

## Recherches sur la dilution et la conservation du sperme de Chien

par M. BROCHART et J. COULOMB

L'un de nous (1) a récemment signalé que l'addition progressive d'eau distillée au sperme non dilué de taureau en incubation aérobie à 40° prolonge notablement la durée de persistance de motilité. Cet effet est probablement dû à une action homéostatique; l'hypertonie considérable secondaire à la production de métabolites de faible poids moléculaire se trouve compensée par l'hypotonie préalablement établie par addition d'eau distillée.

Une amélioration de la persistance de motilité du sperme de taureau dilué au citrate de soude hypotonique-jaune d'œuf, et conservé à 4°, a été également observée et imputée à un phénomène comparable. La présente note est relative à l'extension de ces résultats à la conservation du sperme de chien.

### TECHNIQUES

Le sperme de chien provient d'un seul animal; il est obtenu par masturbation et recueilli dans des récipients distincts suivant la phase de l'éjaculation. Seule est utilisée la deuxième fraction, d'origine testiculaire et pratiquement exempte de sécrétions accessoires, qui sont défavorables à la conservation. Le dilueur est composé, à parties égales, de jaune d'œuf frais et de solutions de citrate de soude (à 11 H<sub>2</sub>O) ou de fructose, à des concentrations variables. La dilution est faite très progressivement, suivant une technique déjà décrite (1), au taux uniforme de 1/5. Le contrôle de la motilité au cours de la conservation est effectué quotidiennement. La motilité est notée suivant une échelle de 0 à 4.

### RÉSULTATS

#### 1° Action du jaune d'œuf-citrate de soude hypotonique.

Nous avons observé comme dans le cas du sperme de taureau, une nette amélioration de la durée utile de conservation du sperme de chien dilué en solution hypotonique, par rapport à celle qui est obtenue en milieu isotonique (fig. 1). Cet effet est

surtout manifeste à partir de la 48<sup>e</sup> heure, l'action la plus favorable étant obtenue avec la solution de citrate de soude à 2,7 p. 100. A cette concentration, le sperme présente, après quatre jours, encore 50 p. 100 de spermatozoïdes doués de bonne motilité.

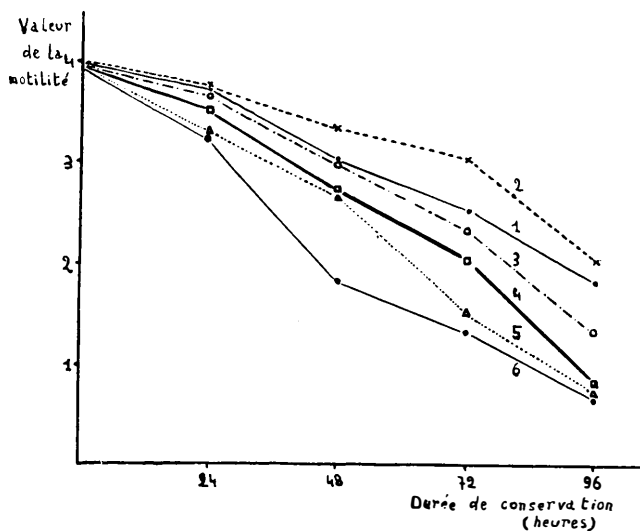


FIG. I. — Action des solutions hypotoniques de citrate de soude.  
(Concentrations de citrate : 1 : 2,3%. — 2 : 2,7%. — 3 : 3,1%. — 4 : 3,5%. —  
5 : 3,9%. — 6 : 4,76%. Moyennes de cinq expériences).

## 2° Action du jaune d'œuf-fructose.

L'emploi d'une solution hypotonique de fructose nous paraissait intéressant à étudier pour la raison suivante : l'intoxication des spermatozoïdes par hypertonie paraissant pouvoir être différée, ou évitée, par l'emploi d'une solution hypotonique, on pouvait penser de ce fait que l'inanition par disparition du fructose glycolysable (présent en faible quantité dans la fraction de sperme utilisée) constituait un facteur limitant de la conservation ; au contraire, dans les conditions normales, les spermatozoïdes meurent en présence d'une quantité encore notable de sucre, bien que le milieu soit tamponné : dans ce cas, l'intoxication précède l'inanition. Il pouvait être intéressant de combiner en un seul dilueur l'action homéostatique, par hypotonie, et l'apport nutritif, par l'emploi de fructose.

Contrairement à ce que nous attendions, nous nous sommes aperçus que la meilleure conservation était obtenue avec la solution isotonique de fructose (fig. II).

Le sperme dilué dans le jaune d'œuf-fructose isotonique présente après quatre jours encore 50 p. 100 de spermatozoïdes doués de bonne motilité.

