



ANNEE 2008 THESE : 2008 – TOU 3 – 4...

COMPARAISON DE LA QUALITE DE LA SEMENCE DE TAUREAUX COLLECTES A L'ELECTRO-EJACULATEUR OU AU VAGIN ARTIFICIEL

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2008
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Fabrice, Benoît, Guillaume RIGAL
Né le 15 février 1983 à OLEMPES (Aveyron)

Directeur de thèse : Madame le Docteur Nicole HAGEN-PICARD

JURY

PRESIDENT :
M. Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme. Nicole HAGEN-PICARD
M. François SCHELCHER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
M. Brahim KHIRREDINE

Docteur Vétérinaire, COPELSO



A notre présidence de thèse,

Monsieur le Professeur Jean PARINAUD,

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Biologie du développement et de la reproduction

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

Madame le Docteur Nicole HAGEN-PICARD,

Maître de conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui nous a proposé ce sujet de thèse et a accepté la direction de notre travail.

Sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur François SCHELCHER,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour

Qui a aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

Remerciements

A **Brahim Khirredine**, Docteur Vétérinaire, responsable du centre de collecte de Coopelso, à l'origine du projet de thèse, pour sa disponibilité et sa gentillesse.

A la taurellerie Coopelso, les taurelliers et la technicienne du laboratoire.

A **Nicole Hagen-Picard** pour sa disponibilité et son aide très précieuse.

A **Patricia Ronsin** pour l'aide apportée à la réalisation des lames.

A **Fauzi Lyazhri** pour l'aide apportée à la réalisation de la partie statistique.

A mes parents, pour leur soutien constant au cours de ces longues années d'études...

A mes frères, à ma famille...

Aux bons moments passés avec tous mes camarades vétérinaires : la bonne Raoule, la Marie, Cuisse, Pascal, Foufoune, le bon viel Duquerroux , la Joute, la Balouke, le bon vieux Fischer et les autres...

Au Roucanel et ses habitants, avec, par ordre alphabétique : Bacchus, Biow, Bousquat, Caro, Cuissot, Francinette, Gessie, Jack, Ludo, Mateuch et Petite Burge....

Aux anciens Laroquois : Anaïs, Jérémy et Marie-Cécile...

INTRODUCTION.....	9
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	12
A ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL DU TAUREAU	13
1) Les testicules	14
2) Les voies spermatiques.....	16
3) Les voies uro-génitales.....	16
B LA PRODUCTION DU SPERME.....	19
1) La spermatogenèse	19
2) La production du plasma séminal	20
C L'ERECTION ET L'EJACULATION.....	23
1) Mécanismes de l'érection et de l'éjaculation	23
2) Rôle joué par le système nerveux.....	24
1. Contrôle médullaire de l'érection et de l'éjaculation	24
2. Voies efférentes.....	25
3. Voies afférentes.....	26
4. Physiologie nerveuse de l'érection et de l'éjaculation	27
3) Electrostimulation de l'érection et de l'éjaculation : principe de l'électro-éjaculation	28
D METHODES DE RECOLTE DU SPERME.....	30
1) La collecte à l'électro-éjaculateur	30
1. Fonctionnement de l'électroéjaculateur	30
2. Déroulement de la collecte de sperme à l'électroéjaculateur chez le taureau	33
3. Intérêts et limites de la collecte à l'électroéjaculateur	35
2) La récolte du sperme au vagin artificiel.....	36
1. La préparation des taureaux dans les centres de collecte.	36
2. Matériel	37
3. Technique de collecte de sperme au vagin artificiel	38
3) La récolte du sperme par massage transrectal.....	40
E ACTIVITE DE COLLECTE DE SEMENCE EN FRANCE	41
1) Présentation de l'activité des centres d'insémination	41
1. Entretien des taureaux	41
2. La salle de monte.....	41
3. Examen séminologique	42
4. Dilution de la semence	45
5. Mise en paillettes et congélation de la semence	45
2) La collecte de taureaux en ferme	47

PARTIE EXPERIMENTALE	49
A MATERIELS ET METHODES	51
1) Animaux	51
2) Collecte de semence	52
3) La collecte à l'électro-éjaculateur	54
1. Description du matériel	54
2. Déroulement de la collecte	54
4) La collecte au vagin artificiel.....	57
5) Examen du sperme	57
6) Examen de la semence après congélation	59
7) Analyse de variance	60
B RESULTATS.....	61
1) Obtention d'un éjaculat et aptitude à la congélation	61
2) Caractéristiques des collectes réalisées à l'électroéjaculateur	63
3) Etude des paramètres séminologiques des éjaculats collectés à l'electroéjaculateur et au vagin artificiel.....	64
1. Etude des effets de la méthode de collecte sur les paramètres de la semence avant congélation	66
2. Effets de la méthode de collecte sur les paramètres de la semence après congélation	74
4) Résistance à la congélation	75
DISCUSSION	78
A EFFETS DE LA METHODE DE COLLECTE	79
1) Echec de collecte	79
2) Qualité du sperme.....	80
3) Congélation de la semence	81
B LES COLLECTES A L'ELECTROEJACULATEUR.....	82
1) Technique de collecte	82
2) Inconfort des taureaux	83
3) Présence d'une érection	84
4) Effet race	84
C AMELIORATION DE LA TECHNIQUE DE COLLECTE A L'ELECTROEJACULATEUR.....	86
1) Comment diminuer l'inconfort du taureau lors de l'électro-éjaculation ?	86
2) Comment améliorer la qualité de la semence lors d'une collecte à l'électroéjaculateur ?	87
3) Techniques alternatives à la collecte à l'électro-éjaculateur.....	88
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	90
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	92

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Appareil génital du taureau.....	13
Figure 2 : Schéma d'une section longitudinale du testicule et de l'épididyme.....	15
Figure 3 : Vessie et glandes annexes chez le taureau.....	18
Figure 4 : Organisation extrinsèque de l'innervation efférente et afférente de l'appareil génital chez un mammifère de sexe mâle	26
Figure 5 : Représentation schématique du système nerveux innervant l'appareil génital chez le taureau.	28
Figure 6 : Représentation schématique de la sonde Electrojac®	31
Figure 7 : Cycle de stimulations produites par l'Electrojac 5®	32
Figure 8 : Matériel de collecte.....	34
Figure 9 : Représentation schématique du vagin artificiel	37
Figure 10 : Classification des anomalies morphologiques majeures et mineures des spermatozoïdes du taureau en fonction de leur impact sur la fertilité.....	43
Figure 11 : Photographie de la sonde Electrojac®.....	54
Figure 12 : Photographie de la cage de contention	55
Figure 13 : Vagin artificiel	57
Figure 14 : Distribution individuelle des volumes des éjaculats collectés par électroéjaculateur et par vagin artificiel	66
Figure 15 : Distribution individuelle des concentrations des éjaculats collectés par électroéjaculateur et par vagin artificiel	67
Figure 16 : Représentation par race des concentrations moyennes des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel	68
Figure 17 : Evolution des concentrations moyennes en spermatozoïdes des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel au cours des quatre semaines d'expérimentation .	69
Figure 18 : Distribution individuelle des notes de motilité de masse des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel	70
Figure 19 : Distribution individuelle des notes de motilité individuelle avant congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.	70
Figure 20 : Distribution individuelle des notes de motilité globale avant congélation des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel.	71
Figure 21 : Répartition par race des notes moyennes de motilité globale avant congélation ..	72
des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.....	72
Figure 22 : Evolution des notes moyennes de motilité des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel au cours des quatre semaines d'expérimentation	73
Figure 23 : Représentation graphique des notes moyennes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité supérieure à 2 avant congélation	75
Figure 24 : Représentation graphique des notes moyennes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité strictement supérieure à 3 et inférieure ou égale à 4 avant congélation.....	75
Figure 25 : Représentation graphique des moyennes des notes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité supérieure à 4 avant congélation	76

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Valeurs minimales recommandées pour la circonférence scrotale du taureau en fonction de l'âge et de la race.....	14
Tableau 2 : Concentration des différents constituants du plasma séminal du taureau.....	22
Tableau 3 : Caractéristiques des 5 taureaux de race laitière du GROUPE 1.....	51
Tableau 4 : Caractéristiques des 5 taureaux de race allaitante du GROUPE 2.....	51
Tableau 5 : Plan expérimental alterné sur une période de 6 semaines des collectes de sperme des taureaux à l'Electroéjaculateur et au Vagin Artificiel.	53
Tableau 6 : Classification des anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....	59
Tableau 7 : Nombre d'éjaculats collectés et congelés en fonction de la technique de collecte (vagin artificiel ou électroéjaculateur).....	61
Tableau 8 : Répartition par race des pourcentages d'échecs de collecte et de non aptitude à la congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.....	62
Tableau 9 : Paramètres individuels de collecte à l'électroéjaculateur.....	63
Tableau 10 : Paramètres séminologiques obtenus par les 40 collectes au vagin artificiel et les 33 collectes à l'électroéjaculateur.	65
Tableau 11 : Nombre de paillettes produites à partir des éjaculats collectés au vagin artificiel et à l'électroéjaculateur.....	77

INTRODUCTION

La collecte du sperme est une phase capitale en centre d'insémination. En effet, sa réalisation conditionne en grande partie la qualité biologique et bactériologique de la semence du taureau. Dans les taurelleries françaises dont le centre de collecte de Midatest, basé à Coopelso dans le Tarn, le sperme des taureaux d'insémination est classiquement collecté au vagin artificiel. Cette méthode nécessite un entraînement des taureaux.

Une autre technique de récolte du sperme : l'électro-éjaculation, est utilisée de façon plus ponctuelle. Elle constitue une alternative intéressante à la méthode de collecte du sperme au vagin artificiel ; notamment lorsque les taureaux ne sont pas capables de donner le coup de rein concomitant à l'éjaculation.

Le vétérinaire responsable du centre de collecte de Coopelso, Brahim Khirredine, réalise environ 50 collectes par an dans le cadre de la monte privée, destinées à la réalisation de paillettes. La technique de collecte utilisée est essentiellement le vagin artificiel. Cependant, environ 20% des tentatives de collecte sont infructueuses. En effet, les taureaux peuvent se montrer récalcitrants à la collecte pour des raisons variables : pathologies de l'appareil locomoteur, stress provoqué par la présence humaine, manque de docilité, faible libido ou absence de vache en chaleur.

C'est pourquoi l'électro-éjaculateur peut apparaître comme une technique plus adaptée pour obtenir un prélèvement de sperme sur des taureaux non entraînés à la collecte au vagin artificiel. Mais le sperme collecté à l'électro-éjaculateur est-il de qualité suffisante pour résister à la congélation et permettre la réalisation de paillettes ?

Peu d'études ont comparé la qualité séminologique du sperme collecté à l'électro-éjaculateur ou au vagin artificiel (Léon et Coll, 1991 et Parvanov, 2000).

L'objectif de notre étude est de comparer la qualité biologique de la semence collectée au vagin artificiel à celle collectée à l'électro-éjaculateur sur des taureaux d'insémination artificielle de différentes races françaises ; les paramètres séminologiques ont été évalués avant et après congélation. Ces données sur la collecte à l'électroéjaculateur (en particulier l'obtention et la qualité des éjaculats collectés), permettront d'envisager ou non son utilisation dans le cadre de la monte privée.

Avant de développer cette étude expérimentale, nous présenterons des données bibliographiques concernant l'anatomie génitale du taureau, la physiologie de la production du sperme, les techniques de récolte de la semence et la fabrication des paillettes par les centres d'insémination.

La partie expérimentale est présentée selon un plan classique : les matériels, méthodes sont décrits et les résultats sont présentés et discutés. En particulier, l'utilisation de cette technique est envisagée par rapport au bien-être animal.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

A ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL DU TAUREAU

L'appareil génital du taureau, représenté sur la figure 1, peut se décomposer en trois grandes parties :

- les testicules
- les voies spermatiques, incluant l'épididyme et le canal déférent
- les voies uro-génitales, incluant l'urètre, les glandes annexes et le pénis

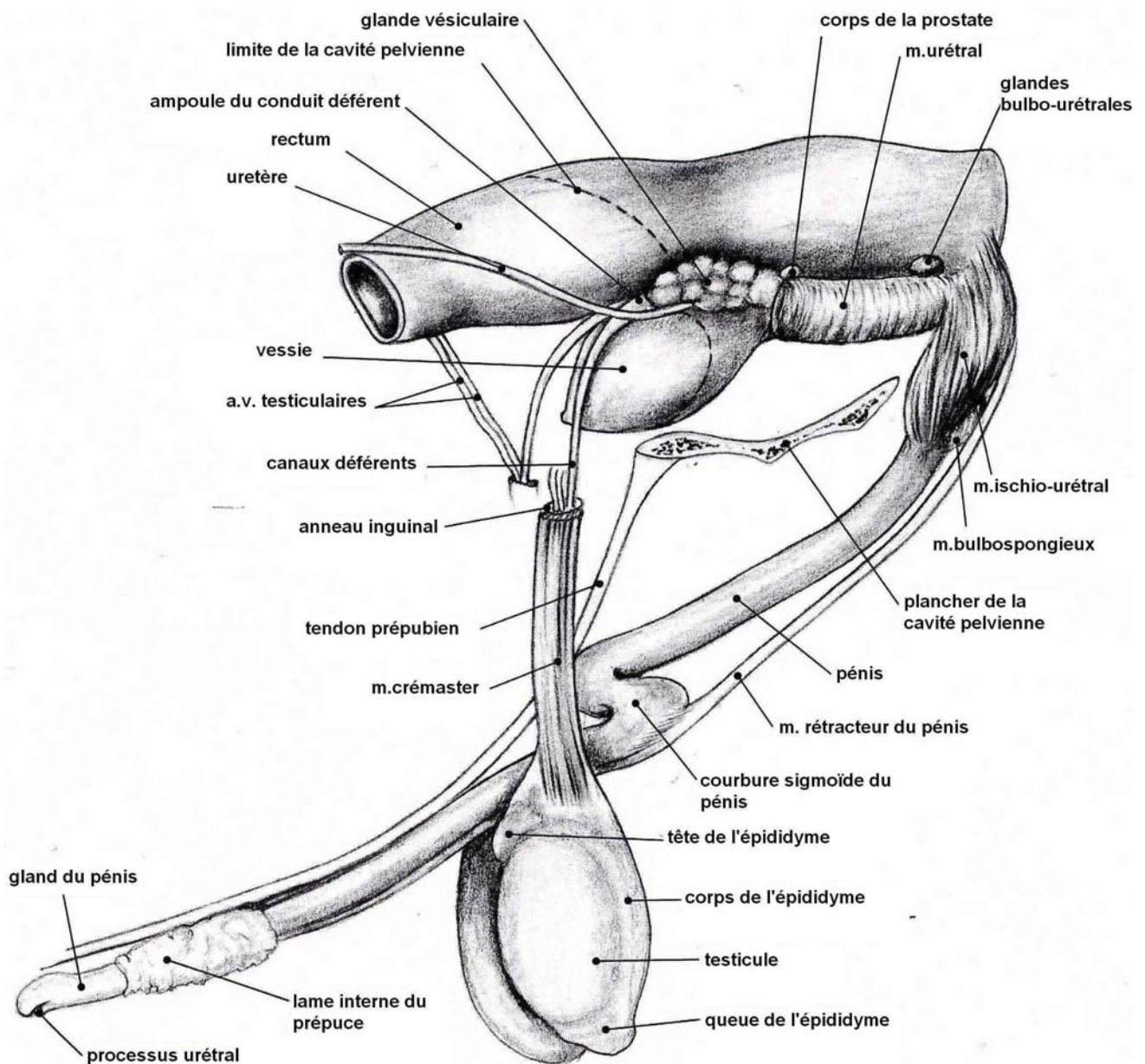


Figure 1 : Appareil génital du taureau (D'après Constantinesca, 2004)

1) Les testicules

Les testicules sont des organes pairs, ils assurent une double fonction : une fonction exocrine avec la production de spermatozoïdes ou spermatogenèse et une fonction endocrine avec la production des hormones mâles. Ils sont logés avec l'épididyme dans la tunique vaginale et le scrotum.

Chez le taureau, la descente des testicules dans les enveloppes testiculaires s'effectue avant la naissance, vers 3 à 4 mois de gestation (Chenoweth, 1997). Le testicule est pendulaire, à axe vertical et pèse approximativement 500 grammes vers deux ans. Il mesure alors en moyenne 11 à 15 cm de haut sur 7 à 9 cm de large, et 7 à 9 cm d'épaisseur pour une circonférence scrotale de 35 cm (Setchell, 1991).

Des différences individuelles importantes de taille des testicules existent chez le taureau, elles sont corrélées à la production de spermatozoïdes. C'est pourquoi la mesure de la circonférence scrotale des taureaux est une partie importante de l'évaluation de leur fertilité ; des valeurs minimales existent en fonction de l'âge et de la race (Wenkoff, 1988).

Tableau 1 : Valeurs minimales recommandées pour la circonférence scrotale du taureau en fonction de l'âge et de la race (Wenkoff, 1988)

Age (en mois)	Race			
	Simmental	Angus, Charolais et Maine Anjou	Hereford et Shorthorn	Limousin et Blond d'Aquitaine
12-14	33	32	31	30
15-20	35	34	33	32
21-30	36	35	34	33
30	37	36	35	34

Lorsque l'opérateur a pris les précautions de sécurité nécessaires, il peut manipuler le testicule à l'intérieur du scrotum. Un testicule normal a une consistance homogène et ne présente pas d'adhérences avec le scrotum. La palpation peut permettre de détecter la présence d'anomalies telles que des abcès, tumeurs, hématoctoes, calcifications (Albert, 2007).

Chaque testicule est entouré d'une capsule fibreuse, l'albuginée, et est cloisonné par des septums en lobules (voir figure 2). Chaque lobule contient 1 à 4 tubes séminifères à l'intérieur desquels a lieu la spermatogenèse. La structure du tube séminifère comprend un épithélium séminal composé des cellules de Sertoli et des cellules germinales ainsi qu'un tissu de soutien, la lamina propria, formée de fibres de collagène et de couches de cellules myoïdes (Barone, 1990).

Au cours de la spermatogenèse, les cellules germinales migrent de manière centripète vers la lumière des tubules où ils sont relargués. Le liquide contenu dans la lumière assure le transport des spermatozoïdes. Les spermatozoïdes formés dans les tubes séminifères passent dans des structures tubulaires : les tubes droits puis le rete testis avant de rejoindre les canaux efférents et l'épididyme (Dadoune, 2001).

Les testicules sont irrigués par l'artère testiculaire, issue de l'aorte abdominale, qui se divise en branches terminales situées à l'intérieur de l'albuginée et des cloisons interlobulaires. Les veines testiculaires sont regroupées autour de l'artère testiculaire pour constituer le plexus pampiniforme qui permet le refroidissement du sang artériel.

Les testicules sont innervés par des rameaux sensitifs et moteurs qui accompagnent l'artère testiculaire (Dadoune, 2001).

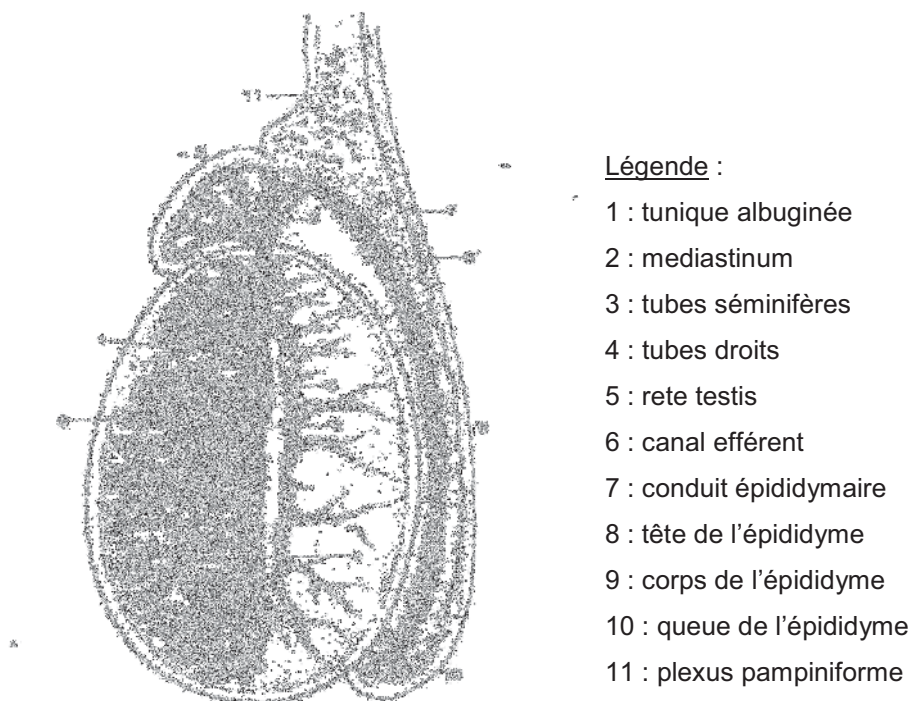


Figure 2 : Schéma d'une section longitudinale du testicule et de l'épididyme (D'après Dyce et al., 1987)

2) Les voies spermatiques (Barone, 1990 et Dacheux, 2001)

A leur sortie du testicule, les spermatozoïdes ne sont pas matures : ils ne sont ni mobiles, ni féconds. La différenciation des spermatozoïdes appelée maturation s'effectue dans le conduit épидидymaire. L'épididyme phagocyte les spermatozoïdes dégénérés, réabsorbe le liquide testiculaire, sécrète des substances jouant un rôle dans la maturation des spermatozoïdes et permet leur évacuation dans le conduit déférent.

L'épididyme est constitué de trois parties : la tête, le corps et la queue. La tête couvre le testicule crânio-dorsalement. La continuité de la tête de l'épididyme avec le testicule est assurée par les conduits efférents. Le corps de l'épididyme longe le testicule médialement et la queue rejoint le conduit déférent. Les trois parties de l'épididyme sont palpables, plus ou moins saillantes en fonction des individus, et de consistance homogène.

La musculature de l'épididyme chasse les spermatozoïdes dans le conduit déférent pendant la phase préliminaire de l'éjaculation.

3) Les voies uro-génitales (Barone, 1990)

La partie uro-génitale inclut l'urètre, les glandes annexes et le pénis.

L'urètre constitue la partie terminale des voies conduisant le sperme lors de l'éjaculation. Long de 100 à 120 cm, il comprend une partie pelvienne et une partie pénienne.

