperme contenant de basses concentrations en spermatozoïdes.

#### **✓ Matériel de refroidissement et d'équilibration**

Il comprend une vitrine réfrigérée, des glaces et un thermomètre.

#### **✓ Matériel d'impression des paillettes**

Il comprend une machine électrique pour impression automatique des paillettes, un flacon d'encre noire pour impression des paillettes, un flacon de diluant pour encre noire, une plaquette pour marquage de la date, d'une toile adhésive transparente et d'un distributeur cleaner.

#### **✓ Matériel de conditionnement de la semence**

Il comprend des paillettes 0,25ml transparentes et une machine automatique de remplissage et de soudure des paillettes de 0,25ml.

### ✓ **Matériel de pré-congélation**

Il comprend un digitcool couplé à un tank d'azote liquide (congélation verticale), un ordinateur couplé à une boîte de commande et des rampes pour contenir les paillettes conditionnées.

### ✓ **Matériel de congélation et de conservation de la semence**

Il comprend une réglette, une bonbonne d'azote liquide, des canisters, l'azote liquide et des gobelets.

### ✓ **Matériel de décongélation des paillettes**

Il comprend un décongeleur et un thermomètre

### ✓ **Matériel de production d'eau distillée**

Il comprend un distillateur d'eau relié à un robinet et un bidon pour stocker l'eau distillée.

### ✓ **Matériel stérilisation**

Il comprend une étuve à vagins artificiels et un stérilisateur (40-220°C, 250-300 litres, avec minuterie).

## **I.2. Méthodes**

### **I.2.1. Prélèvements du sperme**

A la veille de la récolte, l'opérateur doit :

- ☞ laver les animaux ;
- ☞ faire un examen général ;
- ☞ couper les poils longs du prépuce.

Le jour de la récolte, l'opérateur doit :

- ☞ laver le train postérieur et la région génitale. Avec une solution d'eau de javel, la région du fourreau est nettoyée avant chaque monte, lors de la récolte ;
- ☞ faire le séchage des animaux, pour éviter les souillures.

Le sperme a été prélevé en mai 2007 à l'aide du vagin artificiel avec une fréquence de deux récoltes par semaine (Mardi et Jeudi). A chaque récolte, deux prélèvements ont été réalisés à intervalle de 10 minutes au moins. Au total, 10 éjaculats ont été prélevés.

Ces prélèvements ont lieu dans une salle de récolte équipée d'un dispositif en tube métallique permettant la contention du taureau boute-en-train. Le sol de la salle de récolte est bétonné ; ce qui présente un avantage pour le nettoyage et la désinfection. L'aire de monte est sableuse, pour éviter les glissements des taureaux au moment de la monte et de la descente. Elle doit être arrosée pour éviter la pollution par les poussières, entretenue proprement. Le sable de l'aire de monte doit être renouvelé régulièrement.

Le temps de préparation dure environ 10 minutes et comprend deux ou trois fausses montes pour la mise en condition physique. Tous les prélèvements ont eu lieu très tôt le matin, entre 04 et 08 heures. Aussitôt après la récolte, le tube de sperme est acheminé au laboratoire et est placé au bain-marie (+36°C), pendant le temps que requiert son examen.

### I.2.2. Caractéristiques du sperme après récolte

Le sperme récolté a été aussitôt examiné à l'œil nu puis, au microscope et ses caractéristiques (volume, couleur, motilité massale, motilité individuelle, concentration) ont été enregistrées. Le volume et la couleur ont été appréciés visuellement. Le volume a été lu sur le tube de collecte gradué. La motilité est appréciée par l'observation visuelle sur un écran de télévision relié au microscope. Une goutte déposée directement sur la lame est observée au grossissement x10 pour évaluer la motilité massale. Une autre goutte plus fine déposée entre lame et lamelle est visualisée au grossissement x40 pour l'évaluation de la motilité individuelle. Une note est donnée sur une échelle allant de 0 à 5, pour la motilité massale et en pourcentage pour la motilité individuelle. La concentration en spermatozoïdes, exprimée en milliards de spermatozoïdes ( $10^9$ spz/ml), est déterminée automatiquement à l'aide d'un spectrophotomètre.

Ne sont retenus pour la dilution et la conservation que les éjaculats dont la motilité de masse a une note d'au moins 3, la motilité individuelle correspond à 60% de spermatozoïdes « fléchants » et la concentration est supérieure à  $0,5 \cdot 10^9$  spermatozoïdes par millilitre (Tableau IV).

**Tableau IV : Seuil d'acceptabilité des éjaculats au CNAG**

<b>Caractère</b>	<b>Seuil d'acceptation</b>	
Bactériologique	< 500 UFC / dose (500 – 5000 UFC/ dose)	
Biologique	Couleur	Blanc crémeux Blanc ivoire Blanc laiteux
	Volume de l'éjaculat	2,5 ml au moins
	Mobilité massale	≥3
	Mobilité individuelle	≥60%
	Anomalies	<20%
	Concentration en spz de l'éjaculat	1 milliard par ml
	Concentration en spz de la dose d'IA	Plus de 25millions

### **I.2.3. Préparation de la semence**

Les éjaculats répondant aux critères d'acceptabilité ci-dessus ont été retenus. Le milieu BIOXCELL™ a été utilisé comme milieu de dilution du sperme. En fonction du volume de l'éjaculat, de sa concentration et de la concentration souhaitée dans la dose d'insémination, le volume du dilueur et le nombre théorique de paillettes ont été déterminés à l'aide du spectrophotomètre.

La prédilution du sperme a été réalisée à l'aide d'un volume égal du milieu BIOXCELL™. Puis, le sperme ainsi tamponné a été incubé au bain-marie (+36°C) pendant 10 minutes environ. Enfin, la dilution finale a été réalisée par ajout du reste de volume de la solution de dilution au sperme tamponné.

### **I.2.4. Phases de refroidissement, d'équilibration et de conditionnement de la semence**

Pour abaisser la température de façon progressive, le flacon du sperme dilué a été placé dans un récipient contenant de l'eau du bain-marie (+36°C) jusqu'à concurrence du niveau du sperme dilué. Puis, ce récipient a été placé dans la vitrine réfrigérée (+4°C). La température de +4°C est obtenue après un refroidissement progressif en 1 heure 30 minutes. Il peut être nécessaire d'ajouter de la glace à partir de +15°C.

Après refroidissement à +4°C, la semence a été maintenue dans la vitrine réfrigérée pour équilibration pendant 4 - 5 heures. Les paillettes vides de 0,25 ml ont été identifiées et refroidies à la température de la semence (+4°C). Le fait de garder les paillettes imprimées et la semence à la même température permet d'éviter les chocs thermiques préjudiciables aux spermatozoïdes. L'identification se fait en inscrivant sur les paillettes, à l'aide d'un appareil approprié, le nom du taureau, sa race, la date et le lieu de préparation de la semence. Enfin, la semence a été conditionnée par un appareil automatique de remplissage et de soudage des paillettes.

