

Q 9203

## ÉTUDE «IN VITRO» DE QUELQUES FACTEURS PERMETTANT UN MEILLEUR MAINTIEN DE LA SURVIE DES SPERMATOZOÏDES AU COURS D'UNE LONGUE CONSERVATION

*M. PAQUIGNON (1), J.L. DACHEUX (2), M. COUROT (3)*

*(1) I.T.P. — 149, rue de Bercy — 75595 PARIS CEDEX 12*

*(2) FACULTÉ DES SCIENCES — Laboratoire de Physiologie comparée — 37200 TOURS*

*(3) I.N.R.A. — Station de Physiologie de la Reproduction — Nouzilly 37380 MONNAIE*

### INTRODUCTION

Avec le développement de l'élevage des truies en bandes dont les chaleurs sont étalées sur plusieurs jours, l'insémination Artificielle ne peut-être valablement utilisée que si la technologie de préparation des doses permet une longue conservation du pouvoir fécondant de la semence. Une technique de congélation a bien été proposée (PAQUIGNON et al., 1980) mais son rendement assez faible et surtout le coût encore élevé de fabrication d'une dose font que cette technique est encore peu utilisée. Ainsi la presque totalité des inséminations sont actuellement réalisées en semence liquide. Les nouveaux dilueurs BL<sub>1</sub> (PURSEL et al., 1973a), KIEV ou GUELPH (HAEGER & MACKLE, 1971), SCK<sub>7</sub> (TAYLOR, 1976), ZORLESCO (GOTTARDI et al., 1980), utilisés seuls ou en association avec une nouvelle technologie de préparation de la semence, ont largement contribué à améliorer la durée de conservation du pouvoir fécondant de la semence jusqu'au 3<sup>ème</sup> jour après la récolte, alors que l'I.V.T. ne permettait qu'une conservation de deux jours (BARITEAU et al., 1976).

Afin d'augmenter encore la durée de conservation du pouvoir fécondant, il était donc intéressant de mieux comprendre et de préciser ce qui, dans les dilueurs ou la technologie de préparation de la semence, permettait cette amélioration. De nombreux facteurs doivent intervenir. Cependant, les nouveaux dilueurs utilisés varient entre-eux principalement par leur composition ionique et se distinguent de l'I.V.T. par des concentrations très différentes en Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>. La nouvelle technologie proposée consiste en une dilution de la semence beaucoup plus faible que celle que nous utilisons couramment (PAQUIGNON et al., 1979).

Ainsi l'objectif de notre étude a été de tester dans deux expériences différentes :

- l'effet du rapport Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>,
- l'effet du taux de dilution et du rythme de récolte sur la survie «in vitro» des spermatozoïdes au cours d'une longue conservation.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### 1° Effet du rapport Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

Cette expérience factorielle a permis d'étudier l'effet de 4 niveaux de rapport Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (50 - 5 - 0,5 - 0,05) et deux durées d'incubation à 37°C (30 mn et 180 mn). Après collecte de l'éjaculat total, la semence de 4 verrats Large-White est divisée en quatre parties et centrifugée à 900 g pendant 10 mn. Le culot de spermatozoïdes est lavé dans une solution comprenant 30 mM de TRIS-HCL ; 5,5 mM de KCl ; 55 mM de NaCl ; 1 mM de CaCl<sub>2</sub> et 2 mM de MgCl<sub>2</sub>. Les spermatozoïdes de chaque aliquot sont alors dilués à une concentration de 30 x 10<sup>6</sup> spz/ml dans des milieux de conservation constitués par une solution de base comprenant 30 mM de TRIS/HCl ; 1 mM de CaCl<sub>2</sub> ; 2 mM de MgCl<sub>2</sub> ; 5 mM de Glucose ; 0,3 g/100 ml de BSA à laquelle a été

additionné différentes quantités de NaCl et KCl pour obtenir des rapports  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  de 50 – 5 – 0,5 – 0,05. Les quantités additionnées pour chaque valeur du rapport sont les suivantes : 50 (108 mM de NaCl ; 2,2 mM de KCl) ; 5 (91,7 mM de NaCl ; 18,3 mM de KCl) ; 0,5 (36,7 mM de NaCl ; 73,3 mM de KCl) ; 0,05 (5 mM de NaCl ; 104 mM de KCl). Les pressions osmotiques des solutions de lavage et de conservation sont contrôlées à l'osmomètre et ajustées à 310 mosmoles à l'aide d'inositol.