Le pénis du taureau est de type fibro-élastique, les corps caverneux sont pauvres en tissus érectiles et pourvus d'une albuginée très épaisse. Il est long de 80 à 100 cm et son calibre moyen est de 3 à 4 cm. Il s'avance très loin, sous le ventre et le prépuce et atteint le voisinage immédiat de l'ombilic. Le pénis est constitué d'une partie moyenne ou corps et de deux extrémités, l'une fixe ou racine et l'autre libre constituée par le gland. Le corps est une longue tige cylindroïde plus ou moins aplatie chez le taureau. La racine est forte et épaisse. Elle se subdivise en deux branches latérales : les piliers du pénis entre lesquels est logé le bulbe du pénis. Le corps spongieux du gland est très peu développé. Ce dernier présente une forme très asymétrique ; il est incurvé en crochet vers la gauche et l'ostium externe de l'urètre est porté par un processus urétral.

Les nerfs moteurs du pénis proviennent essentiellement de ramifications du nerf honteux. L'innervation autonome vient du plexus pelvien et suit le trajet des vaisseaux. Lors de

l'érection, le pénis du taureau, de type fibro-élastique augmente peu de volume mais s'allonge par effacement d'une forte inflexion sigmoïde.

Les glandes annexes ou glandes sexuelles accessoires présentent chez les mammifères de grandes variations anatomiques et physiologiques. Chez le taureau, les trois glandes sont : les glandes vésiculaires ou vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales. La vessie et les glandes annexes sont représentées sur la Figure 3.

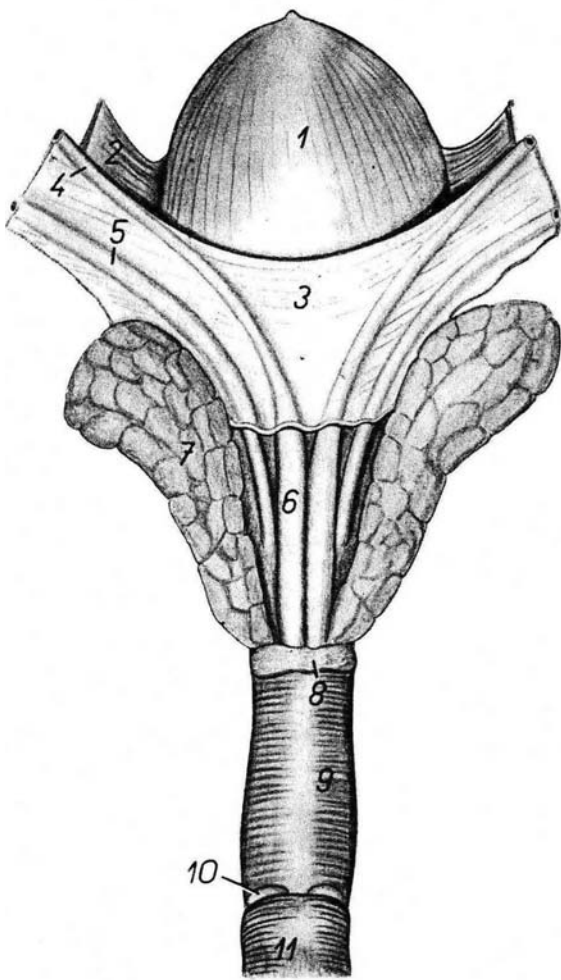
La palpation transrectale chez le taureau permet d'examiner ces glandes accessoires. Le muscle urétral est souvent la première structure palpée. Il présente une structure tubulaire ferme et se contracte sous la palpation. La partie conglomérée de la prostate est palpée transversalement, elle apparaît comme une bande lisse qui entoure l'extrémité crâniale de l'urètre.

Crânio-latéralement à la prostate, les glandes vésiculaires sont aisément palpables par voie transrectale. Elles présentent une structure lobulaire, de 8 à 15 centimètres de long, de 3 à 5 centimètres de large pour 1 à 2 centimètres d'épaisseur. Des vésicules séminales normales sont uniformes en taille, lobulées, mobiles et turgescents.

L'élargissement du conduit déférent à proximité de la jonction avec l'urètre constitue les ampoules du conduit déférent. Les ampoules du conduit déférent ne sont pas très distinctes à la palpation mais peuvent être repérées par un mouvement latéral des doigts. Elles mesurent 12 à 15 centimètres de long pour un diamètre d'une quinzaine de millimètres (Albert et al.,2007).

Les fibres nerveuses afférentes et sensibles des glandes annexes du mâle sont relativement mal connues. Des terminaisons libres nerveuses se situent dans le tissu sous-épithélial et donnent des informations sensibles de douleur, pression et température (Knobil et al, 1988).

Ces fibres sont stimulées lors du massage des glandes annexes chez le taureau.



Légende :

- 1 : vessie
- 2 : ligament latéral de la vessie
- 3 : méso interdéférentiel
- 4 : canal déférent
- 5 : uretère
- 6 : ampoule du canal déférent
- 7 : vésicule séminale
- 8 : prostate
- 9 : partie intra-pelvienne de l'urètre et sphincter urétral
- 10 : glande bulbo-urétrale
- 11 : muscle bulbo-caverneux

Figure 3 : Vessie et glandes annexes chez le taureau

(D'après Popesko, 1972)

B LA PRODUCTION DU SPERME

Le sperme est un produit de sécrétion élaboré au cours de la progression des spermatozoïdes dans les différentes parties du tractus génital. Il comprend les spermatozoïdes et le plasma séminal.

1) La spermatogenèse (Dadoune et al, 2001)

La spermatogenèse correspond à un processus de différenciation cellulaire qui aboutit à la production des spermatozoïdes à partir des spermatogonies souches. Elle commence à la puberté.

La production des spermatozoïdes est continue au cours de la vie de l'animal et nécessite la prolifération des spermatogonies souches par mitose. L'entrée des spermatogonies souches dans le processus de spermatogenèse ou cycle séminal se fait à intervalles réguliers de 13,5 jours chez le taureau. La méiose est l'étape de brassage génétique permettant la formation de cellules haploïdes : les spermatides, à partir des spermatogonies (diploïdes). La spermiogenèse est l'étape de différenciation cytoplasmique qui permet la formation de cellules mobiles : les spermatozoïdes à partir de cellules rondes et immobiles : les spermatides. Cette étape correspond à de nombreux remaniements cytoplasmiques et à la condensation de la chromatine.

La durée de la spermatogenèse est d'environ 54 jours chez le taureau. La durée moyenne de transit dans l'épididyme est de 8 jours (Hochereau et al., 1964). Cela signifie que les spermatozoïdes que l'on retrouve dans un éjaculat ont été fabriqués dans les testicules lors de la spermatogenèse deux mois plus tôt environ. C'est pourquoi ce délai doit être pris en compte pour mesurer l'effet de différents facteurs sur la spermatogenèse et la fonction testiculaire.

L'efficacité de la production journalière de spermatozoïdes est exprimée par le nombre de spermatozoïdes produits par jour et par gramme de testicule. Elle est en moyenne de 12 millions/jour/gramme chez le taureau. Chez la plupart des mammifères, elle atteint 20 à 28 millions et elle est de 6 millions chez un homme de 20 ans (Dadoune et al., 2001).

2) La production du plasma séminal

Les principales fonctions du plasma séminal sont hydrodynamique et énergétique. Celui-ci étant essentiellement constitué d'eau, il doit permettre le déplacement et la survie des spermatozoïdes dans le tractus génital de la femelle après l'éjaculation (Knobil et al, 1988).

Les sécrétions des glandes annexes constituent la majeure partie de la fraction liquide de l'éjaculat, de 50 à 95% du volume total du plasma séminal suivant les espèces. La contribution de chacune des glandes varie beaucoup en fonction des espèces et de nombreuses fonctions physiologiques des composants du plasma séminal des mammifères restent méconnues (Dacheux, 2001).

Les vésicules séminales sont les principales glandes annexes à l'origine de la sécrétion de fructose, principal substrat énergétique des spermatozoïdes. Les concentrations en fructose sont particulièrement élevées dans le plasma séminal du taureau et du bélier. La synthèse de fructose, comme beaucoup d'autres produits de sécrétion des glandes accessoires est étroitement régulée par les hormones androgènes.

Les glandes vésiculaires produisent également de l'inositol et de l'acide citrique en quantité importante. L'acide citrique comme d'autres acides organiques présents dans le plasma séminal est aussi un substrat énergétique des spermatozoïdes ; le rôle de l'inositol est méconnu. Chez le taureau, des concentrations élevées en sodium, potassium calcium et magnésium sont observées. Le pH alcalin des sécrétions des glandes vésiculaires est du à une concentration importante en bicarbonates (Knobil et al, 1988).

La prostate sécrète un liquide riche en élément minéraux, zinc principalement puis calcium, magnésium et potassium. Les sécrétions prostatiques contiennent de nombreuses protéines dont la plupart présentent une activité protéasique. Le pH du liquide prostatique est acide ; il contient de l'acide citrique et une protéine spécifique, la spermine, qui intervient dans les mécanismes de défense immunitaire. La prostate est également source de vésicules lipidiques qui peuvent transférer des lipides par fusion membranaire avec les spermatozoïdes (Dacheux, 2001).

Le principal composant de la sécrétion des glandes bulbo-urétrales est la sialomucine qui est responsable de la gélification de la semence après son émission. Les sécrétions des glandes bulbo-urétrales permettent de lubrifier le pénis et le vagin mais surtout de protéger l'urètre

pénien des constituants délétères (ions, acides et bases) contenus dans les sécrétions prostatiques et les glandes vésiculaires. Elles contiendraient aussi des phéromones jouant un rôle dans l'attraction des femelles (Knobil et al, 1988).

Les spermatozoïdes présents dans le liquide séminal entraînent la formation de nouveaux métabolites, comme l'acide lactique produit par la glycolyse anaérobie du fructose. Cependant, de nombreux composants présents dans le liquide séminal ne semblent pas jouer de rôle particulier, comme l'acide citrique, l'inositol, les ions zinc et de nombreuses protéinases et enzymes hydrolytiques. Ils contribuent cependant à rendre le liquide séminal iso-osmotique avec le plasma sanguin.

Les concentrations des différents constituants du plasma séminal du taureau sont présentées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Concentration des différents constituants du plasma séminal du taureau

(D'après Setchell et al., 1988)

Plasma séminal	Composition chez le taureau
Volume (ml)	2-10
Concentration en spermatozoïdes (10^6/ml)	300-2
Sodium (mmol/ml)	65-161
Potassium (mmol/ml)	13-97
Calcium (mmol/ml)	6-15
Magnesium (mmol/ml)	3.3
Chlorures (mmol/ml)	42-110
Phosphates (mmol/ml)	2.8
Bicarbonates (mmol/ml)	7
Fructose (mmol/ml)	17-56
Sorbitol (mmol/ml)	0.6-7.5
Inositol (mmol/ml)	1.3-2.6
Acide Lactique (mmol/ml)	2.2-5.6
Acide Pyruvique (mmol/ml)	0.6
Acide Citrique (mmol/ml)	18-52
Acide Glutamique (mmol/ml)	1-8
Glycerophosphocholine (mmol/ml)	4-18
Ascorbic acid (mmol/ml)	0.3
Glycerophosphoinositol (mmol/ml)	1.4
Spermine (mmol/ml)	0.1
Creatine (mmol/ml)	0.9
Arginine (mmol/ml)	0.2
Ergothionéine (mmol/ml)	Trace
Protéines (mg/ml)	55

C L'ERECTION ET L'EJACULATION

La fonction sexuelle mâle se décompose en deux parties : l'érection et l'éjaculation. L'érection est définie par la rigidité du pénis. Le processus éjaculatoire est la succession de deux évènements distincts : l'émission et l'éjaculation proprement dite.

La physiologie de l'érection et de l'éjaculation a été décrite chez l'homme, mais les réflexes de base intervenant dans la neurophysiologie sont identiques chez tous les mammifères. La séquence et la durée des réflexes présentent des variations en fonction des espèces. Les connaissances actuelles concernent surtout la mise en évidence de neurotransmetteurs dans le tissu érectile et des effets de substances pharmacologiques mimant l'action de ces neurotransmetteurs (Setchell, 1991).

1) Mécanismes de l'érection et de l'éjaculation

Les mécanismes permettant d'expliquer l'érection sont une dilatation des artères du pénis associée à une diminution du débit veineux, l'ensemble étant à l'origine d'une augmentation de la quantité de sang qui arrive dans les corps caverneux et spongieux du pénis. La contraction des muscles bulbo et ischio-caverneux présents autour du bulbe du pénis participerait aussi à l'érection en comprimant la base du pénis et en complétant le blocage du retour veineux. Ce mécanisme permet d'expliquer l'érection chez les animaux dotés d'un pénis de type vasculaire (homme, étalon, chien...) mais est sensiblement différent chez le taureau, présentant un pénis de type fibro-élastique (Setchell, 1991).

L'érection chez le taureau n'accroît que faiblement le diamètre et la longueur du pénis. Elle est permise par l'effacement de l'inflexion sigmoïde par relâchement des muscles rétracteurs du pénis. Après l'excitation sexuelle, la rétraction du pénis est rapide et brusque sous l'effet conjoint de deux phénomènes : la contraction des muscles rétracteurs et l'action passive de faisceaux de fibres élastiques situées dans les concavités de l'inflexion sigmoïde (Barone, 1990).

L'émission correspond à la propulsion des spermatozoïdes vers le canal éjaculateur et à l'accumulation des produits de la sécrétion des glandes sexuelles dans l'urètre proximal. Elle est provoquée par la contraction séquentielle de la queue de l'épididyme et du canal déférent,

la contraction des vésicules séminales et de la prostate ; le col vésical de la vessie étant alors fermé.

L'éjaculation correspond à l'expulsion puissante et saccadée du contenu de l'urètre proximal sous l'effet de la contraction rythmique des muscles striés périnéaux, combinée à celle des muscles lisses de l'urètre et du tractus génital (Houdeau et al., 2001). Les contractions sont de type tonique, non péristaltiques ; les contractions des muscles autour du bulbe du pénis et du muscle rétracteur de l'anus participe également à l'expulsion du sperme.

Les différentes parties du tractus génital mâle ne se contractent pas simultanément mais de façon successive (Setchell, 1991).

2) Rôle joué par le système nerveux

Le système nerveux est à l'origine du mécanisme de l'érection. Ainsi, l'érection est impossible chez les hommes atteints de certaines lésions de la moelle et peut être déclenchée par une stimulation locale de nerfs (Garner, 1991).

L'innervation de l'appareil génital chez les mammifères est assurée par le système nerveux autonome. Il est composé de fibres nerveuses efférentes permettant une commande motrice viscérale et de fibres nerveuses afférentes transmettant l'information sensitive vers le système nerveux central.

Ces fibres font partie d'un réseau complexe de nerfs et de ganglions : les plexus, reliant l'appareil génital à la moelle spinale ou au bulbe rachidien (Houdeau, 2001).

1. Contrôle médullaire de l'érection et de l'éjaculation

La motricité des voies génitales, le débit vasculaire et les sécrétions procèdent en partie de réflexes impliquant des connexions complexes entre les fibres nerveuses efférentes et afférentes. Ces connexions se réalisent dans la moelle spinale, site majeur de l'intégration de l'information sensitive d'origine génitale. Les contacts entre les fibres nerveuses afférentes et efférentes se réalisent sur plusieurs segments médullaires et font intervenir de nombreux interneurons (Houdeau et al., 2001).

Deux centres médullaires responsables du déclenchement et du maintien de l'érection ont été identifiés chez l'homme. Ils correspondent topographiquement aux centres de l'émission et de l'éjaculation (Czyba et Montella, 1993).

-les myélocères S2, S3 et S4, centre principal parasympathique dit vasodilatateur et mécanique, intervient lors de l'éjaculation.

-les myélocères L1 et L2, centre accessoire orthosympathique dit vasoconstricteur et excrétoire, intervenant dans l'émission.

Le message sensitif qui parvient à la moelle est distribué par des relais vers les centres nerveux supraspinaux. L'activation réflexe des efférences génitales au-niveau de la moelle est ainsi modulée par des informations supplémentaires en provenance du thalamus, de l'hypothalamus et du tronc cérébral.

Les fibres afférentes émettent également des collatérales qui se projettent directement dans les ganglions autonomes situés à la périphérie des organes. Les conséquences fonctionnelles de ces connexions ne sont pas connues mais permettraient d'assurer un premier niveau d'intégration du message sensitif (Houdeau et al., 2001).

2. Voies efférentes (figure 4)

Chaque voie efférente se compose de deux neurones en série ; les neurones pré et post ganglionnaires.

L'innervation sympathique a pour point de départ les segments médullaires thoraco-lombaires puis se prolonge dans les ganglions de la chaîne paravertébrale, le plexus coeliaque et le plexus pelvien. A partir de ces relais, les neurones post ganglionnaires du système sympathique courent dans les nerfs pelviens et/ou honteux pour atteindre l'appareil génital (Houdeau et al., 2001).

L'innervation parasympathique a pour point de départ les segments sacrés. Les neurones pré-ganglionnaires empruntent les nerfs pelviens pour faire relais avec les neurones post-ganglionnaires dans le plexus pelvien.

Le plexus pelvien constitue donc un carrefour essentiel pour l'innervation efférente de l'appareil génital. Le plexus pelvien est situé à proximité du rectum et de la prostate et les multiples ganglions qu'il comporte (ganglions pelviens), constituent les relais des fibres parasympathiques (Barone, 1990). Ces dernières se distribuent ensuite au rectum, à la vessie, à la prostate, à l'urètre et à ses formations annexes. Certaines gagnent les formations érectiles du pénis en accompagnant les diverses branches de l'artère honteuse interne.

3. Voies afférentes (figure 4)

L'innervation sensitive donc afférente des organes génitaux internes est assurée par les nerfs pelviens et hypogastriques. La sensibilité des organes génitaux externes est transmise par les fibres afférentes des nerfs honteux, pelviens et hypogastriques (Houdeau et al., 2001).

D'autres voies afférentes proviennent du cerveau qui déclenche ou inhibe l'érection suivant le centre médullaire atteint (Cziba et Montella., 1993).

Les voies afférentes aux centres médullaires de l'émission et de l'éjaculation sont les mêmes voies somatiques et neuro-végétatives qui interviennent dans l'érection.

La Figure 4 représente l'organisation extrinsèque de l'innervation afférente et efférente de l'appareil génital chez le mâle.

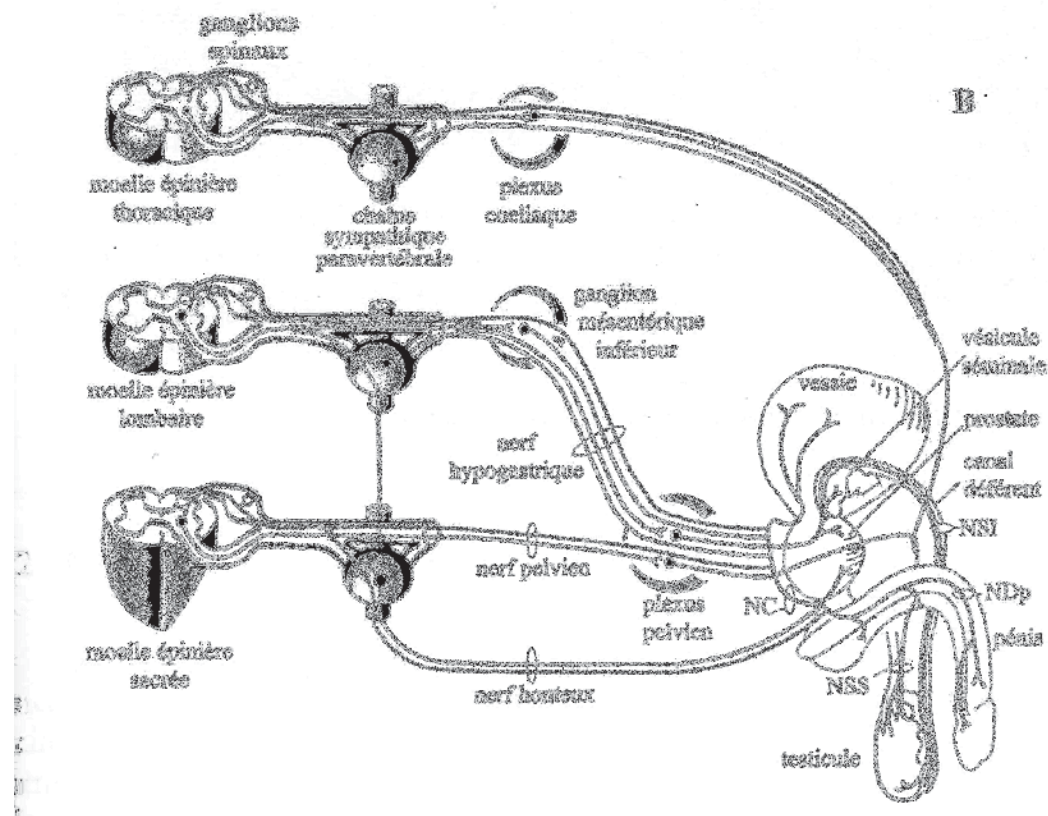


Figure 4 : Organisation extrinsèque de l'innervation efférente (noir) et afférente (gris) de l'appareil génital chez un mammifère de sexe mâle (D'après Houdeau et al., 2001).

NC = nerf caverneux

NDp = nerf dorsal du pénis

NSI = nerf spermatique inférieur

NSS = nerf spermatique supérieur

4. Physiologie nerveuse de l'érection et de l'éjaculation

Lorsque le pénis est au repos, un tonus sympathique contracte les artérioles terminales du pénis et les cellules musculaires des corps spongieux et caverneux. Le muscle rétracteur du pénis est contracté, il maintient les corps caverneux dans le fourreau.

Une stimulation sexuelle peut avoir deux origines :

- une stimulation de l'appareil génital intégrée par la moëlle épinière
- une stimulation générée par la vue, les odeurs et intégrée au niveau du système nerveux central

Elles entraînent toutes les deux l'activité du système parasympathique, lequel entraîne la relaxation des parois des artères dans le pénis, la relaxation des cellules musculaires des corps érectiles nécessaires à l'augmentation de débit sanguin dans le pénis. De plus, fait important chez le taureau, la stimulation sexuelle entraîne aussi le relâchement du muscle rétracteur du pénis nécessaire à son extériorisation.

La contraction des muscles lisses de l'épididyme, des canaux déférents et des glandes accessoires intervient en réponse à la stimulation du nerf hypogastrique.

L'arrêt de l'érection correspond à la chute de l'activité parasympathique et à la reprise de l'activité sympathique (Houdeau et al., 2001).

Les neuromédiateurs intervenant lors de l'érection ne se limitent pas aux systèmes adrénériques et cholinériques faisant respectivement intervenir l'adrénaline et l'acétylcholine. Un autre type de neuro-transmetteur intervenant dans le mécanisme de l'érection du pénis a été mis en évidence : il s'agit du VIP : Vasoactive Intestinal Polypeptide. En clinique humaine, le VIP ou citrate de sildénafil est utilisé pour traiter les patients atteints de troubles érectiles (Nom déposé : Viagra®). Sa libération lors de l'excitation parasympathique provoque une chute de la résistance vasculaire des parois des artères du pénis provoquant l'augmentation du débit artériel (Setchell., B.P., 1991).