### **I.2.5. Congélation et conservation de la semence**

Après les phases d'équilibration (+4°C) et de conditionnement de la semence, suit la phase de précongélation qui consiste à abaisser la température de +4°C à -140°C pendant 7 à 8 minutes par les vapeurs d'azote liquide dans un congélateur automatique « digitcool ». Puis, les semences précongelées ont été récupérées et plongées dans de l'azote liquide (-196°C) pour être congelées.

Vingt-quatre heures après cette phase, le test de congélabilité a été réalisé sur deux paillettes prises au hasard pour chaque jour de récolte. Il consiste à l'appréciation motilité individuelle de la semence, 24 heures après congélation. L'objectif de ce test est de voir si les spermatozoïdes ont supportés les différents traitements qui leur ont été imposés. Si le résultat est positif, alors les paillettes sont transférées vers la banque de stocks (-196°C) pour longue conservation.

Par ailleurs, cette appréciation qualitative a été réalisée après chaque phase de la technologie de la semence et doit se faire avant chaque livraison des semences aux inséminateurs. La décongélation des paillettes se fait dans l'eau tiède à +37°C pendant 30 secondes.

### **I.2.6. Evaluation de la qualité fécondante des semences produites par le CNAG**

Pour étudier la qualité fécondante des semences produites par le CNAG, nous avons assuré un suivi des vaches inséminées artificiellement. Les semences de 4 taureaux (Holstein et Montbéliarde) présents au CNAG de Dahra ont été utilisées pour ces inséminations. Les vaches (56 vaches) inséminées sont de races locales en stabulation dans les enclos des centres de Dahra et de Louga.

A l'issue des inséminations, il a été organisé deux visites :

- ☞ une première visite, pour le diagnostic de gestation ;
- ☞ une deuxième visite, après les mises bas (9 mois après IA), avec pour objectif de recenser le nombre des mises bas et d'évaluer l'état des produits d'inséminations.

Le diagnostic de gestation a été effectué soixante jours (deux mois) après la réalisation des inséminations. La méthode de diagnostic de gestation mise en œuvre est la palpation manuelle transrectale de l'appareil génital des vaches inséminées.

### **I.2.7. Analyses statistiques**

Les données ont été saisies et organisées à l'aide du tableur Excel. Le logiciel Epi-info a été utilisé pour l'analyse de la variance (ANOVA) des résultats. Le seuil de signification de ce test a été fixé à une probabilité de 5%.

## Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION

### II.1. Résultats

#### II.1.1. Prélèvements et Caractéristiques du sperme

Après le temps de préparation physique des animaux, la monte est immédiate. Le vagin artificiel est accepté sans problème. Lorsqu'il est bien préparé et sa température bien réglée (38°C), l'éjaculation est généralement immédiate chez le taureau. Les caractéristiques des dix éjaculats récoltés ont été présentées dans le tableau V.

**Tableau V** : Caractéristiques des éjaculats récoltés

N° de jour	Première récolte					Deuxième récolte				
	V (ml)	couleur	Conc. (10 <sup>9</sup> spz/ml)	Mot. de masse (0-5)	Mot. Indiv. (%)	V (ml)	couleur	Conc. (10 <sup>9</sup> spz/ml)	Mot. de masse (0-5)	Mot. Indiv (%)
1	3	Bl. cr.	1,53 <sup>a</sup>	4	75	5	Bl. lt.	1,23 <sup>b</sup>	3,5	75
2	5,5	Bl. cr.	2,62 <sup>a</sup>	4,5	85	3	Bl. lt.	1,49 <sup>b</sup>	4	75
3	5	Bl. lt.	1,93 <sup>a</sup>	3	70	4	Bl. iv.	0,99 <sup>b</sup>	3	70
4	4	Bl. cr.	1,55 <sup>a</sup>	4	75	3,5	Bl. lt.	1,00 <sup>b</sup>	3	70
5	5	Bl. iv.	2,51 <sup>a</sup>	3,5	70	4,5	Bl. iv.	1,47 <sup>b</sup>	4	75

Les concentrations de la même ligne indexées des lettres différentes sont statistiquement différentes.

- Bl. cr. : blanche crémeuse	- V : volume
- Bl. lt. : blanche laiteuse	- Conc. : concentration
- Bl. iv. : blanche ivoire	- Mot. de masse : motilité de masse
- Mot. indiv. : motilité individuelle	

Les caractéristiques moyennes des dix éjaculats récoltés se présentent ainsi dans le tableau VI.

**Tableau VI** : Caractéristiques moyennes des éjaculats récoltés

Caractéristiques	Première récolte	Deuxième récolte	1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> récoltes
<b>Volume (ml)</b>	4,5 ± 1	4 ± 0,79	4,25 ± 0,89
<b>Motilité massale (échelle 0-5)</b>	3,8 ± 0,57	3,5 ± 0,5	3,65 ± 0,53
<b>Motilité individuelle (%)</b>	75 ± 6,12	73 ± 2,74	74 ± 4,59
<b>Concentration (10<sup>9</sup> spz/ml)</b>	2,03 ± 0,52	1,24 ± 0,24	1,632 ± 0,565

Les variations de volume et des motilités massale et individuelle ne sont pas significatives (p>0,05). Toutefois, les concentrations des éjaculats présentent des variations significatives (p<0,05) par rapport au numéro de la récolte. Tous les éjaculats récoltés répondant aux normes fixées par le centre, ils ont été retenus pour la préparation des semences.

## II.1.2. Préparation de la semence

Le volume du dilueur est déterminé en fonction :

- ✓ du volume de l'éjaculat ;
- ✓ de la concentration de l'éjaculat en spermatozoïdes ;
- ✓ du nombre de spermatozoïdes souhaité par dose d'insémination.

Le volume de la semence, le volume de la solution de dilution ainsi que le nombre de paillettes par éjaculat sont résumés dans le tableau VII.