Les suspensions de spermatozoïdes sont ensuite conservées à 15°C pendant 48 heures ( $J_2$ ) et 120 heures ( $J_5$ ) ( $J_0$  est le jour de la collecte).

A la fin du temps de conservation, le pourcentage de cellules mobiles contenu dans chacun des milieux est estimé au microscope à contraste de phase après 30 et 180 mn d'incubation à 37°C.

## 2/ Effet de la dilution et du rythme de collecte des spermatozoïdes

Cette expérience factorielle a permis d'étudier l'effet de deux concentrations en spermatozoïdes ( $30 \times 10^6$  et  $120 \times 10^6$  spz/ml), cinq temps de conservation ( $J_1 - J_2 - J_3 - J_4 - J_5$ ) et deux rythmes de récolte (1 fois et 2 fois/semaine). Quatre verrats Large-White âgés de deux ans sont collectés pendant deux périodes de deux semaines à des rythmes de collectes différents. Chaque période est précédée d'une semaine d'adaptation au niveau du rythme de récolte. Pendant la première période, deux d'entre eux sont collectés 1 fois/semaine et les deux autres 2 fois/semaine, puis pour la deuxième période le rythme de récolte de chaque paire de verrat est inversé. Seule la fraction riche de l'éjaculat est utilisée. Un aliquot de chaque éjaculat est dilué aux différentes concentrations dans le BL<sub>1</sub> (PURSEL et al., 1973a) et stocké pendant 1 à 5 jours dans des tubes de 5 ml à la température de 15°C. La survie des spermatozoïdes est contrôlée sous microscope à contraste de phase entre lame et lamelle après que la semence stimulée par de la caféine (2,5 mM) ait été incubée pendant 30 mn à 37°C.

### ● Analyse des résultats :

L'examen des différents échantillons est pratiqué sans en connaître l'origine. L'ensemble des résultats obtenus est soumis à l'analyse de variance après transformation des pourcentages en  $\text{Arc sin} \sqrt{p}$ .

## RÉSULTATS

### Effet du rapport $\text{Na}^+/\text{K}^+$

Il existe une valeur optimale du rapport  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pour la survie des spermatozoïdes quel que soit le temps de conservation (tableau 1, effet  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  composante quadratique,  $P < 0,01$ ). Cette valeur se situe entre 0,5 et 5. L'optimum est plus marqué après 5 jours qu'après 2 jours de conservation (tableau 1, composante linéaire x quadratique,  $P < 0,05$ ). Lors des incubations de 3 heures à 37°C après conservation à 15°C, des rapports  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  plus élevés favorisent légèrement la survie des spermatozoïdes en fonction du temps d'incubation (tableau 1, interaction : incubation x  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , composante linéaire x linéaire,  $P < 0,05$ ). Quel que soit le rapport  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , la conservation des spermatozoïdes à 15°C jusqu'à  $J_5$  réduit considérablement le pourcentage de cellules mobiles (tableau 1, effet durée de conservation  $P < 0,001$ ).

### Effet de la dilution et du rythme de collecte

Une concentration de  $120 \times 10^6$  spz/ml maintient significativement mieux la survie des spermatozoïdes au cours de la conservation (tableau 2) ( $P < 0,001$ ). L'absence d'interaction concentration x conservation montre que la diminution du taux de spermatozoïdes mobiles au cours de la conservation est la même quelle que soit la concentration (tableau 2). Globalement, le rythme de récolte n'a pas d'effet significatif sur le taux de spermatozoïdes mobiles au cours de la conservation. Cependant, un rythme de deux fois comparé à une fois par semaine a tendance à améliorer le maintien du pourcentage de spermatozoïdes mobiles au cours de la conservation à + 15°C (Interaction conservation x rythme,  $P = 0,11$ ).