L'érection et l'éjaculation sont sous le contrôle du système nerveux. Le chapitre suivant décrit comment ces phénomènes physiologiques peuvent être provoqués artificiellement, par électrostimulation, dans le cadre de l'électroéjaculation

3) Electrostimulation de l'érection et de l'éjaculation : principe de l'électro-éjaculation

La Figure 5 représente de façon schématique le système nerveux qui innervé l'appareil génital du taureau. Le principe de l'électro-éjaculation est de faire passer un courant de façon diffuse dans la sphère génitale de manière à provoquer l'excitation des différents centres nerveux responsables de l'érection et de l'éjaculation ; ces derniers étant situés dans la moelle épinière lombaire et sacrée (notés respectivement Centre 2 et Centre 1 sur la figure 5).

Un générateur produit de l'électricité qui est transmise par l'intermédiaire d'électrodes à l'animal. Les électrodes rectales sont les plus couramment utilisées aujourd'hui car elles permettent dans une certaine mesure de mieux contrôler le site de la stimulation. La stimulation de nerfs qui passent à proximité de la zone stimulée, par exemple le nerf sciatique, peut provoquer des contractions musculaires non souhaitées (Stievenart, 1997).

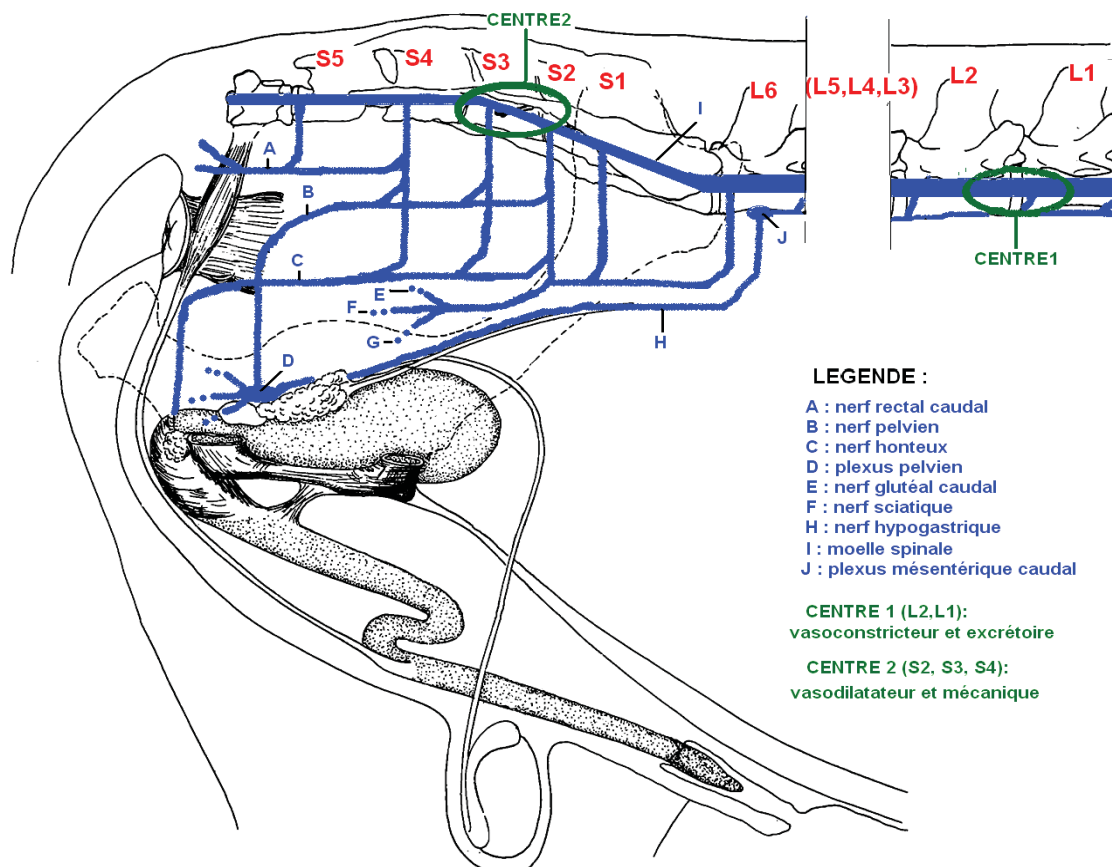


Figure 5 : Représentation schématique du système nerveux innervant l'appareil génital chez le taureau. (D'après Getty, 1964 et Dyce et al, 1987)

La relation entre le lieu de la stimulation et les effets provoqués a été étudiée (Easley, 1970) :

- l'application de stimuli au-dessus et caudalement par rapport au corps de la prostate provoque l'érection

- la stimulation de la zone située crânialement par rapport à la prostate, correspondant aux ampoules déférentielles et à une partie des glandes vésiculaires, entraîne l'émission du sperme dans l'urètre.

Ces résultats expérimentaux confirment bien la présence de deux centres nerveux et leur implication dans la physiologie de l'érection et de l'éjaculation.

Lors d'expériences d'électro-éjaculation chez le bélier (Hovell et al., 1969), la reproduction des évènements séquentiels de l'éjaculation naturelle a été mise en évidence : contraction des ampoules du conduit déférent et envoi du sperme dans l'urètre (émission), expulsion du sperme à travers le sphincter externe grâce à la contraction des parois de l'urètre et des muscles environnants (éjaculation proprement dite). Cette méthode a donc été utilisée chez différentes espèces de mammifères pour récolter le sperme.

D METHODES DE RECOLTE DU SPERME

1) La collecte à l'électro-éjaculateur (Stievenart, 1991)

L'électro-éjaculation permet de provoquer l'éjaculation par une stimulation électrique. Un générateur produit de l'électricité qui est transmise par l'intermédiaire d'électrodes à l'animal. L'interface tissu/électrodes (résistance interne) joue un rôle non négligeable car la stimulation électrique doit parvenir jusqu'aux nerfs pour provoquer l'érection et l'éjaculation.

1. Fonctionnement de l'électroéjaculateur

- Le générateur

Le développement de la technique d'électro-éjaculation a abouti à la mise au point d'appareillages compacts et robustes, équipés de transistors et circuits intégrés pour étendre la gamme des stimulations possibles. Les appareils fonctionnent le plus souvent à partir de batteries de faible voltage (Martin, 1978 et Brindley, 1981).

- Les électrodes

Les électrodes utilisées aujourd'hui pour l'électro-éjaculation sont rectales afin de limiter la stimulation des tissus environnants. Elles sont introduites dans le rectum préalablement vidé des fécès. Elles sont soit fixées à la main de l'opérateur, soit fixées à une sonde rectale. Elles doivent être en contact avec le plancher du rectum, dans la région des glandes vésiculaires, crânialement à la prostate.

Les premières électrodes équipant les sondes rectales étaient des électrodes circulaires, utilisées par Laplaud et Cassou en 1945. Les électrodes longitudinales ont été créées en 1954. Les essais comparatifs entre les deux types d'électrodes sont en faveur des électrodes longitudinales, qui permettent d'obtenir de meilleurs résultats de collecte (Ball et Furman, 1972).

L'intérêt des électrodes fixées sur la main est de permettre à l'utilisateur de palper les organes pelviens (prostate, glandes vésiculaires) et de stimuler une zone précise et limitée. Les contractions musculaires non souhaitées sont ainsi fortement diminuées chez le taureau (Easley, 1970). Cependant, des risques de blessures liées soit à l'électricité, soit à la chute de

l'animal sont à craindre pour l'opérateur. C'est pourquoi les électrodes sur sonde rectale sont les plus utilisées actuellement.

Un des modèles vendus aux Etats-Unis et utilisé en Europe est l'Electrojac®. 3 électrodes longitudinales font saillie sur la sonde (représentée sur la figure 6), pour permettre le contact avec la muqueuse rectale.



Figure 6 : Représentation schématique de la sonde Electrojac® (D'après Cuisenier, 1996).

- Les paramètres de stimulation

Les appareils électriques actuels permettent de faire varier la fréquence, la tension et l'intensité électrique. Des programmes de stimulation sont enregistrés dans les appareils récents.

Paramètres électriques :

-La tension : en général, une tension de 20 volts est utilisée quelle que soit l'espèce animale. La tension maximale utilisable est fonction des réactions de l'animal. La tension nécessaire à l'obtention d'une éjaculation varie en fonction des individus en raison de différences de résistance de l'interface tissu/électrodes. L'utilisation d'une forte tension augmente les risques de contractions musculaires, de brûlures de la muqueuse et d'électrocution.

L'utilisation d'un faible voltage permet de diminuer ces risques mais en contre partie le temps et le nombre de stimulations nécessaires sont plus importants.

-L'intensité : elle est liée à la forme et à la surface de l'électrode utilisée

-La résistance interne correspond à la résistance de tout ce qui se trouve entre les électrodes rectales et les nerfs. Elle varie avec l'humidité (l'humidité diminue la résistance), et avec l'encombrement du rectum (la présence de fèces augmente la résistance et peut être la source d'échecs). C'est pourquoi le rectum du taureau doit être préalablement vidé de son contenu et un gel lubrifiant doit être appliqué sur la sonde pour faciliter son introduction et permettre un meilleur contact entre les tissus et les électrodes.

Modèle de stimulation :

Les électro-éjaculateurs actuels fonctionnent selon deux modes : automatique ou manuel. Certains possèdent un commutateur permettant de choisir l'un ou l'autre mode de fonctionnement.

Le modèle que nous avons utilisé dans notre étude, Electrojac5®, permet de travailler suivant les deux modes. Le mode automatique est conseillé par le fabricant, il permet d'appliquer des stimulations similaires aux taureaux ; c'est celui qui a été utilisé pour l'expérimentation. Chaque cycle se compose de 32 stimulations, à voltage croissant de la 1^o à la 24^o impulsion (passage de 6 à 21 volts) et à voltage constant de la 24^o à la 32^o impulsion (21 volts). Chaque stimulation dure 2 secondes est suivie par deux secondes de repos.

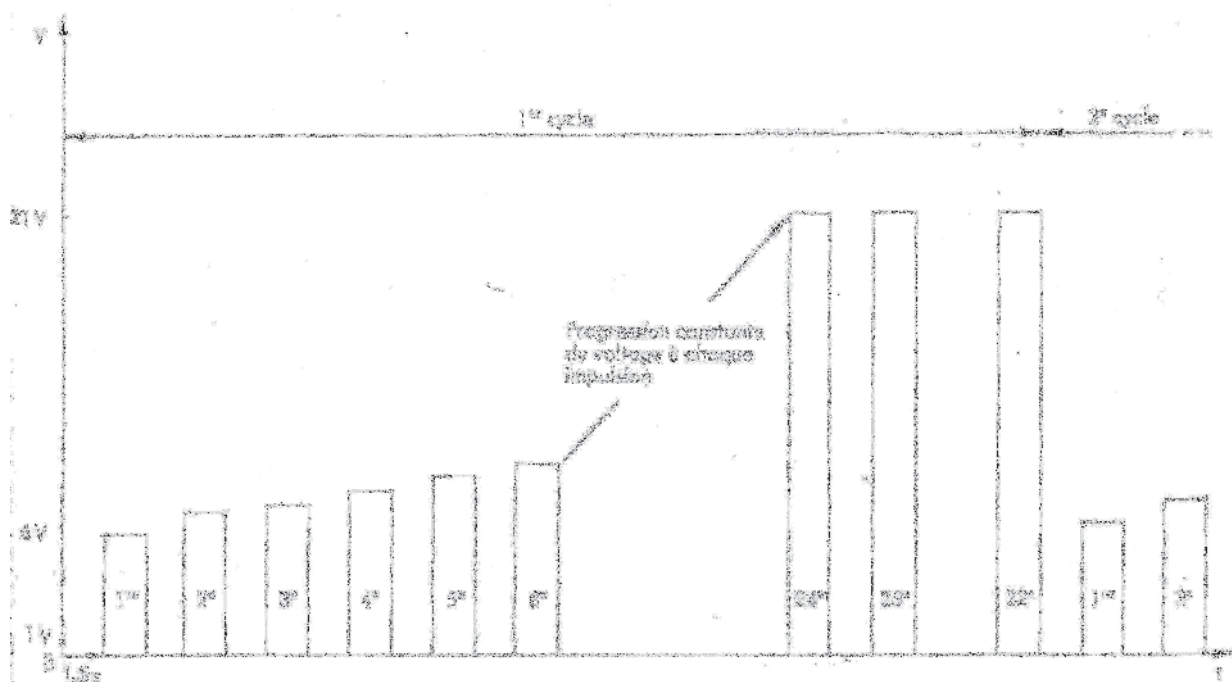


Figure 7 : Cycle de stimulations produites par l'Electrojac 5® (D'après Lacroix, 1988)

2. Déroulement de la collecte de sperme à l'électroéjaculateur chez le taureau

▪ Contention

La contention physique de l'animal est réalisée à l'aide d'une cage de contention. Une sangle pectorale peut être utilisée pour empêcher l'animal de s'affaisser lors des stimulations électriques. L'utilisation d'une sangle abdominale est proscrite par certains auteurs (Lacroix, 1988), car elle constitue une gêne à l'écoulement des liquides spermatiques et peut provoquer une contusion de la verge en turgescence.

▪ Préparation du taureau

La palpation transrectale permet de vérifier l'intégrité des organes génitaux internes. Le massage des glandes vésiculaires et ampoules du conduit déférent stimule l'animal et entraîne la sécrétion du fluide séminal.

Les poils du toupillon peuvent être coupés à ras et l'extrémité du fourreau nettoyée à l'eau (sans antiseptique spermicide), pour éviter une souillure du sperme notamment lors d'éjaculation à l'intérieur du fourreau (Lacroix, 1988).

▪ Stimulation

La récolte de sperme à l'électroéjaculateur nécessite 2 voire trois personnes.

La position de la sonde dans le rectum est importante en raison des localisations des centres nerveux. Ainsi, suivant le degré d'enfoncement, la sonde pourra ou non provoquer l'érection (Lacroix, 1988).

Une personne maintient la sonde dans le rectum pour éviter qu'elle ne soit expulsée par les contractions du taureau. Lorsque l'érection est absente, un opérateur peut éventuellement provoquer l'extériorisation du pénis en appuyant sur l'inflexion sigmoïde.

▪ Récolte

La récolte est effectuée par un opérateur placé à côté du taureau en position accroupie ou à genoux. Un support rigide prolongé d'une barre rigide permet de disposer un entonnoir avec un tube à son extrémité pour la récolte du sperme. Le système peut être amélioré par l'ajout d'une poche remplie d'eau chaude autour de l'entonnoir, permettant le maintien du sperme à 37°C (figure 8).

La stimulation électrique appliquée dans le rectum du taureau provoque d'abord la stimulation des glandes annexes et l'excrétion de liquide séminal avant de déclencher l'éjaculation. L'opérateur doit donc attendre que ce liquide spermatique devienne laiteux avant de débiter la collecte, ceci afin d'obtenir un sperme le plus concentré possible (Lacroix, 1988 ; Albert et al.,2007).

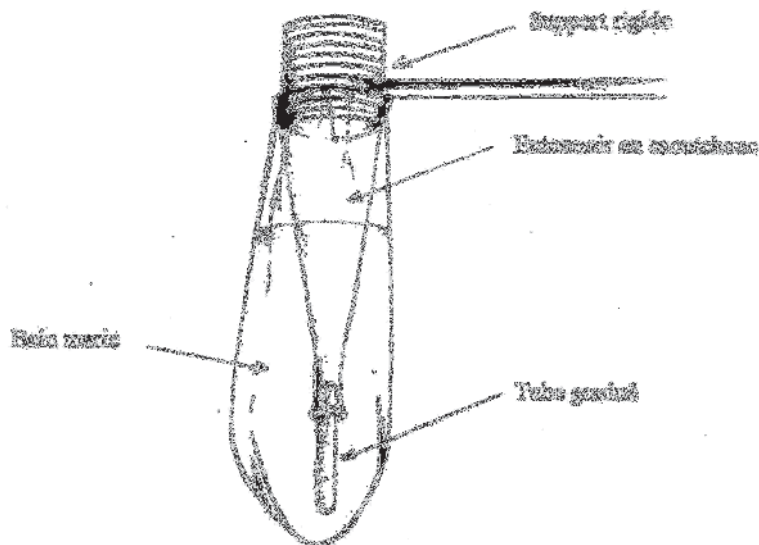


Figure 8 : Matériel de collecte (D'après Cuisenier, 1996)

3. Intérêts et limites de la collecte à l'électroéjaculateur

Les intérêts de la technique de collecte à l'électroéjaculateur sont les suivants :

- Facilité de récolte :

La plupart des électro-éjaculateurs sont dotés d'un mode de fonctionnement automatique d'utilisation facile. Le matériel nécessaire est facilement transportable, en général contenu dans une mallette.

- Observation de la verge :

Quand l'érection a lieu, elle permet un examen attentif de la verge, ce qui est plus difficile avec un vagin artificiel.

- Possibilité de collecter les taureaux qui ne sont pas capables de donner le coup de rein concomitant de l'éjaculation et nécessaire à la collecte au vagin artificiel. Certains taureaux peuvent se montrer récalcitrants à la collecte au vagin artificiel pour des raisons variables : pathologies de l'appareil locomoteur, stress provoqué par la présence humaine, manque de docilité, faible libido.

Les limites de la collecte à l'électroéjaculateur sont les suivantes :

- Qualité de la semence :

Les effets de la technique de collecte à l'électroéjaculateur sur les paramètres de la qualité de la semence des taureaux sont décrits et discutés dans la partie expérimentale de la thèse. Des études antérieures ont montré que la collecte à l'électroéjaculateur entraînait une plus grande dilution de l'éjaculat et une diminution de la qualité de la semence par rapport à une collecte à l'électroéjaculateur (Foster et al, 1967 ; Léon et al.1991; Parvanov et al.2000).

- Inconfort ou douleur du taureau lors des stimulations électriques :

La stimulation électrique diffuse appliquée dans le rectum provoque l'excitation de différents nerfs (en particulier le nerf sciatique), ce qui entraîne des contractions musculaires involontaires de l'animal. Certains taureaux, en particulier les animaux de moins de deux ans, manifestent un inconfort important lors de l'application des stimulations : ils meuglent, se crispent et certains tombent (Etsou et al., 2004).

2) La récolte du sperme au vagin artificiel

Dans les centres de production de semence, le sperme des taureaux est le plus souvent collecté au vagin artificiel. L'obtention d'une semence de qualité avec cette technique nécessite une bonne préparation des taureaux préalablement à la collecte.

1. La préparation des taureaux dans les centres de collecte (Gérard et Khirredine, 2002).

Avant chaque collecte, les taureaux sont amenés dans la salle de monte et attachés dans les stalles d'attente où ils peuvent voir la collecte de sperme des autres taureaux. Lors de la préparation passive, la libido des taureaux est stimulée par voyeurisme et par le conditionnement : la reconnaissance des bruits, des odeurs propres à la salle de monte.

La préparation active consiste à promener le taureau et à l'amener au contact des boutes en train. Les boutes en train sont des taureaux éliminés de la production pour des raisons génétiques et qui sont gardés en raison de leur robustesse et de leur docilité, les vaches étant interdites des centres de production de semence pour des raisons sanitaires et de sécurité.

Lorsque le taureau présente des signes d'excitation (érection, flehmen...), le taurellier lui fait effectuer plusieurs fausses montes. Elles consistent à laisser le taureau monter sur le boute en train sans lui laisser le temps de donner le coup de rein concomitant de l'éjaculation.

Les taureaux réalisent en moyenne deux fausses montes avant d'être récoltés au vagin artificiel mais leur nombre varie en fonction du centre de production de semence et du taureau. La connaissance de chaque animal, de ses habitudes permet d'effectuer une bonne préparation.

2. Matériel

Le principe du vagin artificiel est de reproduire l'ensemble des sensations présentées par les voies génitales femelles lors du coït (chaleur, pression, lubrification), et de recueillir rapidement un éjaculat total et non souillé (Dumont, 1997).

Le matériel est constitué d'un cylindre de caoutchouc rigide (manchon extérieur), d'une trentaine de centimètres de long et d'un diamètre intérieur de 5 cm. Il est doublé à l'intérieur d'une capote amovible et gonflable (manchon intérieur), également en caoutchouc.

La paroi qui le constitue est donc double et peut être remplie d'eau ou d'air à l'aide d'une valve extérieure. Lors du prélèvement, le vagin est prolongé d'un cône en silicone (25 cm de long) à l'extrémité duquel est fixé le tube de collecte. Ce dernier est protégé des chocs mécaniques, thermiques et de la lumière par un manchon opaque et isolant.

L'ensemble du vagin lorsqu'il est prêt à être utilisé est lui-même isolé thermiquement.

Après utilisation, l'ensemble du vagin est entièrement démonté pour être lavé, séché et désinfecté (Gérard et Khirredine, 2002).

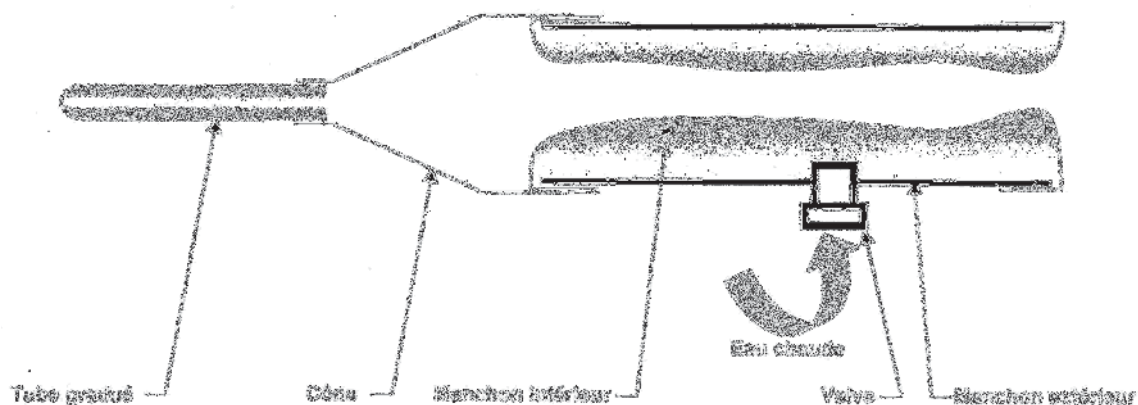


Figure 9 : Représentation schématique du vagin artificiel (D'après Quint, 2004)

3. Technique de collecte de sperme au vagin artificiel

Avant chaque utilisation, les vagins sont maintenus dans une étuve à une température de 45°C. L'eau présente dans la paroi du vagin permet de maintenir une certaine pression et une température du vagin d'environ 42°C lors de la collecte. Si la température de l'eau est trop élevée, l'organe copulateur peut être lésé et le taureau peut refuser la collecte.