**Tableau VII** : dilution du sperme et préparation des paillettes

	N°	sperme		semence			
		volume	concentration (x10 <sup>9</sup> spz/ml)	concentration par dose	volume total	volume dilueur	nombre de paillettes
1 <sup>ère</sup> récolte	1	3	1,529	25.10 <sup>6</sup> spz	45,87	42,87	183
	2	5,5	2,624	25 .10 <sup>6</sup> spz	144,32	138,82	577
	3	5	1,926	25 .10 <sup>6</sup> spz	96,3	91,3	385
	4	4	1,545	25 .10 <sup>6</sup> spz	61,8	57,8	247
	5	5	2,507	25 .10 <sup>6</sup> spz	125,35	120,35	501
2 <sup>ème</sup> récolte	1	5	1,227	25 .10 <sup>6</sup> spz	61,35	56,35	245
	2	3	1,486	25 .10 <sup>6</sup> spz	44,58	41,58	178
	3	4	0,991	25 .10 <sup>6</sup> spz	39,64	35,64	158
	4	3,5	1,002	25 .10 <sup>6</sup> spz	35,07	31,57	140
	5	4,5	1,465	25 .10 <sup>6</sup> spz	65,925	61,425	263

Au total, 2877 paillettes ont été produites avec 10 éjaculats.

## II.1.3. Test de congélabilité

Le test de congélabilité a donné des résultats mentionnés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII** : Résultats du test de congélabilité

N° paillette	spz/dose (10 <sup>6</sup> )	avant congélation		après dégel		
		motilité individuelle en %	spz vivants (10 <sup>6</sup> )	Motilité individuelle en %	spz vivants (10 <sup>6</sup> )	taux de survie de spz (%)
1	25	75 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>	60 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	80
2	25	85 <sup>a</sup>	21,25 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>	17,5 <sup>b</sup>	82,35
3	25	70 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>	55 <sup>b</sup>	13,75 <sup>b</sup>	78,57
4	25	75 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>	60 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	80
5	25	70 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>	12,5 <sup>b</sup>	71,43
6	25	75 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>	60 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	80
7	25	75 <sup>a</sup>	18,75 <sup>a</sup>	55 <sup>b</sup>	13,75 <sup>b</sup>	73,33
8	25	70 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>	55 <sup>b</sup>	13,75 <sup>b</sup>	78,57
9	25	70 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>	60 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	85,71
10	25	73 <sup>a</sup>	18,25 <sup>a</sup>	65 <sup>b</sup>	16,25 <sup>b</sup>	89,01
Moyenne	25	73,8 <sup>a</sup>	18,45 <sup>a</sup>	59 <sup>b</sup>	14,75 <sup>b</sup>	79,897

Les chiffres de la même ligne indexés des lettres différentes sont statistiquement différents.

Le taux de survie des spermatozoïdes varie de 71,43 - 89,01%. Il existe des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de spermatozoïdes vivants avant congélation et après congélation et décongélation.

#### II.1.4. Résultats du programme-test des semences produites par le CNAG

Les résultats du programme-test des semences produites par le CNAG sont présentés dans les tableaux IX et X. Les centres de Dahra et de Louga ont été choisis comme centres d'application.

**Tableau IX** : Résultats du diagnostic de gestation des vaches inséminées

Race du taureau	Centre	Nombre de vaches inséminées	vaches gestantes	
			nombre	Pourcentage
Holstein	Dahra	34	19	55,88
	Louga	14	5	35,71
Montbéliarde	Louga	8	4	50
<b>Total</b>		<b>56</b>	<b>28</b>	<b>50</b>

Au total, deux mois après IA, 28 vaches sur 56 ont été diagnostiquées gestantes par palpation transrectale ; soit un taux de gestation de 50%.

**Tableau X** : Résultats des mises bas

Race du taureau	Centre	Nombre de vaches inséminées	Nombre de vaches gestantes	Avortement	Mises bas	
					nombre	pourcentage
Holstein	Dahra	34	19	2	17	50
	Louga	14	5	0	5	35,71
Montbéliarde	Louga	8	4	0	4	50
<b>Total</b>		<b>56</b>	<b>28</b>	<b>2</b>	<b>26</b>	<b>46,43</b>

Dans le centre de Dahra, après le diagnostic de gestation, deux avortements ont été enregistrés. Ainsi, à Dahra, 17 vaches ont vêlé ; soit 50% des vaches inséminées. Globalement, le taux de vêlage par rapport aux vaches inséminées est de 46,43%.

## II.2. Discussion

### II.2.1. Prélèvements du sperme

Les prélèvements se font aux moments les plus frais de la journée et ceci pendant les saisons les plus fraîches de l'année. Cette programmation permet d'éliminer les effets négatifs de la chaleur sur la production du sperme. En effet, la chaleur porte atteinte à la spermatogenèse.

## II.2.2. Caractéristiques du sperme récolté

La caractérisation du sperme récolté fait appel à des tests de laboratoire. Ce jugement effectué lors de la récolte du sperme permet d'opérer un premier tri en ne conservant que les éjaculats répondant aux normes du centre (FOOTE, 1988).

Les volumes des éjaculats récoltés varient de 3 ml à 5,5 ml avec une moyenne de  $4,25 \pm 0,89$  ml. Ce volume est supérieur à celui (3,43ml) rapporté par ADAMOU-N'DIAYE (1994) sur les taureaux de race Borgou au Bénin. L'éjaculat est accepté par le CNAG, si le volume est supérieur ou égal à 2 ml. Ce qui correspond aux critères fixés par THIBIER (1991).

Il a été constaté que la couleur n'est pas constante chez un même taureau. Pour les éjaculats récoltés, les couleurs enregistrées (blanc laiteux, blanc ivoire, blanc crémeux) sont satisfaisantes. En effet, selon EZEKWE (1988), la couleur de l'éjaculat peut varier du blanc clair au jaune brillant. Cette variation normale de la couleur du sperme peut être liée à la teneur de l'éjaculat en spermatozoïdes ou à la présence des pigments lipochromes sans rapport avec l'alimentation.

La concentration moyenne de  $1,632 \pm 0,565.10^9$  spz/ml se répartit, selon les éjaculats extrêmes, entre  $0,991.10^9$  spz/ml et  $2,624.10^9$  spz/ml. Elle est supérieure à celle ( $1,214.10^9$  spz/ml) des taureaux de race Borgou rapportée par ADAMOU-N'DIAYE (1994). La limite minimale d'acceptation par le CNAG est fixée à  $10^9$  spz/ml. Ce qui est supérieur aux limites ( $0,6.10^9$  spz/ml) rapportées par THIBIER (1991) et ROSENBERG (1979). La concentration de  $0,991.10^9$  spz/ml est inférieure à la limite minimale d'acceptation par le CNAG. Cependant, elle est largement supérieure aux limites de  $0,6.10^9$  spz/ml. Après appréciation des autres paramètres et vu sa valeur très proche de la limite minimale, elle a été retenue pour dilution.

La méthode utilisée pour apprécier la motilité permet d'avoir une idée sur la présence ou non d'anomalies et de cellules étrangères. La limite minimale d'acceptabilité par le CNAG est fixée à 60%, pour la motilité individuelle et à 3, pour la motilité massale. Ces limites s'accordent avec celles fixées par THIBIER (1991) et ROSENBERG (1979). Le pourcentage des spermatozoïdes vivants n'a pas été évalué de façon précise, faute de matériel.