**TABEAU 1**  
INFLUENCE DU RAPPORT  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  SUR LA SURVIE DES SPERMATOZOÏDES (%)  
CONSERVÉS À 15°C ( $\bar{m} \pm \text{sm}$ ) (n = 4)

TEMPS DE CONSERVATION (HEURES)	DURÉE D'INCUBATION à 37°C APRÈS CONSERVATION (mn)	RAPPORT $\text{Na}^+/\text{K}^+$			
		50	5	0,5	0,05
48	30	32,5 ± 5,2	40,0 ± 4,0	35,1 ± 4,5	30,0 ± 5,4
	180	41,2 ± 5,1	42,5 ± 3,2	31,2 ± 4,2	30,0 ± 4,0
	Total	36,8 ± 3,7	41,2 ± 2,4	33,1 ± 2,9	30,0 ± 3,1
120	30	1,2 ± 0,5	16,2 ± 7,4	21,2 ± 6,2	9,2 ± 3,9
	180	8,7 ± 2,3	16,2 ± 5,9	13,2 ± 5,6	6,5 ± 4,6
	Total	4,5 ± 1,8	16,2 ± 4,4	17,2 ± 4,1	7,8 ± 2,8
Total		20,9 ± 5,4	28,7 ± 4,1	25,2 ± 3,2	18,9 ± 3,5

**TABEAU 2**  
EFFET DE LA CONCENTRATION ET DU RYTHME DE RÉCOLE SUR LA SURVIE DES SPERMATOZOÏDES (%)  
AU COURS D'UNE LONGUE CONSERVATION ( $\bar{m} \pm \text{sm}$ ) (n = 4)

CONCENTRATION DE STOCKAGE ( $\times 10^6$ spz/ml)	RYTHME DE RÉCOLTE/ SEMAINE	TEMPS DE CONSERVATION				
		J <sub>1</sub>	J <sub>2</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>4</sub>	J <sub>5</sub>
120	1	63,4 ± 1,4	59,4 ± 2,1	48,4 ± 2,7	43,4 ± 2,1	34,1 ± 2,2
	2	62,5 ± 0,9	57,2 ± 1,7	52,8 ± 0,8	46,6 ± 1,9	40,3 ± 4,1
	Total	62,9 ± 0,8	58,3 ± 1,3	50,6 ± 1,5	45,0 ± 1,4	37,2 ± 2,4
30	1	39,7 ± 2,1	31,4 ± 3,7	28,9 ± 4,7	20,0 ± 4,4	12,9 ± 3,8
	2	35,6 ± 8,4	28,1 ± 5,5	28,1 ± 5,1	23,8 ± 5,8	16,4 ± 5,8
	Total	37,6 ± 4,1	29,7 ± 3,1	28,5 ± 3,2	21,9 ± 3,4	14,6 ± 3,2
Total		50,3 ± 3,8	44,1 ± 4,0	39,5 ± 3,3	33,5 ± 3,5	25,9 ± 3,5

(J<sub>0</sub>) est le jour de la collecte.

Le taux de spermatozoïdes mobiles diminue significativement ( $P < 0,001$ ) au cours de la conservation quels que soient les paramètres considérés. Pour une conservation de J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub>, J<sub>4</sub>, J<sub>5</sub>, il est respectivement de 50,3 – 44,1 – 39,5 – 33,5 – 25,9.

## DISCUSSION

L'environnement ionique des spermatozoïdes influence donc d'une façon significative leur survie au cours d'une longue conservation. C'est un rapport  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  compris entre 0,5 et 5 qui est le plus propice à leur survie. C'est aussi pour une valeur du rapport de 0,5 que le métabolisme oxydatif du sperme éjaculé est le maximum (DACHEUX, 1980). Cette valeur est la plus proche de celle trouvée dans le liquide de la queue de l'épididyme ( $\text{Na}^+/\text{K}^+ = 0,65$ ) ou les spermatozoïdes peuvent être stockés pendant plusieurs jours sans perdre leur pouvoir fécondant (EINARSSON, 1971). Ces résultats sont à rapprocher des observations de BREDDERMAN et FOOTE (1971) qui constatent que des spermatozoïdes de Taureau, mis en incubation dans un milieu où les ions  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  sont dans un rapport compris entre 0,5 et 6, ne changent pas de volume cellulaire alors que pour les valeurs supérieures ou inférieures, des gonflements apparaissent très rapidement. Ces perturbations sont en relation avec une modification dans la répartition intracellulaire des ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  (BREDDERMAN & FOOTE, 1971). Il est possible que la diminution de la concentration en ion  $\text{Na}^+$  chez les nouveaux dilueurs proposés pour la préparation de la semence, soit un des éléments qui leur permettent un meilleur maintien du pouvoir fécondant des spermatozoïdes au cours d'une longue conservation.