La multiplication bactérienne est importante au cours de la conservation, et l'addition d'antibiotiques paraît indispensable; cette addition pourrait sans doute améliorer encore la conservation. Le tamponnement du dilueur pourrait agir dans le même sens.

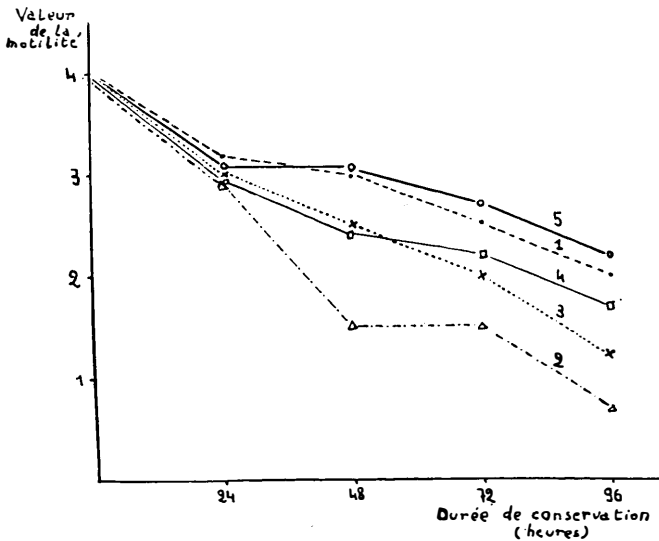


FIG. 2. — Action des solutions de fructose.

(Courbes témoins : en 1 : citrate 2,6%, en 2 : citrate 3,9%.

Solutions de fructose : en 3 : fructose 4%, en 4 : fructose 5%, en 5 : fructose 6%.

(Moyennes de cinq expériences).

### Discussion

La présence de sels ionisés a été de longue date considérée comme néfaste à la conservation du sperme; une attention particulière a été portée à l'ion  $\text{Cl}^-$ . C'est à l'abondance de tels sels ionisés dans les spermés peu concentrés, notamment de l'étalon, du verrat et du chien, que serait due leur mauvaise conservation *in vitro*. Cette action s'exercerait par des altérations de la membrane des spermatozoïdes. Récemment, KAMPSCHMIDT et coll. (2) ont signalé que l'ion  $\text{Na}^+$  est également toxique pour les spermatozoïdes de taureau, et ont observé des conservations nettement supérieures à celles couramment obtenues en utilisant une solution composée, pour  $4/5$ , de fructose isotonique, et, pour  $1/5$ , de bicarbonate de soude isotonique (ce dernier est peu ionisé et

a un haut pouvoir tampon). Ces auteurs attribuent l'amélioration de la conservation obtenue avec ce dilueur à la réduction de la concentration en ions  $\text{Na}^+$ . Nos expériences paraissent en accord avec cette hypothèse, car si l'hypotonie était en soi un facteur améliorant, un effet positif devrait être observé avec les solutions hypotoniques de fructose, ce qui n'est pas le cas; les solutions hypotoniques de citrate de soude ne seraient donc efficaces que par la réduction de leur concentration en ions  $\text{Na}^+$ .

L'action positive de l'eau distillée sur la survie aérobie à 40° du sperme non dilué de taureau n'en demeure pas moins un fait bien établi. Il est certain qu'à la température de 4°, l'augmentation de la pression osmotique du sperme de chien dilué est beaucoup plus lente que dans le cas du sperme de taureau non dilué à 40°; de ce fait, l'action favorable du fructose hypotonique ne serait pas observée.

Quoi qu'il en soit, il semble bien que le dilueur isotonique au citrate de soude, si couramment employé ces dernières années, soit un des milieux de dilution les plus défavorables qu'on ait pu trouver.

#### RÉSUMÉ

La dilution du sperme de chien au moyen d'une solution hypotonique de citrate de soude-jaune d'œuf, ou d'une solution isotonique de fructose-jaune d'œuf, augmente la durée de conservation utile jusqu'à une valeur de quatre jours.

L'action favorable de ces dilueurs pourrait être due à la diminution ou à l'élimination des ions  $\text{Na}^+$ .

*Laboratoire d'Insémination artificielle de l'École nationale vétérinaire d'Alfort (I.N.R.A.).*

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BROCHART (M.). — *Rec. Méd. vét.* **127**, 133 (1931).
2. KAMPSCHMIDT (R.-K.), MAYER (D.-T.), HERMAN (H.-A.) et DICKERSON (G.-E.). — *Journ. Dairy Sci.*, **34**, 1-43 (1931).