La motilité massale dépend essentiellement de trois facteurs à savoir le pourcentage des spermatozoïdes mobiles, la vitesse de déplacements des spermatozoïdes et la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat. Dans notre étude, la motilité de masse moyenne obtenue est de  $3,65 \pm 0,53$ . Ce qui est inférieur à la valeur rapportée par ADAMOU-N'DIAYE (1994) sur les taureaux de race Borgou (3,85). Cette différence pourrait être due aux valeurs élevées des proportions de spermatozoïdes mobiles dans les éjaculats récoltés sur les taureaux de race Borgou.

La motilité individuelle des spermatozoïdes est considérée comme bonne lorsqu'ils traversent le champ du microscope rapidement (spermatozoïdes fléchants). Les spermatozoïdes ayant mouvements circulaires, curviligne ou plus lents sont anormaux. Dans notre étude, la motilité individuelle moyenne est de  $74 \pm 4,59$  % et comparable à celui des taureaux de race Borgou (75%) au Bénin (ADAMOU-N'DIAYE, 1994).

Cette méthode d'appréciation directe, au microscope est simple et rapide et ne demande pas beaucoup d'équipements. Toutefois, sa précision n'est pas satisfaisante, en raison de son caractère essentiellement subjectif. En effet, elle est très dépendante de l'opérateur et de son expérience. L'utilisation des analyseurs d'image de type CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) pourrait permettre de quantifier de manière plus précise la nature de la vitesse des déplacements des spermatozoïdes.

La motilité, la proportion des spermatozoïdes anormaux et la viabilité (taux de spermatozoïdes vivants/spermatozoïdes morts) de la semence sont les trois paramètres principaux utilisés afin d'évaluer sa qualité au laboratoire, avant son utilisation. Ces critères n'apportent une indication très valable que lorsqu'ils sont pris en compte simultanément. Toutefois, il est souvent difficile d'expliquer les variations de fertilité observées sur les vaches inséminées avec l'observation seulement au microscope. La cytométrie de flux est une méthode d'avenir qui permettra sans doute de préciser la fertilité et la qualité de la semence. En effet, cette méthode basée sur le marquage des spermatozoïdes par des fluorochromes permet d'analyser non seulement les paramètres décrits plus haut, mais aussi plusieurs paramètres cellulaires (intégrité du matériel génétique : ADN, intégrité des mitochondries : source principale d'énergie pour le sperme, l'état de capacitation et l'intégrité des membranes) qui affectent la fertilité des spermatozoïdes (RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2003).

### **II.2.3. Préparation de la semence**

Cette opération présente l'avantage d'utiliser un dilueur prêt à l'emploi. Celui-ci, dans sa composition, présente également l'avantage de ne pas contenir des protéines animales. En effet, la formule sans protéines animales du milieu de dilution BIOXCELL<sup>TM</sup> élimine les risques sanitaires liés à l'utilisation du lait et/ou du jaune d'œuf pour la dilution finale du sperme de bovin. L'absence du jaune d'œuf et/ou du lait dans le milieu de dilution BIOXCELL<sup>TM</sup> lui confère un aspect clair et limpide, ce qui rend le sperme dilué facile à évaluer. Le glycérol contenu dans ce dilueur joue un rôle de cryoprotecteur qui permet aux spermatozoïdes de recouvrer une bonne motilité après la décongélation de la semence à 37°C pendant 30 secondes.

Le protocole de préparation de la semence tient compte du refroidissement progressif et permet ainsi d'éviter un choc thermique aux spermatozoïdes.

Les semences produites sont conditionnées dans les paillettes à l'aide d'un appareil automatique de remplissage et de soudure. Ce qui augmente la précision dans leur remplissage. Le CNAG produit des paillettes de 0,25 ml avec une concentration en spermatozoïdes de  $25 \cdot 10^6$  spermatozoïdes/paillette. La concentration minimale en spermatozoïdes des paillettes, au conditionnement, étant de  $15 \cdot 10^6$ - $20 \cdot 10^6$ , cette concentration est satisfaisante. Elle donne une marge suffisante permettant d'espérer une survie de plus de 10 millions de spermatozoïdes par paillette, au moment de l'insémination. En effet, selon plusieurs auteurs rapportés par TRAORE (1996), à l'insémination, une paillette doit contenir au minimum 8-10 millions de spermatozoïdes mobiles après décongélation.

#### **II.2.4. Conservation de la semence**

Le type de conservation de la semence est conditionné par son utilisation ultérieure. Ainsi, après refroidissement, les semences peuvent être maintenues réfrigérées (IA avec les semences fraîches) ou congelées, pour les semences destinées à une longue conservation.

##### **➤ Refroidissement de la semence**

La température est le premier facteur influençant le métabolisme des cellules. En effet, un spermatozoïde peut être maintenu en vie à l'intérieur d'une gamme de température qui varie de  $+45^{\circ}\text{C}$  environ à  $-269^{\circ}\text{C}$  (température d'hélium liquide). Dans ces limites, plus la température est élevée ( $\geq +7^{\circ}\text{C}$ ), plus le métabolisme de la cellule est intense. Par ailleurs, SALISBURY et VANDEMARK (1961) soulignent une meilleure motilité, mais un temps de survie assez court à ces températures positives. Ainsi, la motilité des spermatozoïdes décroît avec la température de conservation et n'existe plus à des températures de  $+4$  et  $+5^{\circ}\text{C}$ . Le métabolisme à ces températures, est considérablement réduit (ADAMOUC-N'DIAYE, 1994). Cet état de vie ralentie accroît leur longévité. Ces phénomènes sont réversibles. En effet, un réchauffement à  $+38^{\circ}\text{C}$  permet ainsi de rétablir la motilité des spermatozoïdes. Il est donc possible de conserver des semences à  $+4^{\circ}\text{C}$  plus longtemps qu'à température ambiante.

Cependant, le refroidissement brusque de la semence peut entraîner un choc thermique conduisant à l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire (pertes des éléments essentiels : protéines, ATP, potassium, phosphore, lipides, etc.) des spermatozoïdes et aux altérations de l'acrosome. Ces phénomènes sont à l'origine d'une perte de motilité et du pouvoir fécondant. Ainsi, en plus des protecteurs de la membrane cellulaire contenus dans le dilueur, le refroidissement régulier et lent permet d'éviter ce problème. En effet, selon plusieurs auteurs (BLACKSHAW et SALISBURY ; MANN ; PICKETT et KOMAREK) cités par ADAMOUC-N'DIAYE (1994), lorsqu'on soumet du sperme pur à un refroidissement brusque, en portant sa température de  $+32$  à  $+4^{\circ}\text{C}$ , la vitalité des spermatozoïdes est annihilée.