Les vagins sont sortis de l'étuve au dernier moment, lorsque le préleveur estime que le taureau est suffisamment préparé. La capote interne du vagin artificiel est plus ou moins gonflée en fonction des habitudes du taureau. L'intérieur du vagin est lubrifié avec de la vaseline ou un gel gynécologique.

Le taurellier laisse alors le taureau monter sur le bœuf en train. Le préleveur s'accroche au taureau, il dévie son pénis en érection dans le vagin artificiel en le saisissant à travers le fourreau. Ce simple contact suffit en général à déclencher le saut et l'éjaculation qui ne durent que quelques secondes. L'opérateur retourne ensuite le vagin artificiel et le sperme s'écoule dans le tube collecteur (Dumont, 1997 et Gérard et Khirredine, 2002).

Les intérêts de la collecte au vagin artificiel sont les suivants :

-Qualité de la semence :

La collecte au vagin artificiel donne un éjaculat naturel, induit par une libido nécessaire et suffisante, et produit par un comportement physiologiquement proche du coït. C'est pourquoi elle permet d'obtenir le meilleur sperme possible à un moment donné.

-Observation de la capacité à saillir du taureau :

Dans le cadre d'un contrôle de fertilité, la collecte au vagin artificiel permet d'apprécier l'aptitude à la saillie du taureau, qui est fonction de la libido du taureau et de ses capacités à sauter et à introduire le pénis dans le vagin (érection et intromission).

Les limites de la collecte au vagin artificiel sont les suivantes :

-La principale limite est l'incapacité à collecter les taureaux qui refusent de donner le coup de rein concomitant de l'éjaculation et nécessaire à la collecte au vagin artificiel : certains taureaux peuvent se montrer récalcitrants à la collecte au vagin artificiel pour des raisons variables : pathologies de l'appareil locomoteur, stress provoqué par la présence humaine, manque de docilité, faible libido.

Les taureaux des centres de production de semence sont entraînés et habitués à être collectés au vagin artificiel. Les taureaux en ferme ne sont pas habitués à la monte en main. C'est

pourquoi la collecte au vagin artificiel en ferme ne peut se faire que sur des taureaux suffisamment dociles. Elle nécessite également la présence de vaches en chaleur au moment de la collecte, ce qui entraîne la contention et la manipulation d'animaux supplémentaires.

Une alternative à la méthode de collecte classique au vagin artificiel est l'utilisation d'un vagin artificiel interne. Le dispositif est constitué d'un cylindre de caoutchouc inséré et fixé dans le vagin d'une vache en chaleur le jour de la collecte. Après la saillie de la vache ainsi équipée, le vagin artificiel est retiré et la semence est récupérée pour être analysée. Les inconvénients principaux sont : le coût élevé lié à l'utilisation de femelles boute en train, la transmission possible de maladies vénériennes et surtout l'incapacité à collecter certains taureaux pourtant aptes à reproduire mais qui vont refuser le saut le jour de la collecte. L'efficacité du vagin artificiel interne a été testée lors d'évaluations de la fonction reproductrice des taureaux et comparée à une récolte de semence par électro-éjaculateur (Barth et al., 2003). 50 à 70% des taureaux en production ont pu être récoltés au vagin artificiel interne, alors que la semence est obtenue systématiquement lors des collectes à l'électro-éjaculateur.

L'avantage principal est que le vagin artificiel interne permet d'observer la capacité à saillir des taureaux en même temps qu'il permet d'obtenir un échantillon de semence de l'animal. Des études ont montré que lors d'évaluations classiques de l'aptitude à la reproduction des taureaux, c'est-à-dire basées sur l'utilisation d'un électro-éjaculateur ; un taureau sur 5 est déclaré satisfaisant alors qu'il est en réalité incapable de saillir (Blockey, 1980). L'autre avantage est la sécurité de l'opérateur lors de la collecte, par rapport à une collecte avec un vagin artificiel classique.

3) La récolte du sperme par massage transrectal

Les taureaux calmes et dociles, en repos sexuel, sont de bons candidats pour être collectés par massage transrectal. L'examineur introduit sa main dans le rectum et après l'examen des glandes accessoires, il commence à appliquer un mouvement longitudinal d'avant en arrière sur les ampoules du conduit déférent, la prostate et périodiquement l'urètre. Le fait de stimuler en plus les glandes vésiculaires n'apporte pas de meilleurs résultats. Le massage est effectué jusqu'à ce qu'un échantillon de semence ait pu être collecté ; mais si rien n'est collecté au bout de 2 à 3 minutes, la collecte sera sûrement un échec. Les inconvénients principaux de la technique sont l'irritation de la muqueuse rectale, la faible fréquence des érections observées et la difficulté à masser des taureaux peu dociles. De plus, la technique est assez laborieuse (Albert et al., 2007).

E ACTIVITE DE COLLECTE DE SEMENCE EN FRANCE

En France, deux mille taureaux reproducteurs destinés à la production de paillettes d'insémination sont situés dans les centres de collecte de semence ; environ cent mille taureaux destinés à la monte naturelle sont présents dans les élevages.

1) Présentation de l'activité des centres d'insémination

1. Entretien des taureaux (Gérard et Khirredine, 2002)

Les centres de production de semence hébergent trois types de taureaux: les taureaux en lay-off, les taureaux en production et les taureaux en arrêt de production dans l'attente des résultats de testage.

-les taureaux dits en lay-off sont des taureaux mis en repos sexuel après avoir constitué une réserve génétique de 3000 à 4000 doses par animal. L'influence de l'alimentation sur la qualité ou la quantité de la semence des taureaux reproducteurs est peu documentée. On considère que les besoins de production représentent 5 à 10% des besoins d'entretien. Des apports journaliers de 10 UFL et de 1000 g de PDIN et PDIE couvrent largement les besoins des animaux (Enjalbert, 1998).

Les déficits énergétiques se traduisent chez le jeune par un retard à la puberté et une baisse de la production et de la qualité de la semence produite. Chez l'adulte, la sous-alimentation comme la suralimentation entraînent surtout une baisse de la libido.

Les carences en minéraux et vitamines sont exceptionnelles chez les taureaux d'insémination. Le zinc, le cuivre et la vitamine A jouent un rôle important pour la fonction de reproduction. Le sélénium est important surtout pour son rôle dans la contraction musculaire (Hurley et Doane, 1989).

2. La salle de monte (Gérard et Khirredine, 2002)

La qualité bactériologique de la semence récoltée dépend des conditions de collecte, de la propreté du taureau mais aussi de la propreté de la salle de monte. Son entretien régulier est réalisé après chaque séance de collecte, il permet d'éviter la contamination de la semence par d'éventuelles souillures. Différents systèmes de sols (résine, sable, copeaux de bois, tapis en

caoutchouc antidérapants, etc) sont utilisés pour assurer le confort des taureaux lors de la monte, mais tous doivent faire l'objet d'un entretien et d'un nettoyage réguliers.

La salle de monte est équipée d'une zone de sécurité pour le personnel et de stalles d'attente où sont placés les taureaux avant leur collecte.

3. Examen séminologique

L'éjaculat est caractérisé par différents paramètres séminologiques qui constituent le **spermogramme** (Gérard et Khirredine, 2002).

▪ Examen du sperme

L'examen séminologique de l'éjaculat comprend un examen macroscopique et un examen microscopique. Il permet d'évaluer si la semence récoltée sera de qualité suffisante pour être conservée.

- Le **volume** (en ml) est évalué par lecture directe sur un tube de collecte gradué.

- Les **aspects de l'éjaculat** tels que la couleur, la viscosité sont analysés par simple observation de l'éjaculat dans le tube de collecte ; un sperme normal est de couleur blanchâtre à blanc-jaunâtre et de consistance laiteuse à lactocrémeuse.

Cette observation permet le plus souvent la détection d'anomalies, comme la présence de sang ou de pus par exemple.

- L'évaluation de la **motilité massale** est effectuée à partir de sperme pur, dans les dix minutes qui suivent la récolte,

Le matériel nécessaire se compose d'une lame préalablement chauffée à 37°C et d'un microscope à platine chauffante. L'opérateur dépose une goutte de sperme (6µL, 5 mm de diamètre) à la surface d'une lame.

Au grossissement 100, l'intensité des vagues provoquées par le déplacement des spermatozoïdes est évaluée. L'épaisseur de l'anneau formé par les spermatozoïdes en périphérie d'une goutte est également appréciée.

La motilité massale est notée de 0 à 5.

note 0 : absence de mouvement des spermatozoïdes

note 1 : léger mouvement perceptible, pas de vague

note 2 : vagues peu nombreuses

- **Examen de la semence** (après dilution du sperme au 20^{ème} dans du diluant conservé à 37°C)

- La **motilité individuelle** est mesurée au microscope au grossissement 200 entre lame et lamelle, elle correspond à la proportion de spermatozoïdes avec un mouvement rectiligne qui traversent le champ du microscope. Les spermatozoïdes bougeant sur place, tournant en petits cercles ou se déplaçant en arrière du fait d'une queue repliée ne sont pas considérés comme mobiles.

Pour indication, les valeurs moyennes observées dans les centres d'insémination Français chez un taureau adulte Prim'Holstein prélevé deux fois par semaine sont : (Gérard et Khirredine, 2002)

- Volume de l'éjaculat : 5 à 8 ml.
- Concentration : 0.8 à 2 milliards de spermatozoïdes par ml.
- Nombre de spermatozoïdes par éjaculat : 5 à 15 milliards.
- Pourcentage de spermatozoïdes motiles : 40 à 80%
- Pourcentage de spermatozoïdes anormaux : 6.5 à 9.5%

Différents facteurs affectant le spermogramme ont été mis en évidence.

Lors d'une collecte au vagin artificiel, la préparation sexuelle des taureaux (fausses montes, attente passive derrière le bœuf en train) augmente de façon significative la quantité de spermatozoïdes produits (Almquist et Hale, 1956).

Au cours d'éjaculations successives, la concentration en spermatozoïdes diminue de façon significative, alors que la motilité massale et le volume de l'éjaculat restent stables (Foster et al, 1967).

Des variations interindividuelles de qualité de la semence collectée (pour plusieurs taureaux appartenant à la même race) sont observées (Foster et al, 1967 ; Léon et al, 1991).

Un effet de la méthode de collecte est observé sur des éjaculats récoltés à l'électro-éjaculateur, qui présentent un volume plus important et une plus faible concentration en spermatozoïdes que ceux prélevés au vagin artificiel, alors que la motilité massale et la quantité de spermatozoïdes produits ne sont pas significativement différents (Foster et al, 1967).

4. Dilution de la semence (Gérard et Khirredine, 2002)

Après mesure de la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat, la quantité de dilueur à apporter à l'éjaculat et le nombre de doses qui peuvent être produites sont alors calculées. Le nombre de spermatozoïdes par paillette est de 20 millions pour un volume de 0.225 mL. Le dilueur doit être porté à une température de 35°C avant d'être ajouté à la semence.

Il permet d'apporter aux spermatozoïdes les éléments nutritifs et protecteurs permettant leur survie après congélation. Il contient un substrat énergétique nécessaire au maintien du métabolisme des spermatozoïdes (fructose, glucose ou lactose), et doit maintenir une pression osmotique et un équilibre électrolytique physiologiques. Le dilueur doit aussi avoir un bon pouvoir tampon afin de limiter les variations de pH néfastes à la survie des spermatozoïdes.

La cryopréservation et la congélation des spermatozoïdes sont assurées par la présence de lécithines, protéines et lipoprotéines du jaune d'œuf ou du lait, l'ajout de glycérol permet d'éviter la formation de cristaux de glace qui lèsent les membranes cellulaires. La législation européenne impose l'ajout de substances antibiotiques au dilueur pour garantir la qualité bactériologique de la semence.

En pratique, les dilueurs sont aujourd'hui des produits prêts à l'emploi. L'ensemble dilueur/spermatozoïdes est maintenu à 4°C pendant une heure après mélange pour réfrigérer la semence. 3 heures d'équilibration supplémentaires sont ensuite nécessaires pour permettre les échanges entre le dilueur et les cellules.

5. Mise en paillettes et congélation de la semence (Gérard et Khirredine, 2002)

La mise en paillettes est automatisée et réalisée dans les 4 heures qui suivent le mélange dilueur/semence dans une vitrine réfrigérée.

Sur chaque paillette, la législation impose de faire figurer :

- le nom du taureau
- son numéro national
- son statut IBR
- le numéro d'enregistrement du centre de collecte
- la date de collecte

-le code du taureau (constitué du code du centre d'insémination, du code race et du numéro d'identification).

Juste avant la congélation, les paillettes sont disposées sur des grilles métalliques appelées racks. Les laboratoires utilisent des congélateurs programmables dans lesquels sont préenregistrés les paramètres de congélation. Une congélation dure environ 15 minutes. Deux paillettes prises au hasard sont utilisées pour le contrôle de qualité après décongélation. Elles sont décongelées dans un bain-marie à 37°C. Une goutte de semence provenant de chaque dose est ensuite montée entre lame et lamelle afin de réaliser un examen direct au microscope au grossissement 200.

Le pourcentage de spermatozoïdes fléchants doit être supérieur à 40%. Lorsque les deux paillettes sont conformes aux critères de décision, l'éjaculat est stocké et est distribué aux inséminateurs.

Les techniciens des centres de production de semence ainsi que les vétérinaires sont également amenés à réaliser des collectes de taureaux en ferme.

2) La collecte de taureaux en ferme

La collecte de taureaux en ferme peut être réalisée pour deux raisons : contrôle de la qualité du sperme du taureau et réalisation de paillettes à partir de taureaux de monte privée.

Le contrôle de la qualité du sperme du taureau peut être réalisé pour différentes raisons :

- achat d'un taureau reproducteur.
- souscription à un contrat d'assurance
- vérification de la qualité sanitaire de la semence
- vérification de la fonction sexuelle d'un taureau avant la saison de reproduction.
- infécondité de troupeau.

L'examen de la semence du taureau ne constitue qu'une partie de l'évaluation de son aptitude à la reproduction. L'aptitude à la saillie est fonction de la libido du taureau et de ses capacités à sauter et à introduire le pénis dans le vagin (érection et intromission).

Les collectes à l'électro-éjaculateur réalisées en ferme visent surtout à contrôler l'aptitude à la reproduction du taureau (Cuisenier, 1996 ; Lacroix, 1988). L'importance de cette activité en France n'est pas quantifiée.

La plupart des centres de collecte de semence proposent à leurs adhérents la possibilité de collecter leurs taureaux en ferme. La collecte de semence dans le cadre de la monte privée est soumise à certaines obligations réglementaires. Chaque taureau doit être prélevé sur l'exploitation et la semence produite ne pourra être utilisée que pour inséminer les vaches de l'exploitation.

Les éleveurs sollicitent ce service dans le but de faire produire des doses pour une future utilisation en IA sur le cheptel (taureau en copropriété ou avant sa vente). Après avoir réalisé un stock de paillettes, l'éleveur peut choisir de se séparer de son taureau tout en conservant sa génétique ; ce qui lui permet de supprimer les coûts d'entretien d'un taureau.

Le vétérinaire responsable du centre de collecte de Coopelso réalise environ 50 collectes par an dans le cadre de la monte privée, destinées à la réalisation de paillettes. La technique utilisée est essentiellement le vagin artificiel. Elle nécessite la présence de vaches en chaleur le jour de la collecte et des moyens de contention adaptés.

La technique peut prendre plusieurs heures car il faut que le taureau soit décidé à sauter et il est difficile dans ces conditions de conserver le vagin artificiel à une température la plus adaptée possible (environ 42°C). Certains échecs sont observés : environ 20% des tentatives de collecte sont infructueuses. En effet, les taureaux peuvent se montrer récalcitrants à la collecte pour des raisons variables : pathologies de l'appareil locomoteur, stress provoqué par la présence humaine, manque de docilité, faible libido ou absence de vaches en chaleur.

PARTIE EXPERIMENTALE

L'objectif de notre étude est de comparer la qualité biologique de la semence collectée au vagin artificiel à celle collectée à l'électro-éjaculateur sur des taureaux d'insémination artificielle de différentes races françaises, dans le cadre d'une coopérative d'élevage et d'insémination artificielle : Coopelso.

Les paramètres séminologiques ont été évalués avant et après congélation.

Les prélèvements des taureaux ont été réalisés dans le centre de collecte de Midatest, basé à Coopelso dans le Tarn, pendant la période d'octobre et de novembre 2007.

Ces données sur la collecte à l'électroéjaculateur (en particulier l'obtention et la qualité des éjaculats collectés), permettront d'envisager ou non son utilisation dans le cadre de la monte privée.

A MATERIELS ET METHODES

1) Animaux

Dix taureaux d'insémination artificielle ayant déjà été collectés au vagin artificiel ont été inclus dans l'essai. Les taureaux Tam Bor, Uvilo, Saupiquet, Ulot n'avaient été prélevés que pour la réalisation des doses de testage. Une dizaine de sauts avaient ainsi été réalisés pour la production d'environ 3000 paillettes. Les 6 autres taureaux avaient été en production et devaient être réformés pour des raisons génétiques. Les tableaux 3 et 4 présentent les caractéristiques des taureaux inclus dans l'étude.

Tableau 3 : Caractéristiques des 5 taureaux de race laitière du GROUPE 1

Race	Nom	Collectes réalisées avant expérimentation		N°National	Date de naissance
		Nombre de sauts	Motilité moyenne après congélation		
Brun des Alpes	AJUVAL	50	3.9	4806031422	11/09/05
Brun des Alpes	ALLIEN	49	3	1205195019	9/11/05
Prim'Holstein	TAM BOR	testage	-	1203176161	12/09/02
Prim'Holstein	TAQUIN DB	32	3.5	3141072715	16/06/02
Prim'Holstein	UVILO MTY	testage	-	1203157367	4/06/03

Tableau 4 : Caractéristiques des 5 taureaux de race allaitante du GROUPE 2

Race	Nom	Collectes réalisées avant expérimentation		N°National	Date de naissance
		Nombre de sauts	Motilité moyenne après congélation		
Blond d'Aquitaine	ANIS	12	3.9	1010775089	1/12/05
Blond d'Aquitaine	SAUPIQUET	testage	-	6464123029	21/05/01
Blond d'Aquitaine	SAXO	64	3.6	4639791303	16/09/01
Blond d'Aquitaine	ULOT	testage	-	1203055354	9/02/03
Blond d'Aquitaine	UXUE	12	3.3	6464150780	14/02/03

Les taureaux de l'expérimentation, comme les taureaux en production, étaient logés dans des boxes individuels de 22 m², paillés tous les jours avec 10 kg de paille. Le défumage était réalisé toutes les trois semaines. Les taureaux ont été nourris avec une ration à base de foin à volonté (15 kg en moyenne), distribué matin et soir, et de concentrés (2.5 kg en moyenne, de fabrication Groupe Occitan).

2) Collecte de semence

Les dix taureaux ont été répartis en nombre égal (n=5) en deux groupes : le GROUPE 1 correspondant aux taureaux de race laitière et le GROUPE 2 correspondant aux taureaux de race allaitante. Ils ont réalisé une période d'entraînement d'une durée de deux semaines pendant laquelle ils ont été alternativement prélevés deux fois au vagin artificiel et deux fois à l'électro-éjaculateur. L'objectif des deux premières semaines d'entraînement était d'entraîner les taureaux à la collecte à l'électroéjaculateur et de stabiliser leur production de semence, certains taureaux n'ayant pas été collectés depuis plusieurs mois. Les données recueillies au cours de ces deux semaines n'ont pas été prises en compte dans l'analyse des résultats. Le dernier jour de la collecte d'entraînement, les dix taureaux ont été lavés et les poils au niveau de l'extrémité du fourreau ont été rasés.

Par la suite, chaque taureau a été prélevé successivement avec chacune des deux méthodes de collecte, électro-éjaculation et vagin artificiel selon un plan expérimental alterné :

GROUPE 1 : électro-éjaculateur puis vagin artificiel

GROUPE 2 : vagin artificiel puis électro-éjaculateur

et ceci pendant quatre semaines, soit au total quatre fois à l'électro-éjaculateur et quatre fois au vagin artificiel.

Chaque taureau a été prélevé deux fois par semaine avec deux ou trois jours de repos entre chaque collecte (voir calendrier).

Tableau 5 : Plan expérimental alterné sur une période de 6 semaines des collectes de sperme des taureaux à l'Electroéjaculateur = **E et au Vagin Artificiel = **VA**.**

Période	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi
Semaine d'entraînement 1	Groupe 1 : E Groupe 2 : VA	Repos	Groupe 1 : VA Groupe 2 : E	Repos	Repos
Semaine d'entraînement 2	Groupe 1 : VA Groupe 2 : E	Repos	Groupe 1 : E Groupe 2 : VA	Repos	Repos
Semaine expérimentale 1	Repos	Groupe 1 : VA Groupe 2 : E	Repos	Repos	Groupe 1 : E Groupe 2 : VA
Semaine expérimentale 2	Repos	Groupe 1 : VA Groupe 2 : E	Repos	Repos	Groupe 1 : E Groupe 2 : VA
Semaine expérimentale 3	Repos	Groupe 1 : VA Groupe 2 : E	Repos	Repos	Groupe 1 : E Groupe 2 : VA
Semaine expérimentale 4	Repos	Groupe 1 : VA Groupe 2 : E	Repos	Repos	Groupe 1 : E Groupe 2 : VA

3) La collecte à l'électro-éjaculateur

1. Description du matériel

L'électroéjaculateur est un Electrojac5 (Figure 10), distribué par IDEAL INSTRUMENTS®, filiale de la société NEOGEN. La batterie qui équipe l'électroéjaculateur délivre 12V. La sonde rectale est de forme ogivale, constituée de résine synthétique dans laquelle sont inclus les composants électroniques. Le corps de la sonde pèse 1.7 kg et mesure 40 cm de long pour un diamètre de 6 cm ; il permet un contact étroit avec la muqueuse rectale. La sonde comporte trois électrodes de cuivre longitudinales ; la différence de potentiel s'établit entre l'électrode centrale et chacune des électrodes latérales.

L'électro-éjaculateur a été utilisé en mode automatique, avec ce mode d'utilisation le circuit délivre une série de 32 impulsions électriques, d'intensité croissante du premier au vingt quatrième cycle. Chaque impulsion dure 2 secondes et est séparée par 2 s de pause. Les 32 impulsions progressent automatiquement et il est possible d'enchaîner directement un deuxième cycle à la suite du premier si l'appareil n'est pas arrêté.

Les cycles peuvent être interrompus soit en arrêtant l'appareil, soit en bloquant la montée en intensité des cycles pendant un temps déterminé. Les cycles d'intensité croissante peuvent ensuite être repris à partir du niveau d'intensité précédent. Cette modification de montée en intensité des cycles est réalisée lorsque l'animal est suffisamment stimulé et que l'intensité nécessaire à l'éjaculation est atteinte, ou lors de réaction adverse de l'animal.