Un autre élément, qui peut intervenir sur cette qualité des spermatozoïdes au cours d'une longue conservation, est le taux de dilution de la semence. Ainsi une concentration de  $120 \times 10^6$  spz/ml s'avère extrêmement bénéfique à la survie des spermatozoïdes. Par contre, une concentration de  $30 \times 10^6$  spz/ml est moins efficace pour cette survie. Cet effet néfaste doit se réaliser dans les heures qui suivent la dilution, puisque dès J<sub>1</sub>, la différence dans le taux de spermatozoïdes mobiles est déjà fortement marquée et qu'ensuite, elle n'évolue plus de J<sub>1</sub> à J<sub>5</sub>. Ces résultats confirment ceux de PURSEL et al. (1973b) montrant qu'une forte dilution ( $54 \times 10^6$  spz/ml) avait un effet néfaste sur la qualité des spermatozoïdes après un brusque refroidissement. Ils confirment également ceux de PURSEL (1979) indiquant que pour les dilueurs BL<sub>1</sub> et KIEV, les concentrations de 80 et  $160 \times 10^6$  spz/ml permettaient de mieux maintenir la survie des spermatozoïdes. Cependant, cette amélioration dans la survie «in vitro» ne semble pas être suivie d'une augmentation de la fertilité (PAQUIGNON et al., 1982).

Un rythme de récolte de deux fois par semaine a tendance à améliorer les possibilités de conservation du sperme par rapport à un rythme d'une fois par semaine. Toutefois, cet effet bénéfique n'apparaît vraiment qu'en J<sub>4</sub>, alors qu'actuellement la semence n'est utilisée que jusqu'en J<sub>2</sub>. Ce résultat confirme ceux de PAQUIGNON et COUROT (1975) montrant que l'augmentation de la fréquence des collectes (un rythme supérieur à une fois par semaine) améliore l'aptitude des spermatozoïdes à subir la congélation. Il pourrait s'en suivre une meilleure fertilité dans la mesure où cette augmentation du rythme de récolte se traduit par une amélioration du pouvoir fécondant des spermatozoïdes (KONJUHOVA, 1966).

## CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence un certain nombre de facteurs intervenant dans l'amélioration de la survie des spermatozoïdes. La valeur du rapport  $Na^+/K^+$  dans les dilueurs correspondant à celle observée dans le fluide de la région caudale épидидymaire, une faible dilution ( $120 \times 10^6$  spz/ml) ainsi qu'un rythme de récolte de deux fois par semaine favorisent «in vitro» la survie des spermatozoïdes au cours d'une longue conservation. Ces différents éléments devront être pris en compte dans la mise au point de nouveaux dilueurs ou de toute nouvelle technologie de préparation de la semence.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARITEAU F., BUSSIÈRE J., COUROT M., 1976. Journées Rech. Porcine en France, **8**, 171-174.
- BREDDERMAN P.J., FOOTE R.H., 1971. Expl. Cell. Res. **66**, 458-464.
- DACHEUX J.L., 1980. Thèse Doctorat d'État Sci. Nat., Univ. François Rabelais Tours, p. 85.
- EINARSSON S., 1971. Acta Vet. Scand. Suppl. **36**, p. 80.
- GOTTARDI L., BRUNEL L., ZANELLI L., 1980. IXth Intern. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem., Madrid, **3**, 275 (Abst.).
- HAEGER O., MÄCKLE N., 1971. Dtsch. tierärztl. wschr., **78**, 395-397.
- KONJUHOVA V.A., 1966. A.B.A., **35**, 3885.
- PAQUIGNON M., COUROT M., 1975. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., **15**, 517-523.
- PAQUIGNON M., BARITEAU F., BUSSIÈRE J., COUROT M., 1979. Journées Rech. Porcine en France, **11**, 323-328.
- PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F., COUROT M., 1980. Theriogenology, **14** (3), 217-226.
- PAQUIGNON M., BARITEAU F., BUSSIÈRE J., DACHEUX J.L., COUROT M., 1982. Journées Rech. Porcine en France, **14**, in press.
- PURSEL V.G., JOHNSON L.A., SCHULMAN L.L., 1973a. J. Anim. Sci., **37**, 532-535.
- PURSEL V.G., JOHNSON L.A., SCHULMAN L.L., 1973b. J. Anim. Sci., **37**, 528-531.
- PURSEL V.G., 1979. Animal Reproduction BARC symposia, **3**, 145-157. Harold Hawk, ed.
- TAYLOR L., 1976. Pig. Intern. **6** (1), 19-20.