Lorsqu'ils sont réchauffés, ils ne recouvrent pas leur motilité, leur activité respiratoire et leur activité métabolique.

Il importe donc de diluer le sperme avant le refroidissement et de refroidir le sperme dilué (la semence) de façon progressive, pour prévenir les effets néfastes du choc thermique. Plusieurs auteurs dont SALISBURY et VANDEMARK (1961) ont montré que le pouvoir fécondant des spermatozoïdes est accru de 6 à 9% lorsque l'éjaculat est dilué avant que la température ne soit abaissée. Dans la sous région, aucune référence bibliographique n'est disponible à ce sujet.

#### ➤ **Utilisation de la semence réfrigérée**

Une fois réfrigérée à +4°C, le maintien constant de la température est un facteur important pour la préservation de la fertilité de la semence (GERARD, 1991).

Dans le but de limiter les dépenses liées à la congélation (conservation en azote liquide), le centre peut envisager la production des semences fraîches, selon le besoin. En effet, par rapport à la production des semences congelées, la production de semences fraîches présente trois avantages (SAUVEROCHE, 1988) :

- ✓ le faible coût des installations ;
- ✓ la simplicité de la technologie ;
- ✓ de meilleurs résultats en termes de fécondité (COLAS et al., 1983).

La température de +4 ou +5°C qui a été adoptée pour conserver la semence fraîche est facile à obtenir et maintenir à l'aide d'un réfrigérateur et entrave déjà la prolifération de certains germes microbiens. La qualité de la semence est maintenue à cette température pendant 2 à 3 jours.

Toutefois, même si ces avantages sont réunis, la distribution n'est pas facile surtout pour les zones éloignées du centre. Ainsi, on pourrait envisager la production des semences fraîches pour les zones environnantes du centre, alors que les demandes des zones lointaines sont couvertes par les semences congelées. Par ailleurs, la génétique du taureau ne peut être conservée dans le temps et dans l'espace que par la congélation.

#### ➤ **Utilisation de la semence congelée**

Les phases de refroidissement et d'équilibration sont fondamentales, pour les semences destinées à la congélation. En effet, pour la congélation de la semence, l'abaissement de la température à +4°C constitue une des premières opérations à réaliser. En effet, un séjour préalable de la semence à +4°C est nécessaire avant d'amorcer la descente vers les basses températures [-79 (glace carbonique) ou -196°C (azote liquide)] (POLGE et ROWSON rapporté par ADAMOUM-N'DIAYE, 1994).

L'évaluation qualitative des paillettes, après 24h de congélation et avant la livraison des semences, permet de suivre la variation de la qualité des spermatozoïdes de la récolte à l'utilisation.

La proportion des spermatozoïdes mobiles dans le sperme dilué (semence), avant congélation et après dégel, est un élément précieux d'appréciation de sa qualité. Elle permet de connaître le nombre de spermatozoïdes vivants présents dans la dose prévue pour l'insémination, ainsi que la manière dont ils ont supportés les différentes manipulations. Plusieurs auteurs cités par ADAMOUM'N'DIAYE (1994) ont observé une corrélation positive entre le pourcentage des spermatozoïdes vivants et le taux de conception chez les vaches inséminées avec la semence non congelée ou congelée.

### **II.2.5. Test de congélabilité**

Cette évaluation sert à évaluer l'aptitude de la semence à être refroidie et conservée dans l'azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$ . Pour leur évaluation, les paillettes sont décongelées dans l'eau à  $+37^{\circ}\text{C}$  pendant 30 secondes.

Les paillettes produites sont de bonne qualité et peuvent ainsi être conservées pour l'utilisation ultérieure en insémination artificielle. Le nombre de spermatozoïdes vivants par paillettes, après dégel varie de 12,5 à 17,5 millions. Comparés aux normes (8-10 millions de spermatozoïdes mobiles après décongélation) fixées pour une paillette (TRAORE, 1996), au moment de l'insémination, ces chiffres sont très satisfaisants. Egalement, selon ADAMOUM'N'DIAYE (1994), dans la plupart des centres d'inséminations artificielles, dans les conditions habituelles de travail, il faut au moins 12 millions de spermatozoïdes pour inséminer une vache. Les différences significatives enregistrées sont justifiables par les pertes dues aux manipulations des spermatozoïdes avant congélation et au moment de la décongélation.

### **II.2.6. Résultats du programme-test des semences produites par le CNAG**

Les taux de gestation de 55,88% à Dahra, 35,71% et 50% à Louga, ainsi que le taux global de 50% sont comparables aux taux obtenus avec les semences importées. Selon plusieurs auteurs, la majorité des taux obtenus avec les semences importées est inférieure à 40%. La qualité de la semence est l'un des facteurs qui conditionnent la réussite de l'insémination artificielle. Les autres facteurs étant constants, la qualité de la semence est le seul facteur variable. Ce qui prouve une bonne qualité des semences produites par le CNAG, d'une part et une bonne fécondité des taureaux, d'autre part.

## PERSPECTIVES

Au Sénégal, comme dans d'autres pays en développement, l'insémination artificielle (IA) est de plus en plus utilisée avec de grandes différences suivant les systèmes d'élevage. Elle est largement pratiquée dans les élevages intensifs ou semi-intensifs. Au Sénégal, de nombreux projets ont installé et développé le service d'insémination artificielle dans le milieu rural dont le mode d'élevage est essentiellement extensif. Pour que ce service soit efficace et durable, il est important de maîtriser les facteurs liés non seulement à la pratique de l'IA mais aussi à son coût de revient. Beaucoup de travaux montrent que les coûts liés à l'importation et à la conservation des semences occupent des proportions importantes du coût de revient de l'IA. La satisfaction de la demande en semences par le CNAG permettra d'éliminer les coûts liés à l'importation des semences. Toutefois, les besoins en azote liquide pour la production et la conservation des semences augmentent. Il est donc souhaitable de maîtriser aussi bien la qualité des semences produites que le coût de revient de la semence. Des études devront être poursuivies pour une meilleure connaissance de la qualité et du coût de revient des semences produites. C'est pourquoi des axes de recherche ci-après seront suggérés au CNAG :

- ✓ la détermination du rythme de prélèvement convenable pour la préservation de la qualité du sperme prélevé dans les conditions africaines ;
- ✓ l'étude de la production des semences fraîches et de leur possibilité d'utilisation dans les zones environnantes du centre ;
- ✓ l'étude comparée des semences produites par le CNAG des semences importées, après dégel ;
- ✓ l'évaluation économique du coût de production de la semence produite par le CNAG ;
- ✓ l'étude de la qualité microbiologique de la semence. Le dénombrement des colonies de bactéries banales (UFC/ml) présentes dans la semence traitée donne une indication utile sur les normes d'hygiène observées dans le laboratoire de traitement de la semence.