Figure 11 : Photographie de la sonde Electrojac®

2. Déroulement de la collecte

Les animaux sont amenés dans la cage de contention (figure 12), dans laquelle ils sont attachés par la tête. Utilisée pour effectuer le parage des onglons, la cage de contention est située dans un des bâtiments où sont hébergés les taureaux du centre. Elle est adaptée à la contention des taureaux. Son équipement permet le blocage de l'animal à l'avant et de larges accès latéraux facilitent la collecte.

L'animal est seulement maintenu par la tête, il n'y a pas de sangles permettant une sustentation abdominale ce qui apporterait une sécurité supplémentaire en cas de chute. Il faut noter que le taureau Anis, trop craintif pour être amené jusque dans la cage, a été prélevé dans la salle d'attente de la salle de monte à partir de la deuxième semaine d'expérimentation. Les autres taureaux n'ont pas présenté de difficultés particulières pour rentrer dans la cage.



Figure 12 : Photographie de la cage de contention

Le même opérateur, a réalisé l'ensemble des collectes à l'électro-éjaculateur. Préalablement à l'électro-éjaculation, l'opérateur a réalisé une vidange du rectum du taureau et un massage de ses glandes annexes (en particulier les vésicules séminales et les ampoules du conduit déférent) pendant une durée de deux minutes environ. La sonde a été introduite dans le rectum du taureau après lubrification.

Un animalier a veillé à ce que le taureau n'expulse pas la sonde de son rectum en la maintenant par son extrémité. Un deuxième animalier gérait le boîtier de contrôle et se tenait prêt à intervenir suivant les instructions de l'opérateur, soit pour bloquer la montée en intensité des cycles de stimulation, soit pour arrêter le système en cas de problème (chute ou réactions trop importantes du taureau).

L'opérateur avait en charge la collecte et était placé en position accroupie ou à genoux sur le côté droit du taureau. L'entonnoir et le tube de collecte étaient sortis de l'étuve à 44°C lorsque le taureau était prêt à être collecté. Un capuchon isolant et opaque était placé sur le tube de collecte pour éviter la baisse de température du sperme. L'opérateur s'est efforcé à récolter la fraction spermatique de l'éjaculat, c'est à dire à partir du moment où le liquide spermatique prenait une couleur blanc / laiteux.

Pour chaque électro-éjaculation, les réactions des taureaux et leur comportement ont été notés :

- le nombre de cycles d'impulsions électriques nécessaires pour récolter le taureau
- la présence ou non d'une éjaculation, mise en évidence par l'observation d'un changement de couleur du liquide spermatique (ce dernier devient blanc laiteux).
- le palier auquel l'animal éjacule (l'opérateur bloquant alors la montée en intensité).
- la présence ou non d'une érection au moment de la récolte
- les manifestations de douleur telles que meuglements, réactions vives, contractions musculaires importantes
- les chutes éventuelles

4) La collecte au vagin artificiel

Un même opérateur a réalisé l'ensemble des collectes au vagin artificiel, selon les procédures en vigueur dans les centres d'insémination (cf. Revue bibliographique).

Chaque taureau collecté au vagin artificiel (figure 13) a été préparé en réalisant deux fausses montes.



Figure 13 : Vagin artificiel

5) Examen du sperme

Le **volume** (en ml) a été évalué par lecture directe sur le tube de collecte gradué.

La **concentration** (en milliards de spermatozoïdes / ml) a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre étalonné. Cet appareil mesure la densité optique du sperme dilué (40 μ L de sperme dans 960 μ L de serum physiologique).

Les évaluations de la **motilité massale** et de la **motilité individuelle** ont été réalisées selon les procédures en vigueur utilisées à Coopelso (cf. examen séminologique). Les deux notes de motilité ont été transformées en une **note de motilité globale avant congélation** (notée de 0 à 5).

Un **Test de Schalm** a été réalisé sur chaque éjaculat. Il permet la mise en évidence de la présence de leucocytes dans le sperme, signe d'une inflammation de l'appareil génital. Son principe repose sur la réaction de l'ADN des cellules avec le Teepol, alors que l'ADN condensé des spermatozoïdes ne réagit pas avec ce réactif.

1mL de teepol (Leucocyttest®) est mélangé à 0,5mL de sperme pur dans une coupelle. Après 15 secondes d'agitation, la fluidité du liquide obtenu est notée de 0 à 4 selon la grille d'interprétation suivante.

0 = négatif : le réactif est fluide, de couleur violette.

1 = Schalm 1+ : présence de grumeaux fugaces, mélange fluide

2 = Schalm 2+ : présence de grumeaux nets persistants, mélange encore fluide

3 = Schalm 3+ : présence de gros grumeaux, mélange visqueux, consistance du blanc d'œuf

4 = Schalm 4+ : prise en masse du mélange

Le seuil de détection de la méthode est de 100000 cellules/mL de sperme (données ENVT).

5. Evaluation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et de spermatozoïdes morts

Les lames ont été fixées à Coopelso et lues à l'ENVT par le même opérateur.

Dans les minutes qui suivent la collecte de la semence :

- une goutte de sperme est déposée sur une lame
- deux gouttes d'éosine sont mélangées à la goutte de semence pendant 30 secondes
- trois gouttes de nigrosine sont ajoutées à l'ensemble
- A l'aide d'une lame rodée, un étalement est réalisé sur une lame dégraissée avant de la sécher rapidement à l'air.

Le comptage des spermatozoïdes morts et des anomalies s'effectue au microscope à contraste de phase ou sous immersion au grossissement X 1000.

Dans le cadre de l'expérimentation, la concentration des éjaculats étant très variable, un comptage de 200 spermatozoïdes a été réalisé lorsqu'il était possible de compter au grossissement X1000 au microscope un minimum de 10 spermatozoïdes par champ. Lorsque moins de 5 spermatozoïdes par champ étaient présents, le comptage a été effectué sur 100 spermatozoïdes.

Les anomalies morphologiques ont été classées en fonction de leur localisation : anomalies du flagelle, anomalies de la pièce intermédiaire et anomalies de la tête (Tableau 5).

L'étude du pourcentage de morts et du pourcentage d'anomalies a pu être réalisée sur 33 éjaculats collectés au vagin artificiel (7 lames non lisibles), et 25 éjaculats collectés à l'électroéjaculateur (8 lames non lisibles).

Tableau 6 : Classification des anomalies morphologiques des spermatozoïdes

ANOMALIES DU FLAGELLE	Flagelle replié
	Flagelle rudimentaire ou cassé
	Flagelle enroulé
	Gouttelette cytoplasmique distale
ANOMALIES DE LA PIECE INTERMEDIAIRE	Pièce intermédiaire dédoublée
	Déformations de la pièce intermédiaire
	Gouttelette cytoplasmique proximale
ANOMALIES DE LA TETE	Tête piriforme
	Tête repliée
	Tête décapitée
	Tête ronde

6) Examen de la semence après congélation

Une vingtaine de paillettes ont été réalisées à partir de chaque éjaculat collecté selon les procédures en vigueur à Coopelso (cf. Revue Bibliographique).

A l'issue de la phase de congélation, deux paillettes ont été décongelées afin de contrôler le **pourcentage de spermatozoïdes vivants après congélation** qui correspond à la motilité individuelle après congélation. Cette note de motilité exprimée en pourcentage a été transformée en une **note de motilité globale après congélation**, notée de 0 à 5, afin de la comparer avec la note globale de motilité avant congélation.

Lors de la décongélation, les paillettes conservées à -196°C ont été plongées directement dans un bain-marie à 37.5°C pendant 30 secondes.

7) Analyse de variance

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Systat version 10.

Les variables discontinues (motilité de masse, motilité individuelle, motilité globale avant congélation, motilité après congélation, note au Test De Schalm) ont été transformées avant l'analyse statistique avec la formule logarithme décimal.

Les effets de la méthode de collecte sur les paramètres de qualité de la semence ont été étudiés avec le modèle d'analyse de variance suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + A_k + B_j + C_k + A_k * B_j + D_i(B_j) + \epsilon_{ijk}$$

Où Y_{ijk} est le paramètre de qualité de semence étudié pour le taureau i à l'intérieur de la séquence j au cours de la période k .

μ est l'effet moyen général

A_k est l'effet période (1 à 4 semaines)

B_j est l'effet séquence (V/E ou E/V)

$A_i * B_j$ est l'interaction entre la période et la séquence

C_k est l'effet collecte (V ou E)

$D_i(B_j)$ est l'effet taureau (10 taureaux) niché dans l'effet séquence

ϵ_{ijk} est le terme d'erreur du modèle

L'effet de la méthode de collecte sur la résistance à la congélation des éjaculats a été étudié avec le modèle d'analyse de variance suivant :

$$R_{ijk} = \mu + A_k + B_j + C_k + A_k * B_j + D_i(B_j) + \epsilon_{ijk}$$

Où R_{ijk} est la différence entre la note de motilité avant congélation et la note de motilité après congélation étudiée pour le taureau i à l'intérieur de la séquence j au cours de la période k .

μ est l'effet moyen général

A_k est l'effet période (1 à 4 semaines)

B_j est l'effet séquence (V/E ou E/V)

$A_i * B_j$ est l'interaction entre la période et la séquence

C_k est l'effet collecte (V ou E)

$D_i(B_j)$ est l'effet taureau (10 taureaux) niché dans l'effet séquence

ϵ_{ijk} est le terme d'erreur du modèle

B RESULTATS

1) Obtention d'un éjaculat et aptitude à la congélation

Le tableau 7 décrit les nombre et pourcentages d'éjaculats collectés et congelés en fonction de la technique de collecte de sperme (vagin artificiel ou électroéjaculateur).

Tableau 7 : Nombre d' éjaculats collectés et congelés en fonction de la technique de collecte (vagin artificiel ou électroéjaculateur)

Méthode de collecte	Nombre de tentatives de collecte	Nombre d'éjaculats collectés	Nombre d'éjaculats congelés	% d'échecs de collecte	% de non aptitude à la congélation
Vagin artificiel	40	40	36	0	10
Electro-éjaculateur	40	33	22	17.5	33.3

Les collectes réalisées à l'électroéjaculateur qui n'ont permis d'obtenir que du liquide spermatique (concentration nulle en spermatozoïdes) ont été considérées comme des échecs de collecte. Seuls les éjaculats de qualité suffisante (motilité de masse > 30% et motilité individuelle > 2, correspondant à une note de motilité globale avant congélation supérieure à 2), ont été congelés.

Toutes les tentatives de collectes réalisées au vagin artificiel ont permis la récolte d'un éjaculat : soit 40 éjaculats au total et un pourcentage d'échec de collecte **nul**.

36 éjaculats présentant des paramètres séminologiques de qualité suffisante ont pu être congelés, soit un pourcentage de non aptitude à la congélation de **10%**.

Les 40 tentatives de collecte par électro-éjaculateur ont permis la récolte de 33 éjaculats, soit un pourcentage d'échec de collecte de **17.5%**.

22 éjaculats présentant des paramètres séminologiques de qualité suffisante ont pu être congelés, soit un pourcentage de non aptitude à la congélation de **33.3%**.

L'analyse de variance avec mesures répétées (modèle logit) du nombre d'éjaculats collectés et congelés par les deux méthodes de collecte montre un effet significatif de la méthode de collecte :

-le nombre d'éjaculats collectés au vagin artificiel est significativement supérieur au nombre d'éjaculats collectés par électro-éjaculateur (**p = 0.018**).

-le nombre d'éjaculats qui ont pu être congelés est significativement supérieur lorsque la collecte a été effectuée au vagin artificiel par rapport à une collecte à l'électro-éjaculateur. (**p = 0.003**).

Le tableau 8 présente la répartition par race des pourcentages d'échecs de collecte et de non aptitude à la congélation.

Tableau 8 : Répartition par race des pourcentages d'échecs de collecte et de non aptitude à la congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel

	METHODE DE COLLECTE	BLOND D'AQUITAINE	BRUN DES ALPES	PRIM HOLSTEIN
% d'échecs de collecte	Electroéjaculateur	12.5%	25%	33.3%
	Vagin artificiel	0%	0%	0%
% de non aptitude à la congélation	Electroéjaculateur	6.25%	12.5%	16.6%
	Vagin artificiel	0%	0%	0%

On constate que les pourcentage d'échec et de non aptitude à la congélation sont de seulement 12.5% et 6.25% pour les taureaux de race Blond d'Aquitaine alors qu'ils sont respectivement de 25% et 12.5%, 33.3% et 16.6% pour les taureaux de race Brun des Alpes et Prim'Holstein.

2) Caractéristiques des collectes réalisées à l'électroéjaculateur

Le tableau 9 présente les paramètres individuels de collecte à l' électroéjaculateur des 10 taureaux de l'expérimentation.

Tableau 9 : Paramètres individuels de collecte à l'électroéjaculateur

Taureau (race)	Fréquence des échecs de collecte	Moyenne des pulsations nécessaires à la collecte d'un éjaculat	Moyenne du nombre de cycles nécessaires à la collecte	Fréquence des érections observées	Fréquence des opacifications de semence observés
Allien (Brun)	0 / 4	15	1.5	4 / 4	2 / 4
Ajuval (Brun)	2 / 4	30	2	4 / 4	0 / 4
Tam Bor (Prim)	1 / 4	26	2	3 / 4	3 / 4
Taquin DB (Prim)	1 / 4	28	1.33	4 / 4	3 / 4
UviloMTY (Prim)	1 / 4	29	2	4 / 4	0 / 4
Anis (Blond)	0 / 4	22	1	1 / 4	3 / 4
Saupiquet (Blond)	0 / 4	17	1	4 / 4	4 / 4
Saxo (Blond)	2 / 4	26	1.5	1 / 4	2 / 4
Ulot (Blond)	0 / 4	21	1	4 / 4	4 / 4
Uxue (Blond)	0 / 4	13.75	1	4 / 4	4 / 4
Moyenne globale	17.5 %	20.4	1.4	82.5 %	62.5 %

Sur les 40 tentatives de collecte à l'électroéjaculateur, 7 éjaculats n'ont pas été collectés, soit un pourcentage d'échec de 17.5%.

Le nombre moyen de pulsations nécessaires à la collecte est de 20.4, avec des différences très importantes entre taureaux ; par exemple le taureau Uxue a éjaculé à une moyenne de 13.75 impulsions électriques alors que le taureau Ajuval a éjaculé à une moyenne de 30 impulsions électriques.

Le nombre moyen de cycles nécessaires pour collecter un taureau est de 1.4 ; ce qui signifie qu'un éjaculat sur 2 n'a pu être collecté qu'à la suite d'un deuxième cycle.

82.5 % des taureaux ont présenté une érection lors des collectes à l' électroéjaculateur.

Les opacifications de semence n'ont été observés que dans 62.5% des éjaculats collectés.

3 taureaux (Anis, Saxo, Tam Bor) n'ont présenté une érection qu'une seule fois sur les quatre tentatives de collecte.

3) Etude des paramètres séminologiques des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel

Le tableau 8 présente les paramètres séminologiques moyens (\pm écart-type) suivants :

-avant congélation :

volume, test de Schalm, concentration en spermatozoïdes, motilité de masse, motilité individuelle, motilité globale avant congélation, pourcentage de morts, pourcentage d'anomalies (mineures et majeures)

-après congélation :

motilité après congélation

Tableau 10 : Paramètres séminologiques (moyenne ± Ecart-type, étendue) obtenus par les 40 collectes au vagin artificiel et les 33 collectes à l'électroéjaculateur.

PARAMETRES	Moyenne ± Ecart-type (Note minimale.-Note maximale)		Effet de la méthode de collecte (ANOVA)
	Vagin artificiel (40 collectes, 37 éjaculats congelés)	Electro- éjaculateur (33 collectes, 23 éjaculats congelés)	
Volume (en mL)	6.3 ± 2.2 (0.8 - 11.5)	6 ± 3.5 (1-13.9)	Non Significatif
Test de Schalm (de 0 à 4)	0.05 ± 0.3 (0 -2)	1.7 ± 1.5 (0-4)	p < 0.05
Concentration (en millions de spermatozoïdes)	1800 ± 460 (766-2930)	718 ± 580 (0-2062)	p < 0.001
Motilité de masse (de 0 à 5)	3.7 ± 0.8 (1-5)	2.5 ± 1.3 (0-4)	p < 0.001
Motilité individuelle (de 0 à 100%)	66 ± 11.7 (20-80)	48.6 ± 25.2 (0-70)	p = 0.005
Motilité globale avant congélation (de 0 à 5)	4.5 ± 1.5 (1-5)	3.2 ± 1.7 (0-5)	p < 0.001
% de morts (de 0 à 100%)	40 ± 20 (13-100)	52 ± 32.8 (3-100)	Non Significatif
% d'anomalies (de 0 à 100%)	7.3 ± 6.4 (1-28)	6.9 ± 5.6 (1-18)	Non Significatif
% d'anomalies mineures (de 0 à 100%)	4.7 ± 5.9 (0-22)	4.8 ± 4.9 (0-16)	Non Significatif
% d'anomalies majeures (de 0 à 100%)	2.7 ± 1.7 (1.7-7)	2.3 ± 3.1 (0-14)	Non Significatif
Motilité après congélation (de 0 à 5)	2.9 ± 1.4 (0-5)	1.8 ± 1 (0-3.5)	p = 0.002

1. Etude des effets de la méthode de collecte sur les paramètres de la semence avant congélation

▪ Volume :

La figure 14 présente les volumes des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

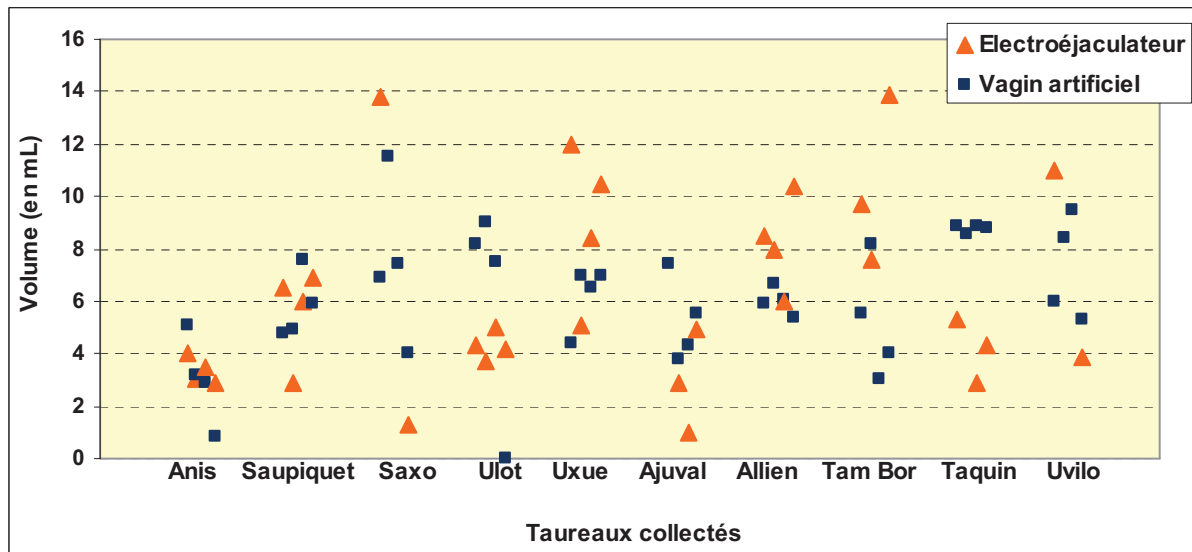


Figure 14 : Distribution individuelle des volumes des éjaculats collectés par électroéjaculateur et par vagin artificiel

La méthode de collecte n'a pas eu d'effet significatif sur le volume des éjaculats collectés (6.3 mL de moyenne par électroéjaculateur, 6 mL par vagin artificiel).

▪ Test de Schalm :

Les notes obtenues au test de Schalm ont été significativement supérieures pour les éjaculats collectés à l'électroéjaculateur par rapport aux éjaculats collectés au vagin artificiel (note moyenne de 1.7 à l'électroéjaculateur et de 0.05 au vagin artificiel).

- **Concentration en spermatozoïdes :**

La figure 15 présente les concentrations des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

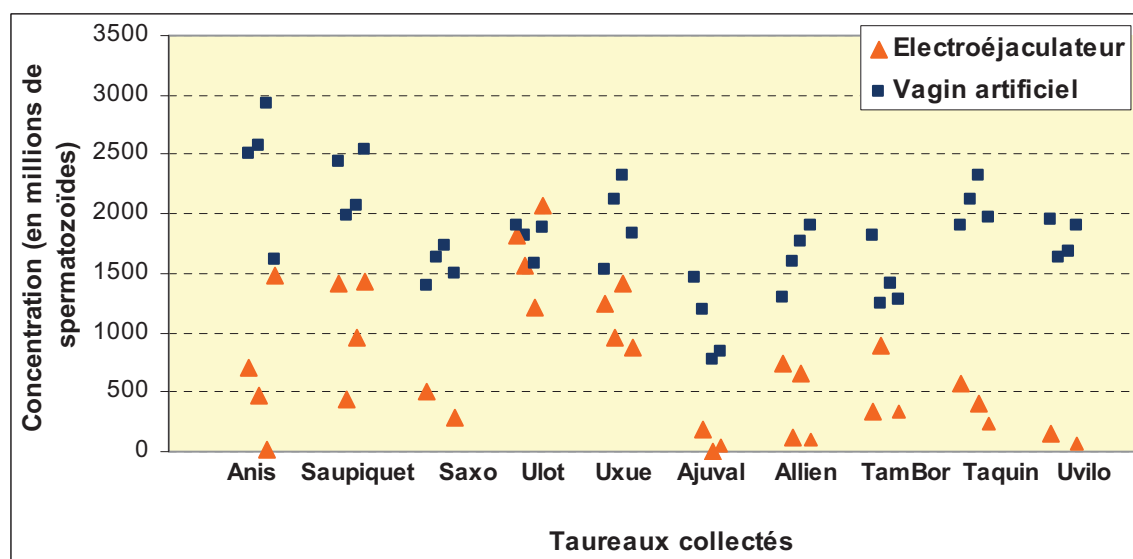


Figure 15 : Distribution individuelle des concentrations des éjaculats collectés par électroéjaculateur et par vagin artificiel

La concentration des éjaculats collectés par vagin artificiel a été significativement supérieure à celle des éjaculats collectés par électroéjaculateur (718 millions en moyenne par électroéjaculateur et 1800 millions par vagin artificiel, $p < 0.001$). Les éjaculats du taureau Ulot ont présenté des concentrations en spermatozoïdes très proches quelle que soit la technique de collecte utilisée (entre 1500 et 2100 millions de spermatozoïdes par millilitre de sperme).