Q3204

## EFFET DU DILUEUR, DU TAUX DE DILUTION ET DU PLASMA SÉMINAL SUR LA FERTILITÉ DES TRUIES APRÈS UNE LONGUE CONSERVATION DE LA SEMENCE

*M. PAQUIGNON (1), F. BARITEAU (2), J. BUSSIÈRE (2),  
J.L. DACHEUX (3), M. COUROT (3)*

*(1) I.T.P. — 149, rue de Bercy — 75595 PARIS CEDEX 12*

*(2) I.N.R.A.-S.E.I.A. — 86480 ROUILLE*

*(3) I.N.R.A. — Station de Physiologie de la Reproduction - B.P. 1 — Nouzilly 37380 MONNAIE*

### INTRODUCTION

Parmi les différentes solutions proposées pour améliorer la durée de conservation du pouvoir fécondant de la semence, les dilueurs jouent un rôle essentiel. Le BL<sub>1</sub> (PURSEL et al., 1973) et le GUELPH (HAEGER et MÄCKLE, 1971) récemment testés en France permettent respectivement de conserver la semence sans baisse du pouvoir fécondant jusqu'au 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> jour après la récolte (BARITEAU et al., 1977 ; PAQUIGNON et al., 1980). Au delà, pour une plus longue conservation, l'efficacité des dilueurs en particulier celle du GUELPH reste à démontrer. Dans la préparation de la semence, ces dilueurs ainsi que d'autres tels le SCK7, (TAYLOR, 1976) et le MC<sub>14</sub> (WAIDE, 1977) sont toujours utilisés pour diluer à un faible taux, la fraction riche de l'éjaculat sans que l'on sache la part respective de ces deux derniers éléments dans le maintien du pouvoir fécondant des spermatozoïdes après une longue conservation. Une faible dilution permet une meilleure survie des spermatozoïdes (PAQUIGNON et al., 1982) mais nous n'avons à notre connaissance, aucune information concernant l'effet de la fraction de l'éjaculat collectée sur le niveau du pouvoir fécondant de la semence. Celui-ci serait d'autant plus intéressant à connaître que la fraction riche ne permet pas de récolter le maximum de spermatozoïdes par éjaculat (KING et MACPHERSON, 1973) et qu'actuellement se développe l'insémination avec prélèvement des verrats à la ferme.

Ainsi l'objet de notre étude a été de vérifier sur un plus grand nombre de truies l'efficacité du dilueur GUELPH comparé au dilueur BL<sub>1</sub>, de tester l'effet du taux de dilution et de la fraction de l'éjaculat collectée dans leur capacité à améliorer la durée de conservation du pouvoir fécondant de la semence.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette expérimentation a été réalisée au Centre Expérimental I.N.R.A. de Rouillé, de Novembre 1979 à Septembre 1981. Pendant cette période 23 verrats Landrace ont été collectés une fois par semaine.

#### Préparation de la semence :

Alternativement, toutes les semaines, la fraction riche ( $\bar{m} = 98$  ml) ou la fraction totale ( $m = 283$  ml) de l'éjaculat était prélevée sur chaque verrot. La semence était immédiatement évaluée par le volume, la concentration et la motilité.

Les différentes fractions de l'éjaculat étaient divisées en aliquots de  $3 \times 10^9$  spz. Ceux de la fraction totale étaient dilués à 25 ml avec le Guelph et 100 ml avec le BL<sub>1</sub> et le Guelph pour la comparaison de ces dilueurs, ceux de la fraction riche à 25 ml et 100 ml avec le Guelph. Les concentrations en spermatozoïdes après dilution étaient donc respectivement de  $120$  et  $30 \times 10^6$  spz/ml pour des doses de 25 et 100 ml.