## CONCLUSION

Depuis plusieurs années, l'insémination artificielle s'est beaucoup développée dans plusieurs pays au monde. Elle s'est révélée comme un puissant outil d'amélioration des productions animales. Cependant, elle reste encore peu utilisée dans les pays en voie de développement dont le Sénégal. Cela est dû, d'une part, à la méconnaissance de cette biotechnologie par la majorité des éleveurs et, à son coût de revient plus élevé, d'autre part. Ses coûts sont liés aux déplacements, sélection et déparasitage des animaux, achats des produits de synchronisation (PGF2 $\alpha$ , PMSG), de la semence et à l'IA proprement dite. Selon plusieurs auteurs, les coûts liés à l'importation des semences alourdissent le coût de revient de l'IA au Sénégal. L'utilisation des semences produites localement serait une alternative à envisager, pour réduire le coût de revient de l'IA.

Ainsi, cette étude a été initiée dans le but d'évaluer la qualité zootechnique des semences produites par le Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de Dahra au Sénégal. Elle porte sur l'appréciation de la qualité de la semence bovine produite au CNAG. En effet, nous avons pu évaluer la qualité du sperme à la récolte, décrire le processus de production et de conservation des semences et apprécier leur fécondité.

Ces études nous apportent une idée assez précise quant aux potentialités d'utilisation des semences produites par le CNAG au Sénégal. La bonne qualité des semences produites par le CNAG a été confirmée par les résultats de l'évaluation de leur fécondité réalisée sur 56 vaches locales inséminées. Toutefois, pour avoir des résultats fiables et reproductibles, il importe d'instaurer un système de contrôle qualité à toutes les étapes du processus de production et des analyses de la semence.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### **1. ADAMOU-N'DIAYE M., 1994**

Technologie du sperme de taureau de race Borgou. Thèse : Reproduction Animale : Tours (Faculté des Sciences et Techniques. Université François Rabelais), 94 TOUR 4015

### **2. BARRET J. P., 1992**

Zootechne générale.- Paris : Agriculture d'aujourd'hui, Sciences, Techniques, Applications.-180p.

### **3. COLAS G., MENISSIER F., COUROT M. et PAQUIGNON M., 1983**

Technologie de l'insémination artificielle et fertilité du mâle (53-75) In : Insémination artificielle et amélioration génétique : bilan et perspectives critiques.-Paris : INRA.- Les colloques de l'INRA, **29**

### **4. DERIVAUX J., 1971**

Reproduction chez les animaux domestiques tome II, le mâle : insémination artificielle.- Liège.-Edition Derouaux.-175p.

### **5. DIAKHOUMPA M., 2003**

Analyse coût/bénéfice de l'insémination bovine au Sénégal.

Mémoire de DEA : Productions animales : Dakar (EISMV) ; 3

### **6. DJABAKOU K., FIMMEN H.O. et BOTTGER M., 1984**

Examination of bull semen at CREAT.- Trypanotolerance and animal production, Avetonou (Togo): 40-44.

### **7. EZEKWE A.G., 1988**

Ejaculate characteristics of two breeds of tropical bulls - N'dama and Muturu.- Joint seminar on animal reproduction for african countries.-Addis-Abeba:CIPEA

### **8. FOOTE R. H., 1988**

Preservation and fertility prediction of spermatozoa., 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Dublin, Ireland, Vol 5 : 126-134.

### **9. GERARD O., 1991**

L'insémination en semence fraîche dans l'espèce bovine : une technique d'avenir ? *Elevage et insémination*, **246** : 3-10.

### **10. HASKOURI H., 2001**

Insémination artificielle et détection des chaleurs.-In : Gestion de la reproduction chez la vache. [En ligne] accès Internet :

<http://www.iav.ac.ma/veto/filveto/guides/repro/students/haskouri.pdf>,

(page consultée le 9 Mars 2007).

### **11. KOUAMO J., 2007**

Evaluation de l'impact potentiel et de l'acceptabilité des stratégies d'insémination artificielle bovine plus efficaces basées sur les chaleurs naturelles et induites dans la zone sylvo-pastorale : Cas de la région de Louga.

Mémoire de DEA : Productions animales : Dakar (EISMV) ; 3

### **12. LAMINO M. I., 1999**

L'Amélioration génétique par la biotechnologie de l'insémination artificielle bovine : bilan et perspectives. Thèse : Méd.Vét. : Dakar ; 9.

**13. MELROSE DR et TERNER C., 1952**

Pyruvate metabolism and assessment of semen quality. Proc Soc Exp Biol Med. Jun; 80(2):298–300. [En ligne] Accès internet :

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1198143&blobtype=pdf> : The metabolism of pyruvate in bull spermatozoa, (page consultée le 18 Octobre 2007)

**14. PAREZ M. et THIBIER M., 1983**

Contrôle de la fonction sexuelle chez le jeune taurillon.

*Elevage et Insémination*, 197: 3–16.

**15. Présentation de la coopérative de l'AIGLE.** [En ligne] Accès internet :

<http://www.cia-laigle.com/laboratoire.htm> (page consultée le 12 Septembre 2007)

**16. RODRIGUEZ-MARTINEZ H., 2003**

Laboratory semen assessment and prediction of fertility :stillutopia ?Reprod. Domest. Anim. 38: 312-318

**17. ROSENBERGER G., 1979**

Appareil génital mâle (324-372) In : « Examen cliniques des bovins ». -Maison Alfort : Edit. du Point Vétérinaire.-526p.

**18. SALISBURY G.W. et VANDEMARK N.L., 1961**

Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle.- San Francisco : Freeman & co.-639p.

**19. SAUVEROCHE B., 1988**

La semence fraîche : une alternative à la semence congelée? Relance de l'insémination artificielle en Afrique. Projet Régional PNUD/FAO RAF/88/100. PMB 10-Banjul-GAMBIE. In : l'amélioration génétique des bovins en Afrique de l'Ouest.-Rome : FAO

**20. Spiral-université de Lyon1.** [En ligne] Accès internet : <http://spiral.univ-lyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/GenitalMasculin/gm6rd.html>

**21. THIBIER M., 1977**

La fonction sexuelle du jeune taurillon (*Bos taurus*).- Thèse : Sciences :Paris

**22. THIBIER M., 1991**

Sélection des taurillons sur leurs performances sexuelles pour l'insémination artificielle. Contracep. Fertil. Sec, 19,9 : 741-748. In : 30<sup>ème</sup> Réunion Soc. Française d'Etude de la Fertilité, Paris.