Un effet séquence est également observé ($p = 0.016$). Cet effet séquence est confondu avec l'effet race ; les taureaux de race laitière ayant effectué la séquence E/V (électroéjaculateur puis vagin artificiel) alors que les taureaux de race allaitante ont effectué la séquence V/E (vagin artificiel puis électroéjaculateur). Lors des collectes à l'électroéjaculateur, les éjaculats des taureaux de race Blond d'Aquitaine ont présenté des concentrations en spermatozoïdes significativement supérieures aux éjaculats des taureaux de race Brun des Alpes et Prim'Holstein.

La figure 16 présente la distribution par race des concentrations moyennes des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

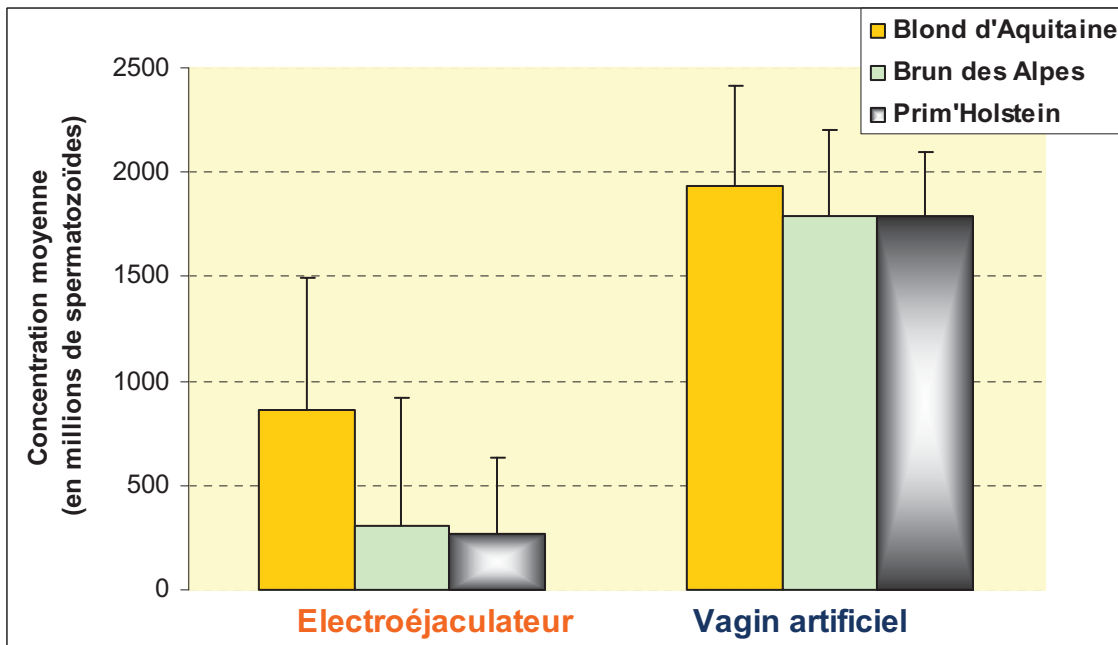


Figure 16 : Représentation par race des concentrations moyennes des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel (moyenne \pm écart-type)

Sur le graphique, on constate que les moyennes des concentrations des éjaculats collectés au vagin artificiel sont très proches pour les trois races de taureaux étudiés. En ce qui concerne les collectes réalisées à l'électroéjaculateur, la race Blond d'Aquitaine présente une moyenne de concentrations nettement supérieure à celle des taureaux Bruns et Prim'Holstein.

La figure 17 représente l'évolution des concentrations moyennes en spermatozoïdes des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel au cours des quatre semaines d'expérimentation.

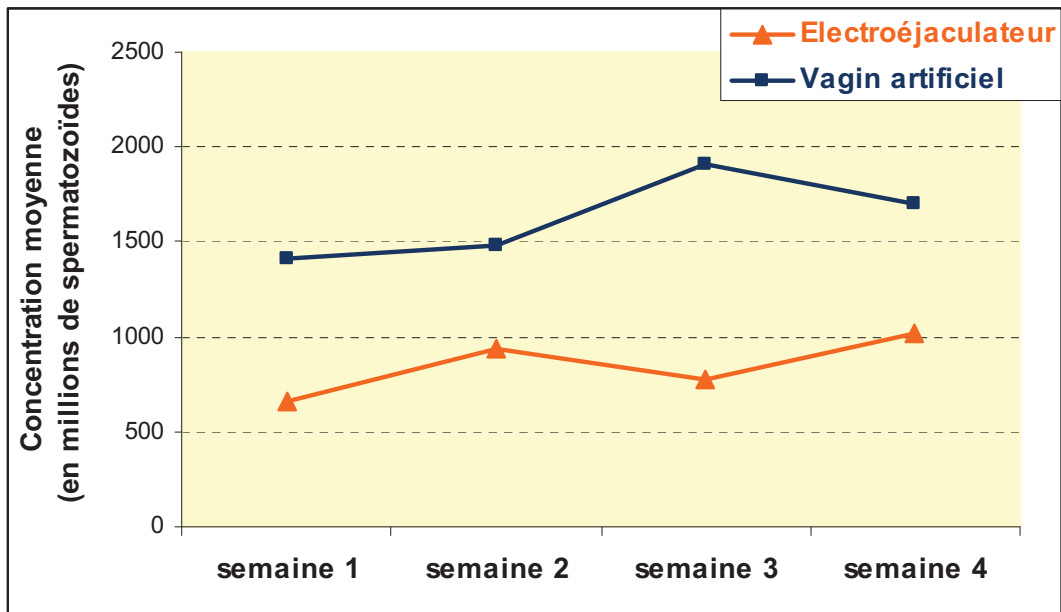


Figure 17 : Evolution des concentrations moyennes en spermatozoïdes des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel au cours des quatre semaines d'expérimentation

On constate que les concentrations moyennes des éjaculats collectés ont tendance à augmenter au cours des semaines d'expérimentation, pour les deux méthodes de collecte.

▪ **Motilité avant congélation :**

Les figure 18, 19 et 20 présentent les notes de motilité de masse, motilité individuelle et motilité globale (synthèse des notes de motilité de masse et individuelle) des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

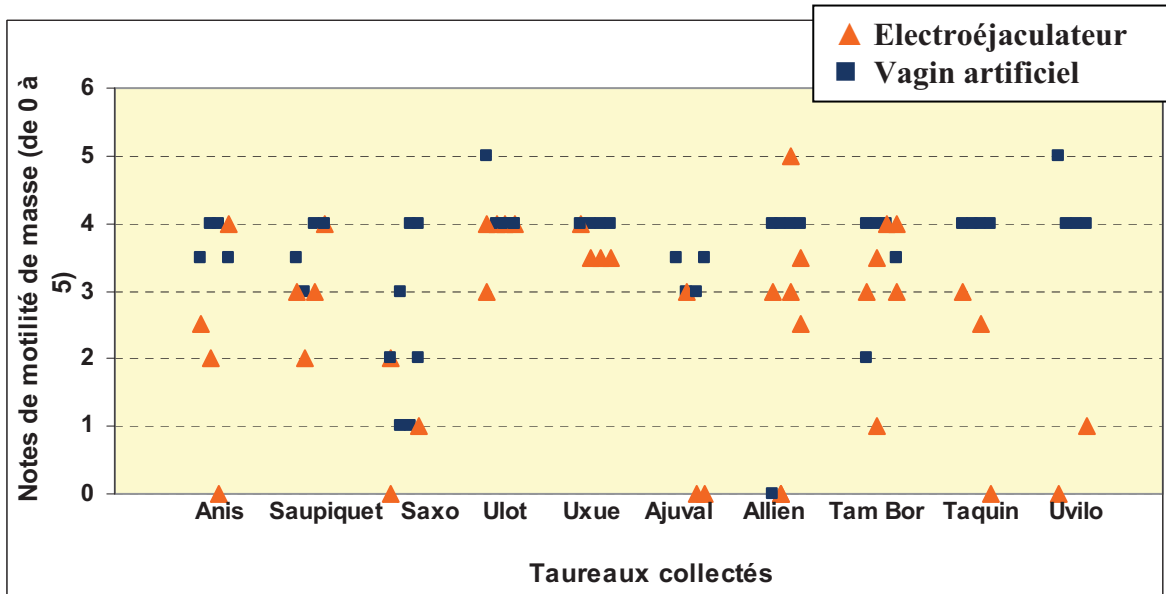


Figure 18 : Distribution individuelle des notes de motilité de masse des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel

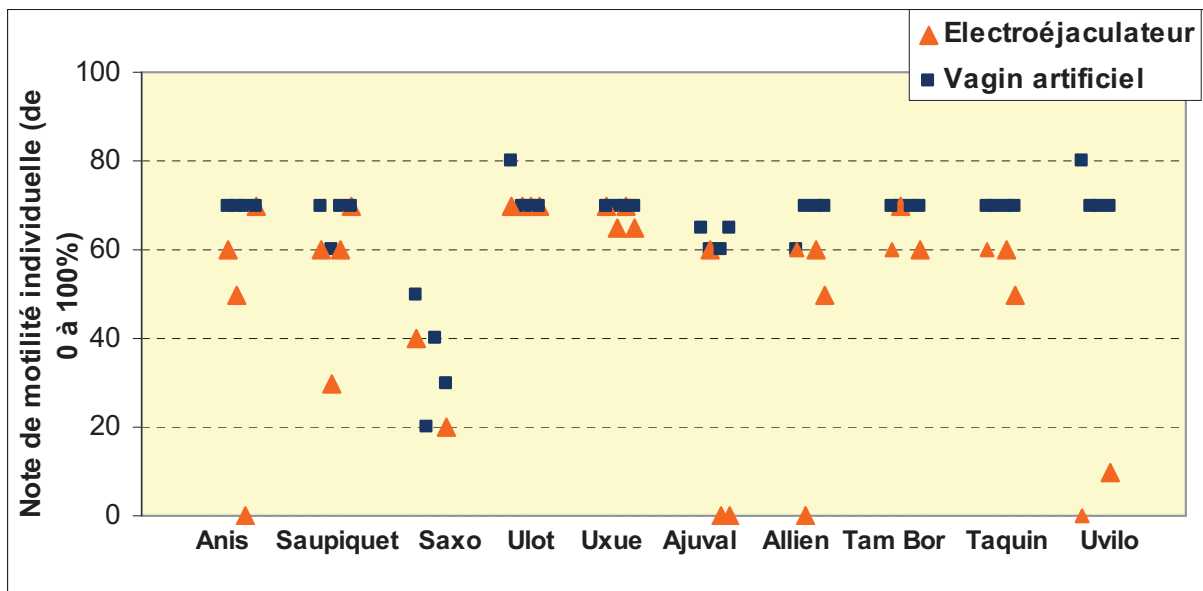


Figure 19 : Distribution individuelle des notes de motilité individuelle avant congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

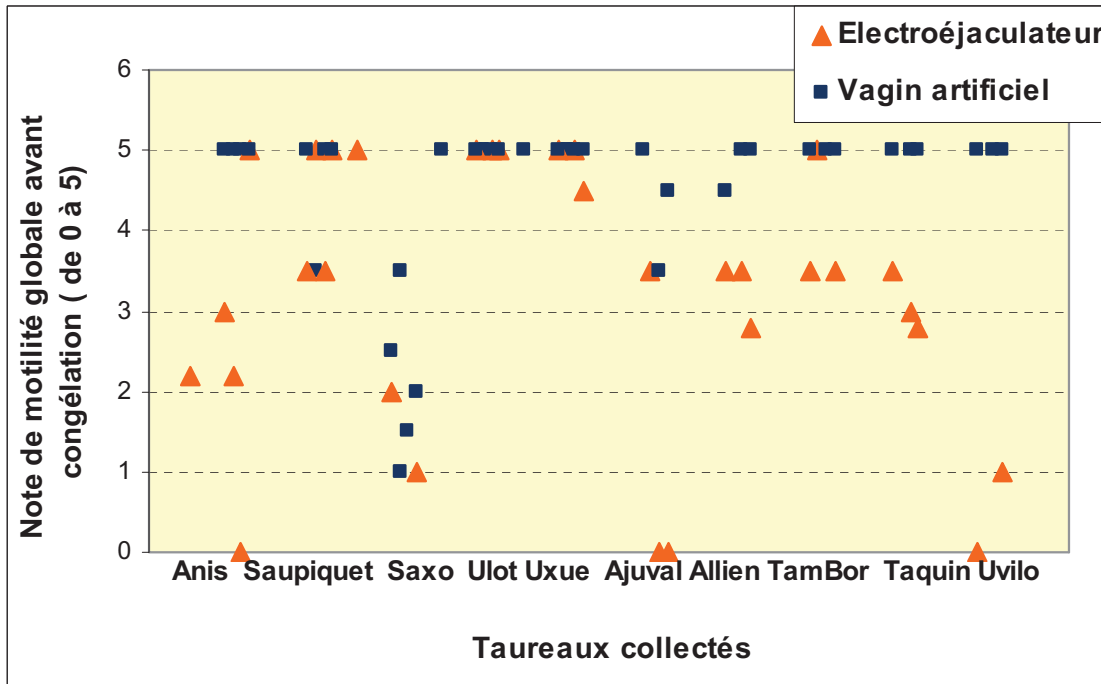


Figure 20 : Distribution individuelle des notes de motilité globale avant congélation des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel.

La note de motilité de masse, motilité individuelle et motilité globale avant congélation des éjaculats collectés par vagin artificiel ont été significativement supérieures à celle des éjaculats collectés par électro-éjaculateur (respectivement $p < 0.001$, $p = 0.005$, $p < 0.001$).

La figure 21 présente la distribution par race des notes moyennes de motilité globale avant congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

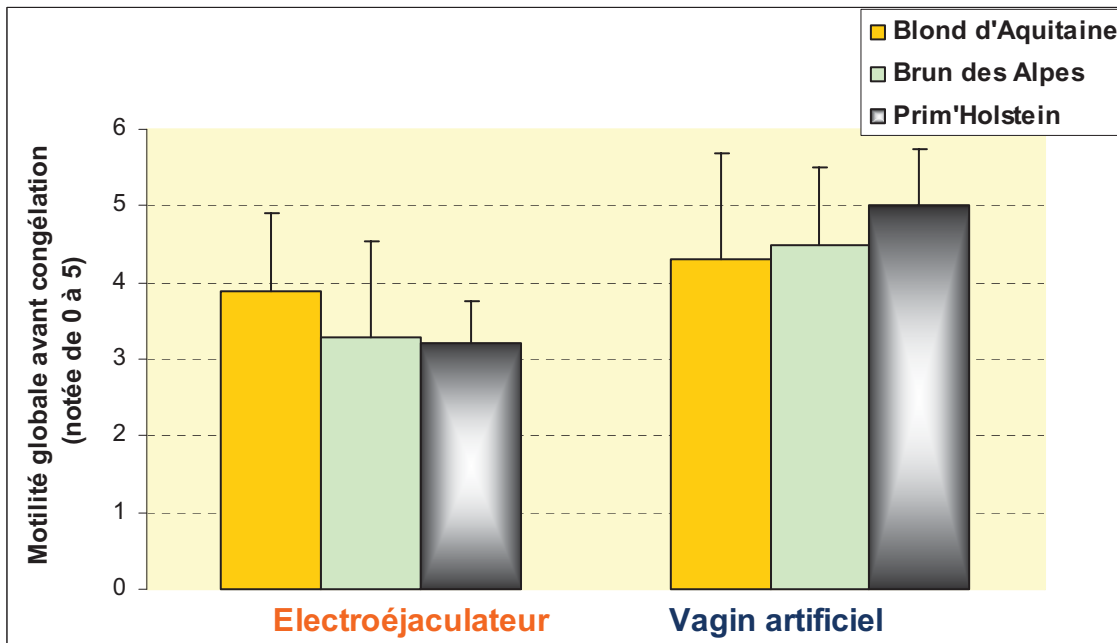


Figure 21 : Répartition par race des notes moyennes de motilité globale avant congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel (moyenne ± écart-type)

Pour les taureaux de race Blond d'Aquitaine, la note de motilité globale avant congélation a été peu modifiée par la méthode de collecte. Pour les taureaux de race Brun des Alpes et Prim'Holstein, la motilité des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur est diminuée comparativement à la motilité des éjaculats collectés au vagin artificiel.

La figure 22 représente l'évolution des notes moyennes de motilité des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel au cours des quatre semaines d'expérimentation.

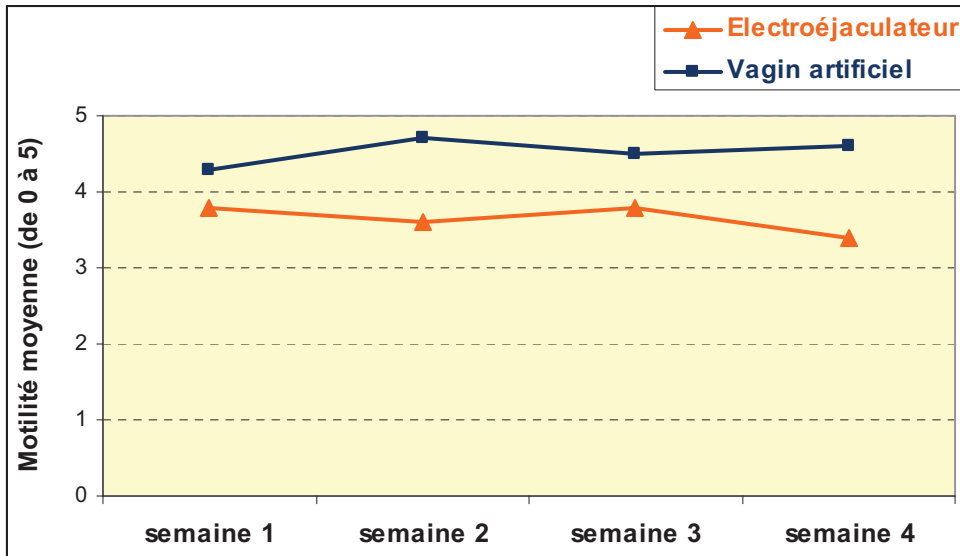


Figure 22 : Evolution des notes moyennes de motilité des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel au cours des quatre semaines d'expérimentation

On constate que les notes moyennes de motilité des éjaculats collectés ont tendance à rester stables au cours des semaines d'expérimentation et ceci pour les deux méthodes de collecte.

Pourcentage de vivants et pourcentage d'anomalies

La méthode de collecte n'a pas eu d'effet significatif sur le pourcentage de spermatozoïdes vivants et le pourcentage d'anomalies, qu'elles soient majeures ou mineures.

2. Effets de la méthode de collecte sur les paramètres de la semence après congélation

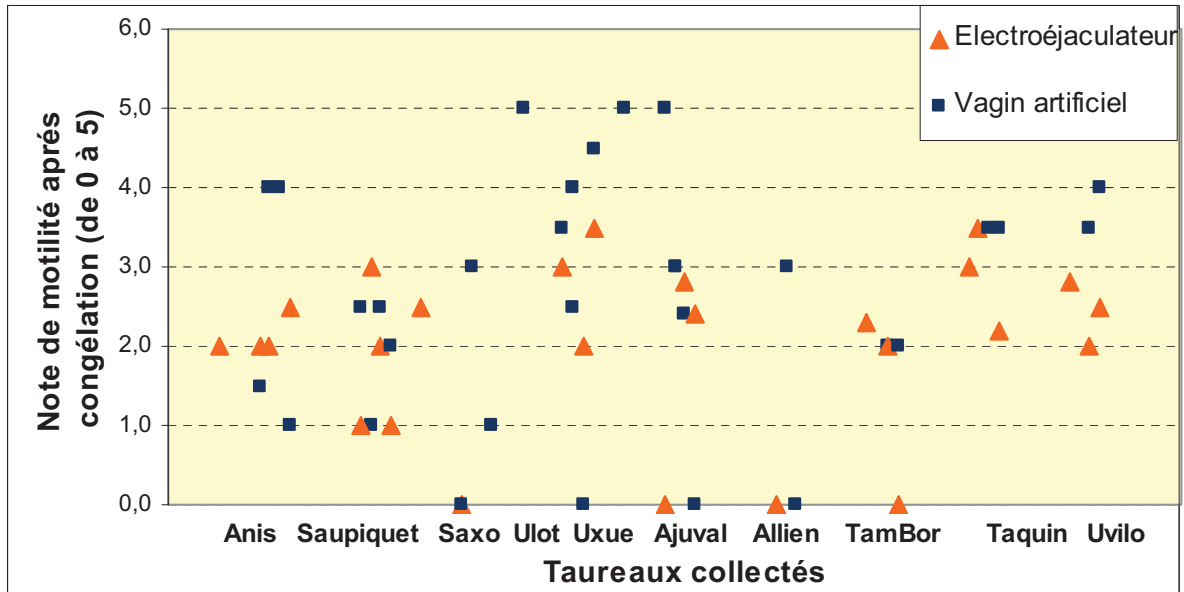


Figure 23 : Distribution individuelle des notes de mobilité après congélation des éjaculats collectés par électroéjaculateur et vagin artificiel.

La figure 23 représente les notes de motilité après congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et au vagin artificiel.

La mobilité après congélation des éjaculats collectés par vagin artificiel a été significativement supérieure à celle des éjaculats collectés par électro-éjaculateur (46.8% de moyenne par vagin artificiel et 31.1% par électro-éjaculateur, $p = 0.002$).

4) Résistance à la congélation

Les figures 24, 25 et 26 représentent les notes moyennes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité avant congélation respectivement supérieure à 2, comprise entre 3 et 4 ou supérieure à 4.