Les doses de semence étaient conservées à 15°C et utilisées jusqu'en J<sub>3</sub> pour le BL<sub>1</sub> et en J<sub>5</sub> pour le Guelph (J<sub>0</sub> est le jour de la récolte).

### Méthode d'insémination :

Les truies multipares et nullipares (I.A. premières) de la zone d'activité du Centre d'Insémination Artificielle de Rouillé, ont été inséminées une seule fois le jour de l'appel de l'inséminateur. Au moment de l'insémination, les doses de 100 ml n'étaient pas rediluées, celle de 25 ml étaient rediluées dans 75 ml de dilueur Guelph pour porter le volume du sperme introduit dans les voies génitales femelle à 100 ml. Une seule dose de semence était inséminée en J<sub>0</sub> et J<sub>1</sub>. De J<sub>2</sub> à J<sub>5</sub>, une double dose était utilisée par insémination.

### Contrôle des résultats :

Les résultats sont exprimés en taux de mise-bas. Pour la comparaison des dilueurs BL<sub>1</sub> et Guelph, ils rassemblent ceux des inséminations réalisées de Mai 1977 à Mars 1979 (PAQUIGNON et al., 1980) et de Novembre 1979 à Septembre 1981. Les différences dans le taux de mise-bas sont analysées par le test de X<sup>2</sup> corrigé.

## RÉSULTATS

### Comparaison des dilueurs BL<sub>1</sub> et Guelph

Un total de 963 truies ont été inséminées pour cette comparaison (tableau 1).

La fertilité, quel que soit le dilueur utilisé, ne varie pas en fonction de la durée de conservation de la semence. Cependant, avec le dilueur Guelph, une légère chute apparaît en J<sub>4</sub> qui est accentuée en J<sub>5</sub>.

Pour chaque jour d'utilisation, le taux de mise-bas entre les deux dilueurs n'est pas significativement différent, bien qu'il soit toujours plus élevé avec le dilueur Guelph. Ainsi globalement de J<sub>0</sub> à J<sub>3</sub>, la fertilité est significativement améliorée quand la semence est diluée dans le Guelph (62,5 % vs 72,4 % respectivement pour le BL<sub>1</sub> et le Guelph (P < 0,01). Quel que soit le dilueur utilisé, la prolificité a tendance à décroître quand la durée de conservation de la semence augmente. Celles obtenues avec les dilueurs BL<sub>1</sub> et Guelph de J<sub>0</sub> à J<sub>3</sub> sont très peu différentes (10,3 vs 10,0 respectivement pour les dilueurs BL<sub>1</sub> et Guelph).

TABLEAU 1

EFFETS COMPARÉS DES DILUEURS GUELPH ET BL<sub>1</sub> SUR LA CONSERVATION DU POUVOIR FÉCONDANT DU SPERME DE VERRAT ET LA TAILLE DES PORTÉES RÉSULTANTES

DURÉE DE CONSERVATION	DILUEUR	NOMBRE DE ♀ INSEMINÉES	MISE-BAS (%)	PROLIFICITÉ
J <sub>0</sub>	BL <sub>1</sub>	119	63,0	11,2
	Guelph	91	71,4	10,3
J <sub>1</sub>	BL <sub>1</sub>	189	73,0	10,4
	Guelph	175	72,6	9,9
J <sub>2</sub>	BL <sub>1</sub>	117	62,4	9,9
	Guelph	104	71,2	10,9
J <sub>3</sub>	BL <sub>1</sub>	53	62,3	9,2
	Guelph	115	73,9	9,2
J <sub>4</sub>	Guelph	54	68,5	9,7
J <sub>5</sub>	Guelph	24	62,5	9,2
J <sub>0</sub> -J <sub>1</sub> -J <sub>2</sub> -J <sub>3</sub>	BL <sub>1</sub>	478	62,5	10,3
	Guelph	485	72,4 *	10,0

\* Significativement différent (P < 0,01)