**23. TRAORE P., 1996**

Les méthodes d'évaluation du sperme du taureau destiné à l'insémination artificielle. Thèse : Méd. Vét. : Rabat (IAV Hassan II)

**24. Université de Montréal.** [En ligne] Accès internet :

<http://mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio2460/images/Pagee12a.jpeg>, page consultée le 05 octobre 2007

# ANNEXES

## Annexe 1 : Exemple d'une fiche zootechnique des taureaux

Eleveur détenteur  
AUTR OGER STATION ELEVAGE N°Travail 8545  
44130 BLAIN  
Eleveur naisseur  
EARL EARL DU PERTHUIS  
49370 ST CLEMENT DE LA PLACE  
Exporté par GENETIC FRANCE



Ref: 05-01177

### PEDIGREE de VILNUS MAN

Certificat généalogique délivré conformément à la décision 2005/379/CE de la Commission pour les échanges intracommunautaires.

Sexe M Nom VILNUS MAN N° FR 4959488545  
Identifié par deux boucles auriculaires  
Né le 20/10/2004 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA 05/40 ND:AS ISU +155  
Index Production 05/40 ND:AS  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
35 +40 +32 +45 -0.4 -0.2 +1069  
Index Fonctionnels 05/40 (FER:ND ; LGF:ND)  
cd CEL  
AS 0540  
31 +0.6  
Index Morphologie 05/40 AS  
cd MO MA CC ME  
33 +1.8 +1.1 +1.4 +1.5  
Typages TL TV

O-MAN JUST FR U122358313  
Né le 08/03/1998 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA 05/90 ISU +168  
Index Production 05/90  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
81 +52 +37 +65 +1.2 +3.1 +828  
Index Fonctionnels 05/90 (FER:ND)  
cd CEL cd LGF  
0590 0590  
76 +1.4 62 +1.1  
Index Morphologie 05/90  
cd MO MA CC ME  
85 +1.1 +0.4 +1.6 +1.0  
Typages TL TV

ROSALIE FR 4959488381  
Née le 01/10/2000 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA 05/40 ISU +152  
Index Production 05/40  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
59 +39 +37 +31 -2.1 -4.5 +1700  
Index Fonctionnels 05/40  
cd CEL  
49 -0.3  
Index Morphologie 05/40  
cd MO MA CC ME  
47 +2.5 +1.8 +1.2 +2.1  
Appréciation 4ans 3mois  
Taille Mamelles Capacité Bassin Membres NG  
G TB TB B B TB 89

Méth	N°	Age	durée	lait	TB	TP	MG	MP	TA
Lactations de la mère									
A4	1	2.00	305	8839	35.9	26.9	317	237	28.3
A4	2	3.00	280	10075	36.4	28.8	367	289	30.3
MOY	2		294	9457	36.1	27.8	342	263	29.3
EC	3	4.00	384	14798	39.1	28.8	578	426	30.3

MANFRED FR US02183007  
Né le 07/12/1991 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA 05/90 ISU +133  
Index Production 05/90  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
95 +33 +29 +35 -1.2 -1.8 +1290  
Typages TL TV  
ARGP: FR US01986164 CUBBY  
ARGM: FR US13066986 HA MELANIE

EL JEZEBEL FR US15459080  
Née le 30/06/1994 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA ND  
Index Production 05/90  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
90 +54 +42 +56 +0.9 +1.2 +1081  
Lactations en 305 jours ND  
Méth N° Age durée lait TB TP MG MP TA

ARGP: FR US01912270 ELTON  
ARGM: FR US13751565 MW JACKI

JOCKO BESN FR 5694028588  
Né le 29/08/1994 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA 05/40 ISU +165  
Index Production 05/40  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
95 +52 +48 +30 +0.4 -3.0 +1442  
Typages TL TV  
ARGP: FR 4486041658 BESNE BUCK  
ARGM: FR 5691017494 GAIA 9

OMERE FR 4959488256  
Née le 18/09/1998 Race 66 PRIM'HOLSTEIN  
Index Synthèse UPRA 05/40 ISU +120  
Index Production 05/40  
cd INEL MP MG TP TB Lait  
60 +13 +16 +11 -2.7 -4.8 +1197  
Lactations en 305 jours  
Méth N° Age durée lait TB TP MG MP TA

A30 1 2.01 303 8533 34.3 27.7 292 236 29.1  
MOY 5 305 9440 35.2 28.1 332 265 29.6  
ML 2 3.00 305 10711 35.0 28.6 374 305 30.1  
ARGP: FR NR84799074 MARKER  
ARGM: FR 4996024093 MER

Le soussigné certifie que ce document contient les données mentionnées à l'article 2 de la Décision 2005/379/CE de la Commission pour les reproducteurs de race pure.

Le 29/11/2005  
A Saint Sylvain d'Arjcu  
La Directrice, S. GARREAU

Livre  
Généalogique  
Agréé

## Annexe2 : Exemple d'un certificat sanitaire des taureaux

Certificat n° *W.25.999.5A*

### ATTESTATION SANITAIRE

A. Les animaux proviennent d'une zone indemne des maladies de la liste A du code Zoosanitaire International de l'Office International des Epizooties pour l'espèce bovine.

B. Les animaux sont en bonne santé, ne sont pas des animaux à éliminer dans le cadre d'un programme national d'éradication des maladies contagieuses, et ne présentaient aucun signe clinique de maladie lors de leur expédition, et notamment des maladies suivantes:

- Brucellose;
- Tuberculose;
- Paratuberculose (Maladie de Johne);
- Rhinotrachéite infectieuse bovine / Vulvovaginite infectieuse pustuleuse;
- Maladie des muqueuses (mucous disease);
- Fièvre aphteuse;
- Encéphalopathie spongiforme bovine.

C. Les animaux exportés:

- 1) ont été entretenus dans une zone indemne de fièvre aphteuse durant les trois derniers mois ou depuis leur naissance.
- 2) n'ont pas été vaccinés contre la fièvre aphteuse.
- 3) proviennent d'un cheptel officiellement indemne de brucellose bovine.
- 4) ont été soumis, avec résultat négatif, à une épreuve sérologique pour la recherche de la brucellose bovine pendant les trente jours ayant précédé leur expédition.
- 5) proviennent d'un cheptel officiellement indemne de tuberculose bovine.
- 6) ont été soumis, avec résultat négatif, à une intradermotuberculination pendant les 30 jours ayant précédé leur expédition.
- 7) proviennent d'un cheptel dans lequel aucun signe clinique de paratuberculose n'a été déclaré officiellement pendant les 5 années ayant précédé leur expédition.
- 8) ont été soumis, avec résultat négatif, à de(s) épreuve(s) diagnostique(s) pour la recherche de la paratuberculose pendant les 30 jours ayant précédé leur expédition.
- 9) proviennent d'un cheptel dans lequel aucun signe clinique de rhinotrachéite infectieuse bovine / vulvovaginite pustuleuse infectieuse n'a été mis en évidence pendant les 6 mois ayant précédé leur expédition.
- 10) ont été soumis, avec résultat négatif, à une séroneutralisation ou test ELISA pour la recherche de la rhinotrachéite infectieuse bovine / vulvovaginite pustuleuse infectieuse pendant les 30 jours ayant précédé leur expédition, sauf pour les animaux provenant d'un cheptel pratiquant régulièrement la vaccination contre cette maladie.
- 11) proviennent d'un cheptel dans lequel aucun signe clinique de maladie des muqueuses n'a été mis en évidence pendant les 12 mois ayant précédé leur expédition.