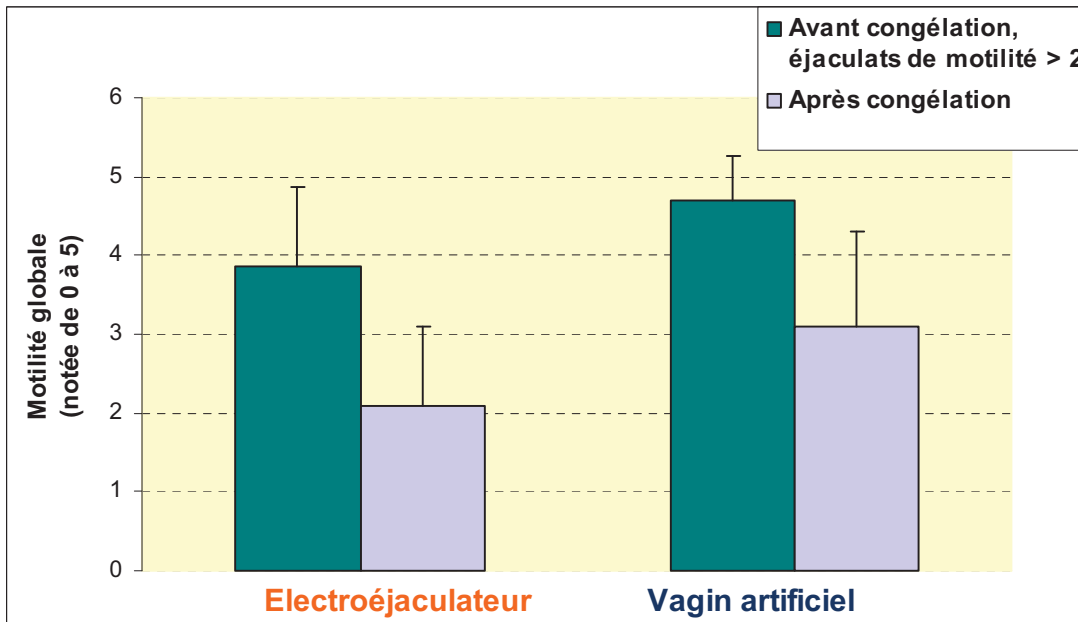


Figure 23 : Représentation graphique des notes moyennes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité supérieure à 2 avant congélation (moyenne \pm écart-type)

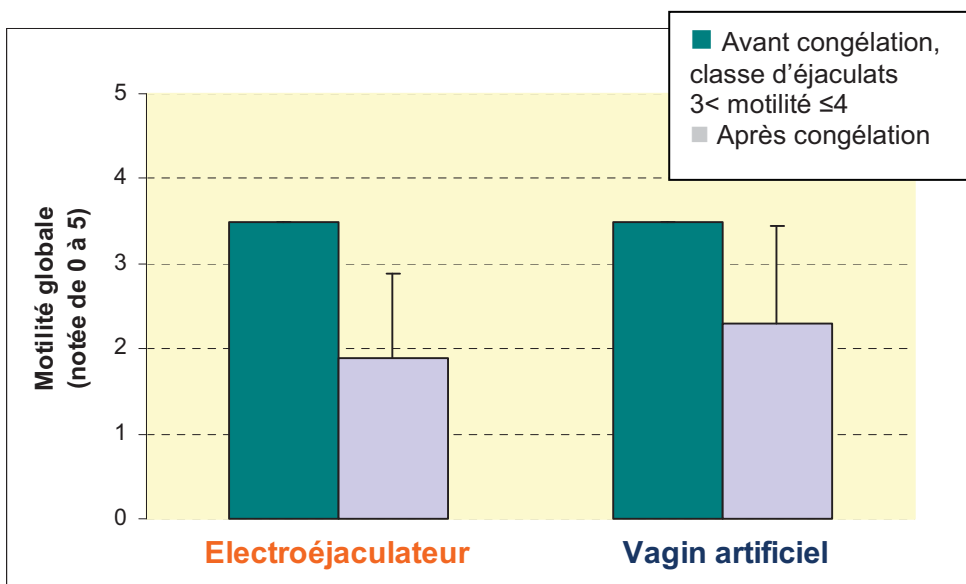


Figure 24 : Représentation graphique des notes moyennes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité strictement supérieure à 3 et inférieure ou égale à 4 avant congélation (moyenne \pm écart-type)

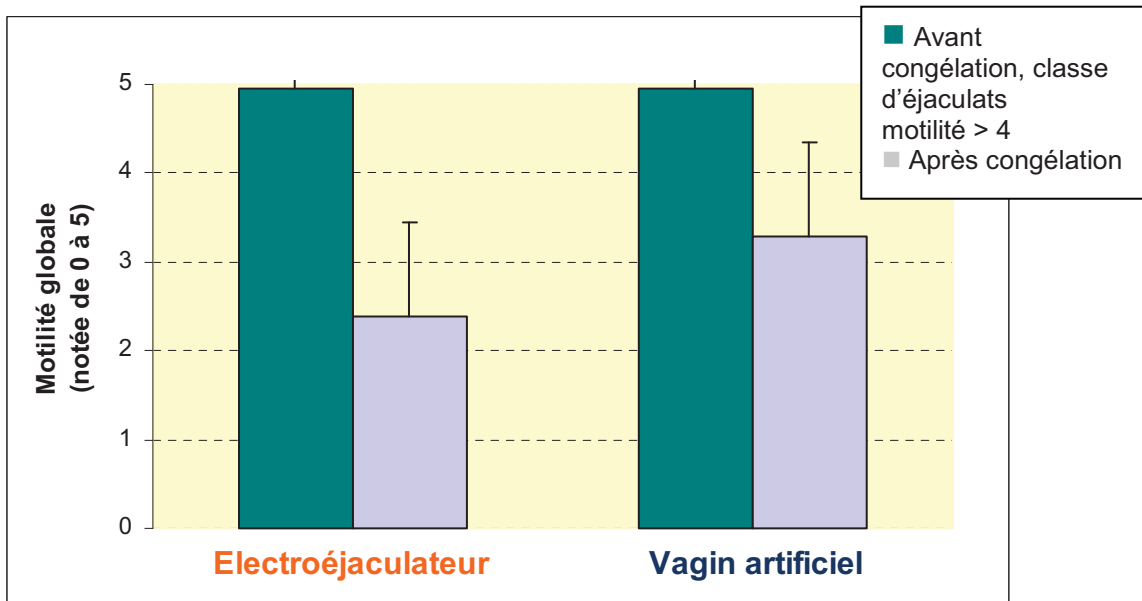


Figure 25 : Représentation graphique des moyennes des notes de motilité obtenues avant et après congélation pour les éjaculats ayant une motilité supérieure à 4 avant congélation (moyenne \pm écart-type)

La diminution de motilité des éjaculats au cours de la congélation n'est pas significativement plus élevée lorsque la collecte a été réalisée à l'électroéjaculateur par rapport à une collecte au vagin artificiel. Toutefois, l'inspection visuelle des figures 23, 24 et 25 montre que la diminution de motilité après congélation est plus grande pour les éjaculats qui ont été collectés à l'électroéjaculateur, en particulier pour les éjaculats de motilité supérieure à 3 avant congélation.

Le tableau 11 présente le nombre de paillettes qui auraient pu être préparées et conservées, ramené au nombre de tentatives de collecte, pour chaque méthode.

Tableau 11 : Nombre de paillettes produites à partir des éjaculats collectés au vagin artificiel et à l'électroéjaculateur

METHODE DE COLLECTE	Vagin artificiel	Electro-éjaculateur
Nombre de paillettes congelées / tentative de collecte (25 millions de spermatozoïdes / paillette et congélation des paillettes si note de motilité globale avant congélation > 2)	765	161
Nombre de paillettes conservées / tentative de collecte (conservation des paillettes si motilité individuelle \geq 40%)	730	105
Nombre d'éjaculats ayant permis la réalisation de paillettes conservées (40 tentatives de collecte / méthode de collecte)	27	7

730 paillettes ont pu être conservées pour chaque tentative de collecte au vagin artificiel, contre 105 paillettes pour chaque tentative de collecte à l'électroéjaculateur.

A partir de 40 tentatives de collecte par méthode, 27 éjaculats collectés au vagin artificiel (soit 67.5% des collectes au vagin artificiel) et seulement 7 éjaculats collectés à l'électroéjaculateur (soit seulement 17.5% des collectes réalisées à l'électroéjaculateur) ont permis la réalisation de paillettes.

DISCUSSION

Dans le cadre de notre étude, les collectes à l'électroéjaculateur ont permis d'obtenir de la semence de bonne qualité seulement dans 17.5% des cas contre 67.5% au vagin artificiel. Un facteur individuel important a été mis en évidence lors des collectes à l'électroéjaculateur.

A EFFETS DE LA METHODE DE COLLECTE

1) Echech de collecte

Toutes les tentatives de collecte au vagin artificiel ont permis la collecte d'un éjaculat. Ce résultat s'explique par le fait que les taureaux utilisés dans l'expérimentation avaient déjà été collectés au vagin artificiel et étaient entraînés à cette méthode de collecte. Lacroix en 1988 relevait un taux d'échec de 20% lors de collectes au vagin artificiel pratiquées dans le cadre de contrôles de fertilité en ferme. Ce même taux de 20% a été obtenu par Coopelso dans le cadre de la monte privée.

Dans notre expérimentation, les taureaux ont été entraînés à la collecte à l'électroéjaculateur pendant les deux semaines qui ont précédé les semaines expérimentales. 82.5 % des tentatives de collecte à l'électroéjaculateur ont permis la collecte d'un éjaculat. Ce chiffre est nettement inférieur aux résultats de collecte obtenus dans d'autres études. Dans le cadre de contrôles de fertilité réalisés en ferme, c'est à dire à partir de taureaux non entraînés à l'électroéjaculateur, Lacroix (1988) est parvenu à collecter le sperme de 308 taureaux sur 311 (race Charolais), soit un pourcentage d'efficacité de collecte de 99%. D'autres auteurs (Barth et al., 2003 ; Palmer et al.2004) ont obtenu un pourcentage d'efficacité de collecte de sperme de 100% dans le cadre d'exams de la fonction reproductrice de taureaux de race allaitante (Charollais, Angus et Hereford).

Dans le cadre de notre expérimentation à Coopelso, les collectes réalisées à l'électroéjaculateur qui n'ont permis d'obtenir que du liquide spermatique (concentration nulle en spermatozoïdes) ont été considérés comme des échecs de collecte. Dans les études citées précédemment, cette information n'est pas précisée ; les collectes de liquide spermatique seul ont pu être prises en compte ce qui pourrait expliquer les différences de pourcentage de réussite à la collecte.

La technique de collecte à l'électroéjaculateur a donc présenté dans le cadre de notre étude des aptitudes de collecte comparables à celles du vagin artificiel en ferme. De plus, l'utilisation de l'électroéjaculateur présente un avantage non négligeable par rapport au vagin artificiel : le temps passé à réaliser la collecte. Dans le cadre de l'expérimentation Coopelso, un temps de 1 heure et trente minutes environ était nécessaire pour collecter 5 taureaux à l'électroéjaculateur. La collecte d'un taureau en ferme au vagin artificiel peut durer plus d'une heure car elle est dépendante de la stimulation du taureau et de sa capacité à sauter.

La collecte de taureaux en ferme semble plus facile et rapide à l'électroéjaculateur ; cette méthode a-t-elle une influence sur la qualité des éjaculats collectés ?

2) Qualité du sperme

Les volumes des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur n'ont pas été significativement différents des volumes des éjaculats collectés au vagin artificiel.

Dans d'autres études (Foster et al. 1970; Léon et al.1991; Parvanov et al.2000), le volume des éjaculats est significativement augmenté lors des collectes à l'électroéjaculateur, par rapport à ceux collectés au vagin artificiel. D'après ces auteurs, la stimulation électrique des glandes annexes lors de l'électroéjaculation fait augmenter le volume des sécrétions préspermatiques. Dans le cadre de notre étude, l'opérateur s'est efforcé de récolter la fraction spermatique de l'éjaculat, ce qui pourrait expliquer que les volumes de collecte à l'électroéjaculateur n'aient pas été significativement supérieurs de ceux collectés au vagin artificiel. Le score du Test de Schalm a été significativement supérieur lors des collectes à l'électroéjaculateur, comparativement au vagin artificiel. Ce résultat peut s'expliquer en partie par une plus grande contamination de l'éjaculat lors des collectes à l'électroéjaculateur, notamment lorsque le taureau éjacule à l'intérieur du fourreau (environ 1 fois sur 5 dans notre expérimentation).

La concentration des éjaculats collectés au vagin artificiel a été nettement supérieure à celle des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur. Ce résultat est similaire à ceux décrits dans d'autres études (Foster et al. 1970; Léon et al.1991; Parvanov et al.2000). Lors de l'électroéjaculation, la sécrétion importante de liquide séminal est à l'origine d'un volume de collecte augmenté d'où une plus grande dilution des spermatozoïdes.

Dans notre étude, les notes de motilité (motilité de masse et motilité individuelle avant congélation), ont été significativement supérieures lors des collectes au vagin artificiel par

rapport à celles obtenues par électro-stimulation. Dans d'autres études (Léon et al.1991; Parvanov et al.2000), les paramètres de motilité avant congélation n'ont pas été significativement différents entre les deux méthodes de collecte, alors que la motilité est diminuée après congélation.

3) Congélation de la semence

L'aptitude à la congélation (seuls les éjaculats de qualité suffisante ont été congelés : motilité de masse > 30% ; motilité individuelle > 2) a été meilleure pour les éjaculats collectés au vagin artificiel par rapport à ceux collectés à l'électroéjaculateur (90% vs 66.7%).

La motilité après congélation a été significativement supérieure lorsque les éjaculats ont été collectés au vagin artificiel, par rapport aux collectes à l'électroéjaculateur. Ce résultat est similaire à ceux décrits dans d'autres études (Foster et al. 1970; Léon et al.1991; Parvanov et al.2000).

Peut on parler pour autant de moindre résistance à la congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur par rapport à ceux collectés au vagin artificiel ?

Dans le cadre de notre étude, l'effet de la méthode de collecte sur la différence de note de motilité avant et après congélation n'est pas significatif, même si la baisse de motilité après congélation apparaît plus importante pour les éjaculats collectés à l'électroéjaculateur.

Cette moindre résistance à la congélation peut s'expliquer par les plus faibles concentrations en spermatozoïdes lors des collectes à l'électroéjaculateur, l'apport de dilueur nécessaire à la protection des spermatozoïdes lors de la congélation est moindre (chaque paillette contenant 25 millions de spermatozoïdes) ; ce qui peut expliquer une moins bonne protection des spermatozoïdes lors de la congélation.

67.5% des collectes au vagin artificiel et seulement 17.5% des collectes réalisées à l'électroéjaculateur ont permis la réalisation de paillettes de qualité suffisante ; ce résultat ne va pas en faveur de l'utilisation de l'électroéjaculateur pour la réalisation de paillettes pour la monte privée. Cependant, la collecte à l'électroéjaculateur n'est pas incompatible avec la réalisation et la congélation de paillettes. A titre d'exemple, le taureau Prim'Holstein Tizac qui devait être mis en production en octobre 2007 avait été collecté au vagin artificiel pour réaliser ses doses de testage mais a refusé le saut lors de son entrée en production.

L'électro-éjaculation a été utilisée et l'animal supporte bien cette méthode de collecte. En deux mois de production, il a réalisé 14 collectes à l'électro-éjaculateur ; soit environ 10000 doses, avec des valeurs moyennes de qualité de semence après congélation satisfaisantes (note de mobilité : 3.4 ; pourcentage de spermatozoïdes vivants : 57.9 ; note globale : 4.1) (Données Coopelso, 2007).

En définitive, il semble donc qu'il y ait un facteur individuel important pour la réussite des collectes à l'électroéjaculateur.

B LES COLLECTES A L'ELECTROEJACULATEUR

1) Technique de collecte

La moyenne des cycles nécessaires à la collecte d'un éjaculat est de 1.4, ce qui signifie qu'un éjaculat sur deux n'a pu être collecté qu'au deuxième cycle. Le nombre moyen de pulsations nécessaires à la collecte est de 20.4, avec des variations individuelles importantes.

Lacroix (1988) a réalisé dans le cadre de contrôle de fertilité en ferme 149 collectes de taureaux avec le même matériel que celui dont nous disposons dans notre étude. Un deuxième prélèvement était réalisé 10 minutes après le premier lorsque le résultat de la première analyse était insuffisant (motilité massale < 3). Environ 70% des taureaux ont dû réaliser un deuxième cycle de stimulations à l'électroéjaculateur avant de donner un échantillon de sperme de qualité satisfaisante.

Le même auteur, sur 61 collectes de taureaux, a noté à quel moment du cycle de stimulations électriques la phase spermatique était émise :

- sur 34 taureaux de 1 an, 60% ont éjaculé à partir dès la 6^o impulsion, 40% d'entre eux à partir de la 16^o.

- sur 27 taureaux de 2 ans et plus, la moitié a éjaculé à partir de la 6^o impulsion, l'autre moitié à partir de la 16^o. Le nombre moyen de stimulations nécessaires à la collecte a donc été inférieur à celui de notre étude.

La réalisation quasi-nécessaire de deux cycles de stimulations en mode automatique et la variation des réponses des taureaux face aux stimulations conduit à s'intéresser à une utilisation de l'électroéjaculateur en mode manuel, pour s'adapter au mieux aux variations individuelles de réponse des taureaux aux stimulations électriques.

Martin et al. (1988) ont utilisé l'électroéjaculateur en mode manuel, en faisant varier la durée des phases de stimulation et celle des phases de repos. Certains taureaux ont besoin de périodes de repos de courte durée pour conserver l'érection au cours des stimulations, d'autres nécessitent des stimulations électriques plus prolongées de 2 à 3 secondes. La conclusion de l'étude est d'utiliser un programme qui permet de s'adapter le plus possible aux réactions des taureaux en appliquant les stimulations de façon très progressive ; en particulier lorsque le taureau est soumis pour la première fois à ce type de collecte.

2) Inconfort des taureaux

Pour la majorité des taureaux, la collecte à l'électroéjaculateur est réalisée facilement et ne semble pas être douloureuse. Cependant, lorsque des niveaux de stimulation élevés sont utilisés ; certains taureaux, particulièrement les plus jeunes, meuglent, manifestent des contractions musculaires involontaires ou chutent (Mosure et al., 1998 ; Etson et al., 2004). Dans notre étude, lors de la première collecte à l'électroéjaculateur de la phase d'entraînement, les deux taureaux de la race Brun des Alpes (Ajuval et Allien) ont chuté lors de la montée en intensité des stimulations électriques. Par la suite, au cours des quatre semaines d'expérimentation, aucun taureau n'a chuté ou meuglé. Cependant, au fur et à mesure des collectes à l'électroéjaculateur, les taurelliers de Coopelso ont constaté une certaine réticence des taureaux à rentrer dans le travail où avaient lieu les collectes à l'électroéjaculateur. A partir de la deuxième semaine d'expérimentation, le taureau Anis, trop craintif pour être amené dans la cage de contention, a été prélevé dans la salle d'attente de la salle de monte. Toutefois, ces constatations sont relativement subjectives car aucun paramètre d'évaluation de stress n'a été mesuré dans notre étude.

A partir de l'observation de 122 taureaux collectés en ferme, Lacroix (1988) a constaté un affaissement partiel chez 25% des animaux de moins de deux ans et seulement 2% des animaux de plus de deux ans. Les animaux jeunes ou de petit gabarit présentent une faible résistance interne à la diffusion des influx électriques appliqués dans le rectum, ce qui entraîne chez eux une stimulation plus importante de nerfs qui passent à proximité de la zone stimulée. L'affaissement total a concerné 4% des taureaux. Aucune séquelle n'est apparue suite à la technique d'électroéjaculation.

L'inconfort provoqué par les stimulations électriques appliquées dans le rectum pose un problème d'éthique par rapport à l'utilisation de l'électroéjaculateur, dans un souci de

préservation du bien être animal. Différentes techniques visant à évaluer et diminuer l'inconfort du taureau lors de l'électroéjaculation ont été essayées ; elles sont développées dans la deuxième partie de la discussion.

3) Présence d'une érection

Dans notre étude, 82.5 % des tentatives de collecte à l'électroéjaculateur ont entraîné une érection des taureaux. Lacroix, 1988 obtient des fréquences d'érection de 92% chez les adultes et de seulement 70% chez les animaux de moins de deux ans. L'absence d'érection lors de l'électroéjaculation induit une baisse de la qualité de la semence collectée : la semence qui coule le long du fourreau se souille davantage et se refroidit ce qui pourrait expliquer la dégradation de la qualité du sperme et la diminution des notes de motilité (Palmer et al, 2005).

4) Effet race

Les pourcentages d'échec et de non aptitude à la congélation ont été respectivement de 12.5% et 6.3% pour les taureaux de race Blond d'Aquitaine alors qu'ils ont été respectivement de 25% et 12.5%, 33.3% et 16.6% pour les taureaux de race Brun des Alpes et Prim'Holstein.

L'analyse statistique montre un effet de la séquence sur la concentration des spermatozoïdes, confondu avec l'effet race. Les moyennes des concentrations des éjaculats collectés au vagin artificiel sont très proches pour les trois races de taureaux étudiés. En revanche, en ce qui concerne les collectes réalisées à l'électroéjaculateur, la race Blond d'Aquitaine présente une moyenne de concentrations supérieure à celle des taureaux Bruns et Prim'Holstein.

Les taureaux de race Blond d'Aquitaine ont donc semblé mieux réagir à la technique de collecte à l'électroéjaculateur que les taureaux de race Brun et Prim'Holstein. Les 99% de réussite de collecte obtenus par Lacroix (1988) dans le cadre de 311 contrôles de fertilité en ferme ont été réalisés à partir de taureaux de race Charolais presque exclusivement (à l'exception de deux Limousins et d'un Blond d'Aquitaine).

L'effet de la race des taureaux dans la réponse à la technique de collecte à l'électroéjaculateur a été observé dans d'autres études. Chenoweth et al.,(1978) ont étudié les réactions de taureaux de races Brahman, Africander, Hereford et celles de taureaux de races croisées :

Brahman croisé, Africander croisé, Shorthorn croisé au cours d'électroéjaculations réalisées avec une sonde à anneaux circulaires. Les réactions des taureaux étaient classées en légères, moyennes et sévères. Un effet race a été démontré : les taureaux de la race Africander et les taureaux croisés Africander ont présenté un nombre de réactions sévères et un nombre d'échecs lors des collectes à l'électroéjaculateur significativement plus élevés que les autres races.

En général, les taureaux de race laitière ont une plus forte libido que les taureaux de race allaitante, lesquels doivent recevoir une préparation sexuelle rigoureuse avant la collecte au vagin artificiel (Senger, 2003). La faible libido des taureaux allaitants peut rendre les collectes au vagin artificiel fastidieuses dans le cadre de la monte en ferme, car l'opérateur doit attendre le saut du taureau, parfois pendant plus d'une heure, et il est difficile dans ces conditions de maintenir le vagin artificiel à une température optimale (entre 42 et 45°C, Gérard et Khirredine, 2002). Pour ces races allaitantes, la collecte à l'électroéjaculateur pourrait constituer une alternative intéressante.

C AMELIORATION DE LA TECHNIQUE DE COLLECTE A L'ELECTROEJACULATEUR

1) Comment diminuer l'inconfort du taureau lors de l'électro-éjaculation ?

La collecte de semence par électro-éjaculation est utilisée couramment pour évaluer les capacités reproductrices des taureaux au Canada et aux USA. Pour la majorité des taureaux, la collecte est réalisée facilement et ne semble pas être douloureuse. Cependant, lorsque des niveaux de stimulation élevés sont utilisés, certains taureaux, notamment les plus jeunes, meuglent, présentent des contractions musculaires involontaires ou chutent.