## Effet du taux de dilution et de la fraction de l'éjaculat utilisée

Un total de 1071 truies ont été inséminées dans cet essai. A nombre de spermatozoïdes constant par dose d'insémination, la fertilité moyenne est significativement améliorée quand la semence est plus diluée (67,2 % vs 61,2 % de mise-bas respectivement pour 30 et 120 x 10<sup>6</sup> spz/ml) (P < 0,05). Il n'y a pas de différence dans le taux de mise-bas entre les deux concentrations par jour de conservation jusqu'en J<sub>4</sub>. En J<sub>5</sub>, la différence devient significative (P < 0,05) par suite d'une très faible fertilité de la semence plus concentrée. La prolificité est légèrement supérieure pour une faible dilution de la semence (10,3 vs 10,5 porcelets respectivement pour 30 et 120 x 10<sup>6</sup> spz/ml (tableau 2).

**TABLEAU 2**  
EFFET DU TAUX DE DILUTION DE LA SÉMENCE  
SUR LE TAUX DE MISE-BAS ET LA PROLIFICITÉ

DUREE DE CONSERVATION	TAUX DE DILUTION (x 10 <sup>6</sup> spz/ml)	NOMBRE DE ♀ INSEMINÉES	MISE-BAS (%)	PROLIFICITÉ
J <sub>0</sub>	120	95	69,5	11,0
	30	98	67,3	10,6
J <sub>1</sub>	120	102	63,7	11,3
	30	153	71,9	10,4
J <sub>2</sub>	120	74	68,9	10,0
	30	108	70,4	10,6
J <sub>3</sub>	120	104	61,5	10,0
	30	114	64,9	9,7
J <sub>4</sub>	120	74	55,4	9,9
	30	65	58,5	10,9
J <sub>5</sub>	120	49	36,7 *	9,4
	30	35	60,0	9,1
Total	120	498	61,2 *	10,5
	30	573	67,2	10,3

\* Significativement différent P < 0,05

Quand on utilise la fraction totale de l'éjaculat, le taux de mise-bas moyen est significativement amélioré (67,9 % vs 60,7 % respectivement pour la fraction totale et la fraction riche de l'éjaculat) (P < 0,02). Pour chaque jour de conservation, le taux de mise-bas obtenu avec la fraction totale de l'éjaculat est toujours égal ou supérieur à celui obtenu avec la fraction riche. Cependant, la différence n'est significative qu'en J<sub>4</sub> (P < 0,01). La prolificité est légèrement supérieure avec l'utilisation de la fraction riche de l'éjaculat (10,3 vs 10,5 porcelets respectivement pour la fraction totale et la fraction riche de l'éjaculat) (tableau 3).

TABLEAU 3  
EFFET DE LA FRACTION DE L'ÉJACULAT COLLECTÉE  
SUR LE TAUX DE MISE-BAS ET LA PROLIFICITÉ

DURÉE DE CONSERVATION	FRACTION DE L'ÉJACULAT	NOMBRE DE ♀ INSÉMINÉES	MISE-BAS (%)	PROLIFICITÉ
J <sub>0</sub>	T	94	72,3	10,6
	R	99	64,6	11,0
J <sub>1</sub>	T	137	68,6	10,6
	R	118	68,6	10,9
J <sub>2</sub>	T	93	72,1	10,2
	R	89	67,4	10,6
J <sub>3</sub>	T	114	68,4	10,1
	R	104	57,7	9,5
J <sub>4</sub>	T	73	69,8 *	10,3
	R	66	42,4	10,9
J <sub>5</sub>	T	49	44,9	9,4
	R	35	48,5	8,9
Total	T	560	67,9 *	10,3
	R	511	60,7	10,5

\* Significativement différent : P < 0,01 pour J<sub>4</sub> ; P < 0,02 pour Total.  
T : Fraction totale R : Fraction riche.