D. Pour ce qui concerne l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine:

- 1) L'alimentation des ruminants avec des farines de viandes et d'os ou des cretons provenant de ruminants a fait l'objet d'une interdiction qui est effectivement respectée.
- 2) Les bovins malades sont abattus et totalement détruits, de même que:
  - 2.a) s'il s'agissait de femelles, le dernier animal auquel elles ont donné naissance durant la période de 2 ans ayant précédé, ou durant la période ayant suivi l'apparition des premiers signes cliniques de la maladie,
  - 2.b) tout bovin qui a vu le jour, pendant les 12 mois ayant précédé ou ayant suivi la naissance d'un bovin malade, dans le troupeau où ce bovin malade est né, ou bien qui a été élevé, à un quelconque moment pendant les 12 premiers mois de son existence, avec un bovin malade, et qui, se trouvant dans l'une ou l'autre de ces situations, a pu consommer l'aliment potentiellement contaminé que le bovin malade a consommé pendant les 12 premiers mois de son existence.
- 3) Les animaux destinés à l'exportation:
  - 3.a) sont nés après la date à partir de laquelle l'interdiction d'alimenter les ruminants avec des farines de viandes et d'os ou des cretons provenant de ruminants a été effectivement respectée;
  - 3.b) sont identifiés à l'aide d'un système d'identification permanente permettant de retrouver leur mère et leur troupeau d'origine, et ne sont pas nés de femelles suspectes ou malades; ET
  - 3.c) sont nés, ont été élevés et sont restés dans des troupeaux dans lesquels aucun cas d'encéphalopathie spongiforme bovine n'a jamais été confirmé, et qui ne contenaient pas des bovins nés sur la ferme ou originaires de troupeaux de même statut sanitaire.

FIN DU CERTIFICAT

<p align="center"><b>APPRECIATION DE LA QUALITE DE LA SEMENCE BOVINE PRODUITE AU CENTRE NATIONAL D'AMELIORATION GENETIQUE (CNAG) DE DAHRA AU SENEGAL</b></p>	<p align="center"><b>ASSESSING THE QUALITY OF BOVINE SEED PRODUCED BY THE NATIONAL CENTER FOR GENETIC IMPROVEMENT (CNAG) OF DAHRA IN SENEGAL</b></p>
<p align="center"><b>Fidèle KABERA</b> Mémoire de DEA-PA, option Zootechnie-Reproduction-Economie</p>	<p align="center"><b>Fidèle KABERA</b> Master's memory of animal productions, Zootechnic-Reproduction and Economic option</p>
<p align="center"><b>Résumé</b></p>	<p align="center"><b>Abstract</b></p>
<p>Depuis plusieurs années au Sénégal, les inséminations artificielles se font avec les semences importées. Ces importations entraînent des coûts de revient des inséminations très élevés. L'utilisation des semences produites localement constitue une alternative envisageable pour réduire les coûts liés à l'approvisionnement en semences. Cela suppose une bonne maîtrise de la qualité zootechnique et sanitaire de ces semences. C'est à ce but que nous avons apporté notre contribution sous la forme de ce travail. Il a porté sur l'appréciation de la qualité de la semence bovine produite par le Centre National d'Amélioration Génétique (CNAG) de Dahra au Sénégal. Pour mener ces études, nous avons utilisé le sperme de taureau de race Holstein du CNAG de Dahra. Le prélèvement et les analyses ont été effectués, en mai 2007, au CNAG. L'étude de la fertilité des semences produites a été effectuée sur les vaches de races locales sélectionnées dans les centres de Dahra et de Louga. Nous avons étudié spécialement les caractéristiques du sperme, les méthodes de préparation et conservation de la semence et la qualité fécondante des semences produites. Ce travail débouche sur une application technique immédiate: l'utilisation possible des semences produites localement. Les potentialités d'utilisation pour l'insémination artificielle des taureaux du CNAG pourraient contribuer à la réduction du coût de revient des inséminations, à l'augmentation du nombre des inséminations possibles à assurer et à l'augmentation du taux de réussite des IA au Sénégal.</p> <p><b>Mots clés:</b> sperme ; spermatozoïdes ; insémination artificielle ; conservation ; congélation ; vaches ; Taureau ; CNAG ; Sénégal.</p>	<p>For several years in Senegal, artificial insemination is conducted with imported seeds. These imports entail costs of inseminations very high. The use of seed produced locally is a feasible alternative to reduce the costs associated with the supply of seeds. This requires a good understanding of health and zootechnical quality of the seed. It is to this end that we have made a contribution in the form of this work. He focused on the assessment of the quality of semen produced by the National Center for Genetic Improvement (CNAG) of Dahra in Senegal. To carry out these studies, we used the semen of Holstein bull breed of CNAG of Dahra. The sampling and analysis were carried out in May 2007, at the National Center for Genetic Improvement of Dahra. The study of fertility of seed produced was conducted on the local cows breeds selected in Dahra and Louga centers. We have studied specially the characteristics of sperm, the methods of preparation and preservation of the seed and the fertilizing quality of the seed produced. This work has led to an immediate application technical: the possible use of seed produced locally. The potential use for artificial insemination bulls of CNAG could contribute to the reducing cost of inseminations, to the increasing number of inseminations possible to ensure and increasing the success rate of artificial insemination in Senegal.</p> <p><b>Key words :</b> semen ; spermatozoa ; artificial insemination ; conservation ; freezing ; cows ; Taurus ; CNAG ; Senegal.</p>
<p><b>Adresse :</b> Fidèle KABERA Paroisse NEMBA, BP 45 MUSANZE (RWANDA) <b>Tél :</b> [00250 546 217 / 00250 08822920] (Rwanda) <b>E-mail :</b> <a href="mailto:kafise@hotmail.com">kafise@hotmail.com</a></p>	<p><b>Address :</b> Fidèle KABERA Paroisse NEMBA, Po Box 45 MUSANZE (Rwanda) <b>Phone number :</b> [00250 546 217 / 00250 08822920] (Rwanda) <b>E-mail :</b> <a href="mailto:kafise@hotmail.com">kafise@hotmail.com</a></p>