A partir des études relatives au bien être animal du taureau lors de l'électroéjaculation, l'Association Canadienne de Médecine Vétérinaire (Canadian Veterinary Medical Association, 2007) a émis un jugement à propos de l'utilisation de l'électroéjaculateur dans le cadre de contrôles de collecte de semence. Cette technique de collecte est considérée acceptable dans le cadre des évaluations de la fertilité des taureaux de monte naturelle, car les techniques de collecte alternative proposées ne sont pas aussi performantes que la collecte à l'électroéjaculateur. Il est conseillé aux opérateurs d'être le plus mesuré possible dans l'application des stimulations électriques permettant l'obtention de l'éjaculation.

En médecine humaine, l'électroéjaculation est utilisée chez les paraplégiques qui souhaitent avoir des enfants. Sans anesthésie, les réactions ressenties chez les hommes qui ont conservé une sensibilité dans la région pelvienne sont douloureuses. Aussi, pour ces patients, une anesthésie générale ou une épidurale sont réalisées (Ohl, 1993).

Ainsi, dans un souci du bien-être animal, différentes techniques visant à diminuer l'inconfort ou la douleur du taureau lors de l'électroéjaculation ont été expérimentées (Etson et al.2005; Falk et al.2001; Mosure et al.1998 ; Welsh et al.1981).

La cortisolémie, la progestéronémie, les meuglements sont des marqueurs utilisés pour évaluer l'inconfort des taureaux lors de l'électroéjaculation. Le cortisol et la progestérone sont deux marqueurs biologiques de stress, le meuglement est une manifestation caractéristique de douleur chez les bovins.

Falk et al.(2001) ont montré que l'utilisation d'une anesthésie épidurale avant l'électroéjaculation réduisait de façon significative la progestéronémie 5 et 20 minutes après l'électroéjaculation. Cependant, dans d'autres études (Etson et al.2005), la réalisation d'une anesthésie par voie épidurale préalablement à l'électroéjaculation n'a pas réduit significativement les marqueurs de stress utilisés : cortisolémie, progestéronémie, fréquence cardiaque, notes subjectives de douleur.

L'utilisation d'une sonde aux électrodes segmentées avec des segments pouvant être activés séparément afin de réduire la stimulation des tissus environnants a été envisagée. Cependant, elle n'apporte pas de meilleurs résultats en terme d'efficacité et de douleur qu'une électrode conventionnelle (Etson et al.2005).

Ces résultats difficiles à interpréter sont en partie expliqués par le fait qu'il est difficile de quantifier la douleur et le stress chez les bovins ; le simple fait de contraindre l'animal à rester bloqué dans un travail fait augmenter de façon significative les marqueurs de stress utilisés.

2) Comment améliorer la qualité de la semence lors d'une collecte à l'électroéjaculateur ?

Lors d'une collecte au vagin artificiel, pendant la préparation sexuelle des taureaux, la post-hypophyse libère de l'ocytocine. Cette hormone est à l'origine des contractions des muscles lisses qui entourent la queue de l'épididyme et les canaux déférents. Ces contractions vont permettre le transport des spermatozoïdes de la queue de l'épididyme vers les canaux déférents, et éventuellement vers la partie pelvienne de l'urètre (Senger, 2003).

L'injection d'ocytocine (50 UI), par voie intramusculaire ou intraveineuse, 10 minutes avant la collecte par électroéjaculateur, a été envisagée par plusieurs auteurs (Abreu et al. 1991; Berndtson et al.1988 ; Palmer et al. 2003).

Elle a permis d'augmenter de façon significative la concentration des l'éjaculats collectés à l'électroéjaculateur (Abreu et al. 1991; Berndtson et al.1988 ; Palmer et al., 2003), sans altérer la qualité de la semence (Berndtson et al.1988). En outre, le confort du taureau lors de

l'électroéjaculation a été amélioré car le nombre de stimulations nécessaires à la collecte d'un éjaculat ont été diminuées (Palmer et al., 2003).

La centrifugation ou dialyse des éjaculats de taureaux collectés par électroéjaculateur a été envisagée (Tibary et al., 1990). Cette technique de concentration utilisée couramment en andrologie humaine permet de concentrer l'éjaculat avant de le congeler dans des conditions optimales. Ainsi, la motilité après congélation des éjaculats collectés à l'électroéjaculateur a été augmentée. Par la suite, deux groupes de vaches ont été inséminés en suivant le même protocole ; l'un à partir de paillettes réalisées à partir d'éjaculats collectés à l'électroéjaculateur et dialysés, l'autre à partir de paillettes du commerce. Les taux de fertilité obtenus par les deux groupes de vache n'ont pas été significativement différents, la dialyse n'a donc pas altéré la capacité de reproduction des spermatozoïdes. Cependant, l'auteur a constaté qu'au delà d'un certain volume de plasma séminal dans l'éjaculat, la résistance à la congélation des éjaculats collectés par électroéjaculateur était diminuée de façon irréversible.

3) Techniques alternatives à la collecte à l'électro-éjaculateur

1. Massage transrectal

La qualité de la semence collectée par massage transrectal a été comparée à celle collectée par électroéjaculateur (Palmer et al. 2004 et 2005). Dans la première étude (2004), la récolte de sperme par massage transrectal des ampoules du conduit déférent a permis de recueillir des échantillons de semence pour 97% des 288 tentatives de collecte effectuées sur des taureaux adultes et habitués à être récoltés par cette méthode. Les échantillons obtenus par massage transrectal ont présenté des paramètres de motilité et de pourcentage de spermatozoïdes vivants significativement inférieurs à ceux obtenus par électroéjaculateur. L'auteur expliquait ce résultat par le fait que la plupart des taureaux prélevés par massage transrectal n'ont pas présenté d'érection lors de la collecte et ont éjaculé à l'intérieur du fourreau. La semence qui coule le long du fourreau se refroidit d'où une diminution de la qualité du sperme.

Dans la seconde étude (2005), la comparaison électro-éjaculation et massage transrectal a été réalisée sur des taureaux de race allaitante, non entraînés à être collectés par massage transrectal. La semence a pu être récoltée par massage transrectal chez 80% des taureaux, aucun effet de l'âge, la race de l'animal et de l'opérateur n'a été observé. L'électro-

éjaculation a permis de collecter 100% des animaux et de manière plus rapide que le massage transrectal.

Seulement 15% des jeunes taureaux ont présenté une érection lors du massage transrectal, alors que les taureaux de notre étude ont présenté une érection dans 82.5% des collectes à l'électroéjaculateur.

L'incapacité de cette méthode à provoquer une érection systématique est problématique car elle ne permet pas l'observation de la verge, examen indispensable pour évaluer la fonction reproductrice d'un taureau ; elle entraîne en outre une exposition plus importante du sperme à l'air et au froid à l'origine d'une dégradation plus rapide.

2. Utilisation d'un vagin artificiel interne

Le vagin artificiel interne fixé dans le vagin d'une vache bête en train est une méthode de collecte qui a été testée lors d'évaluations de la fonction reproductrice des taureaux et comparée à une récolte de semence par électro-éjaculateur (Barth et al., 2003). 50 à 70% des taureaux en production ont pu être récoltés au vagin artificiel interne, contre 100% lors des collectes à l'électro-éjaculateur.

En définitive, la technique de massage des ampoules déférentielles présente trop de limites ou d'inconvénients pour remplacer l'électroéjaculation et reste donc anecdotique. En revanche, l'utilisation du vagin artificiel interne est intéressante, mais n'a pas encore fait l'objet de développement en France.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'électroéjaculateur a permis de collecter moins d'éjaculats et de moins bonne qualité que ceux obtenus lors des collectes au vagin artificiel, en raison :

- d'une efficacité de collecte plus faible

- de paramètres de qualité du sperme inférieurs (concentration en spermatozoïdes, paramètres de motilité avant et après congélation)

Ces résultats ne sont pas en faveur d'une utilisation de l'électroéjaculateur pour la collecte de semence destinée à la réalisation de paillettes pour la monte privée.

Dans les centres d'insémination artificielle où la plupart des taureaux sont collectés régulièrement au vagin artificiel, l'utilisation de l'électroéjaculateur doit rester ponctuelle et limitée aux animaux incapables de sauter et qui supportent bien cette méthode de collecte, les taureaux de plus grand gabarit notamment.

La collecte au vagin artificiel, qui nécessite une stimulation sexuelle préalable, permet d'obtenir un éjaculat avec un comportement sexuel physiologiquement proche du coït. Cette méthode reste la plus adaptée pour obtenir du sperme de bonne qualité. L'inconvénient majeur de cette méthode dans le cadre de la monte privée est que la collecte ne pourra s'effectuer qu'en présence d'une femelle en chaleur et si le taureau est docile, suffisamment stimulé et capable de sauter.

En l'absence de développement actuel du vagin artificiel interne, la technique de collecte à l'électroéjaculateur constitue donc encore une méthode de collecte de choix pour les contrôles de fertilité en ferme. Nos résultats de collecte à l'électroéjaculateur montrent qu'il est difficile d'interpréter les éjaculats de mauvaise qualité : un résultat de mauvaise qualité ne permet pas de conclure définitivement, la tentative de prélèvement doit donc être renouvelée. L'utilisation d'ocytocine pourrait être envisagée car elle permettrait d'améliorer les résultats de collectes.

En ce qui concerne la question du bien-être animal, si l'utilisation de l'électroéjaculateur est encore acceptée en Europe, la réalisation d'une anesthésie épidurale préalablement à la collecte et l'application de stimulations électriques adaptées aux réactions de l'animal permettraient de diminuer son inconfort pendant la collecte.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABREU, J.J., LEITE, R.C. et al. – Effect of oxytocin treatment and massage of the cauda epididymitis, in association with electroejaculation, on ejaculate volume and sperm concentration of bull semen – In:

9º Congresso Brasileiro de Reproducao Animal – Belo Horizonte, Brazil, 22-26 de Junho, 1991, **2**, 1991, 421.

ALBERT et al. – Evaluation of potential breeding soundness of the bull – In : ROBERT, S. YOUNGQUIST., WALTER, R. THREFALL – Current Therapy in large animal theriogenology, second edition – Saunders Elsevier, 2007, 230-233.

ALMQUIST, J.O., HALE, E-B., - An approach to the measurement of sexual behavior and semen production of dairy bulls - Proc. Third Intern. Congr. Anim. Reprod., Cambridge, 1956, Plenary paper, p 50.

BALL, L., FURMAN, J.W. – Electroejaculation of the bull – Bovine Practitioner, 1972, **7**, 46-48.

BALL, L., FURMAN, J.W. – Electroejaculation of bulls using pulse waves of variable frequency and length – Journal of Animal Science, 1975, **40**, 4, 665-670.

BARONE, R. – Anatomie comparée des mammifères domestiques – Tome 4 : Splanchnologie II. Paris : Vigot, 1990. 501p.

BARTH, A.D., ARTEAGA, A.A., BRITO, L.F.C., - Use of internal artificial vaginas for breeding soundness evaluation in range bulls: an alternative for electroejaculation allowing observation of sex drive and mating ability – Animal Reproduction Science, 2004, **84**, 315-325.

BERNDTSON, WE., IGBOELI, G. – Spermatogenesis, sperm output and seminal quality of Holstein bulls electroejaculated after administration of oxytocin – Journal of Reproduction and Fertility – 1988 March, 82(2), 467-475.

BLOCKEY, M.B., - Using the serving capacity test to get the most out of beef bulls – Perth. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod, 1980, 13, 50-53.

BLOM, E. – Ultrastrukturen af nogle karakteristiske spermiedefekter og forslag til et nyt klassificerings system for tyrens spermogram – Nord. Vet. Med., 1973, **25**, 383-391.

BRINDLEY, G.S. – Electroejaculation : its technique, neurological implications and uses – J. Neuro.Psy., 1981, **44**, 9-18.

CANADIAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. (Page consultée le 6 novembre 2007). - Electroejaculation of bulls – (en ligne).

Adresse [URL:http://canadianveterinarians.net/](http://canadianveterinarians.net/)

CHENOWETH, P.J. – Clinical Reproductive Anatomy and Physiology of the bull – In : ROBERT, S. YOUNGQUIST., WALTER, R. THREFALL – Current Therapy in large animal theriogenology, second edition – Saunders Elsevier, 2007, p 217.

CHENOWETH, P.J., OSBORNE, H.G. – Breed differences in the response of young bulls to electroejaculation – Australian Veterinary Journal, 1978, **54**, 333-337.

CONTANTINESCA, G. Et I. – Clinical dissection guide for large animals. Horse and Large Ruminants – 2ème édition. Iowa: Iowa State Press, 2004. p 321.

CUISENIER, C. – Contribution à l'étude de l'importance de l'examen du sperme dans le contrôle d'aptitude à la reproduction des taureaux de monte naturelle - Th. : Med.vet. : Alfort : 1996, n°53.

CZIBA, J.C., MONTELLA, A. – Biologie de la reproduction humaine – Montpellier, 1993, Sauramps Médical.

DACHEUX, F. et J-L. – La Reproduction chez les mammifères et l'homme – INRA Editions Ellipses, Paris 2001.

DACHEUX, F. et J-L. L'épididyme et les glandes annexes. In : THIBAUT, C et LEVASSEUR, M-C. – La Reproduction chez les mammifères et l'homme – nouvelle édition. Paris : INRA Editions ellipses, 2001, 290-315.

DADOUNE, J-P. et DEMOULIN, A. Structure et fonctions du testicule. In : THIBAUT, C et LEVASSEUR, M-C. – La Reproduction chez les mammifères et l’homme – nouvelle édition. Paris : INRA Editions ellipses, 2001, 256-289.

DOOLEY, M.P., PINEDA, M.H., MAURER, R.R. et al. – Evidence of retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of bulls during electro-éjaculation – Theriogenology. Ville d’édition: 1986, **26**, 1, 101-109.

DUMONT, P. – Appréciation de la fonction sexuelle du taureau reproducteur – Le Point Vétérinaire. 1997a, 28(185). 1617-1628.

DYCE, K-M, SACK, W-O, WENSING, C-J-G. – Textbook of veterinary Anatomy – Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1987, p 184.

DYCE, K-M, SACK, W-O, WENSING, C-J-G. – Textbook of veterinary Anatomy – Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1987, p 660.

EASLEY, G.T. – A hand electrode for the electroejaculation of bulls – Bovine Practitioner, 1970, 5, 12-13, 16.

ENJALBERT, F. – Alimentation et reproduction chez le taureau – Bulletin des GTV, 1998, 5, 21-25.

ETSON, J.C., WALDNER, C.L., BARTH, A.D. – Evaluation of a segmented rectal probe and caudal epidural anesthesia for electroejaculation of bulls - Canadian Veterinary Journal. 2004, 45(3), 235-240.

FALK, A.J., WALDNER, C.L., COTTER, B.S. – Effects of epidural lidocaine anesthesia on bulls during electroejaculation – Canadian Veterinary Journal. 2001, 42(2), 116-120.

FOSTER, J., ALMQUIST, J.O., MARTIG, R.C. – Reproductive capacity of beef bulls. Changes in sexual behavior and semen characteristics among successive ejaculations – Journal of Animal Science, 1970, 30(2):245-52.

GARNER, D.L., Artificial Insemination. In: PERRY, T. – Reproduction in domestic animals – 4^eédition. San Diego : Academic Press, INC, 1991, 251-250.

GERARD, O., KHIRREDINE., B. – Production de semence bovine - Didacticiel de Maîtrise de la reproduction des bovins. 2002, 73 p.

GETTY, R. – Bull in Atlas for Applied Veterinary Anatomy. Ames: Iowa State University Press, 1964. p 162.

HOCHEREAU, M. T. et al. – Durée de la spermatogénèse chez le taureau : étude par autoradiographie testiculaire. 5th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. 1964. 3 :541.

HOUDEAU, E, PRUD'HOMME M-J, RAMPIN, O et al. Innervation de l'appareil génital : organisation anatomique, nature et fonctions. . In : THIBAUT, C et LEVASSEUR, M-C. – La Reproduction chez les mammifères et l'homme – nouvelle édition. Paris : INRA Editions ellipses, 2001, 425-456.

HOVELL, G.J.R., ARDRAN, G.M., ESSENHIGHT, D.M., SMITH, J.C. – Radiological observations on electrically-induced ejaculation in the ram – J.Repro.Fert., 1969, **20**, 383-388.

HURLEY, W.L., DOANE, R.M. – Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction – Journal of Animal Science., 1989, **72**, 784-804.

IDEAL INSTRUMENTS Subsidiary of NEOGEN CORPORATION – L'électroéjaculateur Electrojac 5 – Manuel de l'opérateur. 2002.9 p.

KNOBIL, E., NEILL, J. – The Physiology of Reproduction – : Raven Press, 1988. 793-814.

LACROIX, C. – Le prélèvement de sperme par électro-éjaculation chez le taureau charolais – Rec. Med. Vet., 1988, **164**, 6-7, 519-525.

LEON, H., PORRAS, AA., GALINA CS & NAVARRO-FIERRO, R. - Effect of the collection method on semen characteristics of zebu and european type cattle in the tropics - Theriogenology, 1991; 36: 349-355.

MARTIN, I.C.A., - The principles and practice of electro-éjaculation of mammals – Symposium of the Zoological Society of London – 1978, **43**, 127-152.

MOSURE, W.L., MEYER, R.A., GUDMUNSON, J. Et al. – Evaluation of possible methods to reduce pain associated with electroejaculation in bulls – Canadian Veterinary Journal. 1998, 39(8), 504-506.

OHL, DA. – Electroejaculation – Urologic Clinics of North America. 1993, **20**, 181-188.

PALMER, C.W., BRITO, L.F.C., ARTEAGA, A.A. et al., - Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls – Animal Reproduction Science, 2005, **87**, 25-31.

PALMER, C.W. – Welfare aspects of theriogenology: Investigating alternatives to electroejaculation of bulls – Theriogenology. 2005. **64**. 469-479.

PALMER, C.W., AMUNDSON, S.D., BRITO, L.F.C. – Use of oxytocin and cloprostenol to facilitate semen collection by electroejaculation or transrectal massage in bulls – Animal Reproduction Science. 2004. **80**, 213-223.

PARVANOV, P. - .Study on the effect of method of bull semen collection upon several qualitative parameters of fresh and after thawing semen - Bulgarian Journal of agricultural Science, 2000; 6(2): 233-237.

POPESKO, P. – Atlas d'anatomie topographique des animaux domestiques – Volume 3. Louvain : Vander, 1972, p 56.

QUINT, D. – Rationalisation de la conduite thérapeutique lors d'affection du tractus génital du taureau : Etude de la diffusion de molécules antibiotiques dans le sperme - Th. : Med.vet. : Toulouse : 2004 - TOU 3 - 4013.

SENGER, P.L. – Pathways to pregnancy and parturition – second revised edition. Eastgate Blvd : Current Conceptions, Inc., 2003, 258.

SETCHELL, BP. Male Reproductive Organs and semen. In : CUPPS, PT. - Reproduction in Domestic Animals - 4ème édition. San Diego: Academic Press, 1991, 221-249.

SETCHELL, B.P., Male reproductive organs and semen. In: PERRY, T. – Reproduction in domestic animals – 4^eédition. San Diego : Academic Press, INC, 1991, 251-278.

STIEVENART, M. – L'électro-éjaculation chez les mammifères. Revue bibliographique - Th. : Med.vet. : Lyon : 1997, n°6609.

WELSH, T.J., JOHNSON, BH. – Influence of electroejaculation on peripheral blood concentrations of corticosteroids, progesterone, LH, and testosterone in bulls – Arch. Androl. 1981. Nov, 7(3), 245-250.

WENKOFF, MS. – Evaluation of Bulls for Breeding Soundness – 2ème édition. Ottawa: Canadian Veterinary Medical Association, 1988, 6-9.

Toulouse, 2008

NOM : RIGAL

Prénom : FABRICE

TITRE : COMPARAISON DE LA QUALITE DE LA SEMENCE DE TAUREAUX COLLECTES A L'ELECTROEJACULATEUR OU AU VAGIN ARTIFICIEL

RESUME : L'OBJECTIF DE L' ETUDE EST DE COMPARER LA QUALITE DE LA SEMENCE COLLECTEE A L'ELECTROEJACULATEUR A CELLE COLLECTEE AU VAGIN ARTIFICIEL. 10 TAUREAUX DE COPELSE (CENTRE D'INSEMINATION) ONT ETE COLLECTES ALTERNATIVEMENT AVEC L'UNE ET L'AUTRE METHODE DEUX FOIS PAR SEMAINE PENDANT SIX SEMAINES. DES EJACULATS ONT ETE OBTENUS POUR 100% DES COLLECTES AU VAGIN ARTIFICIEL ET POUR 82.5% DES COLLECTES A L'ELECTROEJACULATEUR. LA CONCENTRATION EN SPERMATOZOIDES, LA MOTILITE AVANT ET APRES CONGELATION ONT ETE SIGNIFICATIVEMENT SUPERIEURES LORS D'UNE COLLECTE AU VAGIN ARTIFICIEL PAR RAPPORT A UNE COLLECTE A L'ELECTROEJACULATEUR. SEULEMENT 17.5% DES EJACULATS RECOLTES A L'ELECTROEJACULATEUR CONTRE 67.5% PAR LE VAGIN ARTIFICIEL ONT PU ETRE CONSERVES APRES CONGELATION.

MOTS-CLES : TAUREAU, COLLECTE DU SPERME, VAGIN ARTIFICIEL, ELECTROEJACULATEUR, PARAMETRES SEMINOLOGIQUES

ENGLISH TITLE : COMPARISON OF BULL SEMEN QUALITY COLLECTED BY ELECTROEJACULATION OR BY ARTIFICIAL VAGINA.

ABSTRACT : THE OBJECT OF THE STUDY IS TO COMPARE SEMEN QUALITY COLLECTED BY ELECTROEJACULATION OR BY ARTIFICIAL VAGINA. 10 BULLS FROM COPELSE (INSEMINATION CENTER) WERE COLLECTED TWICE A WEEK OVER SIX WEEKS USING ALTERNATIVELY EACH OF THE TWO METHODS. EJACULATES WERE OBTAINED FOR 100% OF COLLECTES BY ARTIFICIAL VAGINA AND FOR 82.5% OF COLLECTES BY ELECTROEJACULATOR. CONCENTRATION IN SPERMATOZOA, MOTILITY BEFORE AND AFTER FREEZING WERE SIGNIFICATIVELY HIGHER IN ARTIFICIAL VAGINA COLLECTES THAN IN ELECTROEJACULATION COLLECTES. ONLY 17.5% OF EJACULATES COLLECTED BY ELECTROEJACULATOR COULD BE KEPT AFTER FREEZING, FOR 67.5% BY ARTIFICIAL VAGINA.

KEYWORDS : BULL, SEMEN COLLECTION, ARTIFICIAL VAGINA, ELECTROEJACULATOR, SEMEN CHARACTERISTICS