## DISCUSSION

Dans cette étude, l'insémination d'un plus grand nombre de truies fait apparaître une meilleure efficacité du dilueur Guelph pour maintenir le pouvoir fécondant des spermatozoïdes au cours d'une longue conservation. Les résultats confirment ceux déjà observés antérieurement (PAQUIGNON et al., 1980). Ils les complètent en ce sens que la semence diluée dans le Guelph pourrait être utilisée jusqu'en J<sub>4</sub> sans baisse significative de la fertilité et de la prolifécité. Au-delà, en J<sub>5</sub>, la plus faible fertilité et la chute importante de prolifécité ne nous permettent pas, pour le moment, de conseiller l'utilisation du Guelph pour une telle durée de conservation. L'ensemble de ces résultats confirment ceux de JOHNSON et al. (1980) montrant que le dilueur Guelph est supérieur au BL<sub>1</sub> pour maintenir le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Cependant, contrairement à ces auteurs, nous n'observons pas de baisse significative de la fertilité en fonction de la durée de conservation de la semence. Mais il faut noter que dans notre expérimentation à partir de J<sub>2</sub>, nous utilisons une double dose au moment de l'I.A alors que JOHNSON et al. (1980) utilisent seulement une dose.

Bien que les spermatozoïdes dilués à une concentration de  $120 \times 10^6$  spz/ml aient une meilleure survie au cours d'une longue conservation (PAQUIGNON et al., 1982) leur pouvoir fécondant n'est pas amélioré. Au contraire, il est significativement diminué en J<sub>5</sub>. Ces résultats confirment les observations de JOHNSON et al., (1980) montrant que pour une conservation en J<sub>0</sub>-J<sub>1</sub> et J<sub>2</sub>, le volume de stockage de la semence, 25 ou 100 ml, n'a pas d'influence significative sur le taux de mise-bas. Il semble donc que pour le moment, la préparation de la semence en doses de 100 ml prêtes à l'emploi (BARITEAU et al., 1977) soit satisfaisante pour obtenir une fertilité maximum. Il se peut que dans le cas d'une conservation à une concentration de  $120 \times 10^6$  spz/ml (dose de 25 ml), la dilution de la semence au moment de l'insémination pour amener le volume à 100 ml soit défavorable aux spermatozoïdes.

La fraction de l'éjaculat collectée joue un rôle important sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. L'amélioration de la fertilité dès J<sub>0</sub> avec la fraction totale de l'éjaculat semble indiquer que cette dernière intervient plutôt au niveau du tractus génital femelle que sur la survie « *in vitro* » des spermatozoïdes. La fraction totale de l'éjaculat se distingue de la fraction riche par l'apport en fin d'éjaculation des sécrétions des vésicules séminales. Ceci suggère donc l'import-



tance du rôle de ces glandes dans les processus qui contrôlent les qualités fécondantes des spermatozoïdes. Ce rôle bénéfique a été mis en évidence après vésiculectomie (MACPHERSON, 1968 ; DAVIES et al., 1975). On sait par ailleurs, que le plasma séminal facilite la remontée des spermatozoïdes en inhibant les contractions de l'isthme de l'oviducte (VIRING & EINARSSON, 1980), augmente la durée de survie des spermatozoïdes (SEGLIN'SH & BRUTGANS, 1980) et leur durée de capacitation (PURSEL, 1979) et contribue à l'agglutination des leucocytes (VESELSKY et al., 1981). Il semble donc que l'utilisation de la fraction totale de l'éjaculat soit essentielle pour obtenir une fertilité maximum. C'est aussi en collectant la fraction totale que l'on obtient le maximum de spermatozoïdes par éjaculat (KING et MACPHERSON, 1973).

## CONCLUSION

Notre étude montre que d'un point de vue pratique, l'emploi du dilueur GUELPH comme milieu de dilution, permet de conserver la semence jusqu'au 4<sup>e</sup> jour après la récolte sans chute brutale de la fertilité et de la prolificité.

La fertilité est améliorée quand on utilise la fraction totale de l'éjaculat plutôt que la fraction riche et quand la semence est diluée à une concentration de  $30 \times 10^6$  spz/ml. La technologie de préparation de la semence actuellement utilisée en France dans les centres d'I.A. : collecte de la fraction totale de l'éjaculat, diluée dans le GUELPH en doses de 100 ml prête à l'emploi contenant  $3 \times 10^9$  spermatozoïdes, semble donc favorable pour l'obtention d'une fertilité maximum.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARITEAU F., BUSSIÈRE J., COUROT M., 1977. Journées Recherche Porcine en France, **9**, 11-14.
- DAVIES D.C., HALL G., HIBBITT K.C., MOORE H.D.M., 1975, J. Reprod. Fert., **43**, 305-312.
- HAEGER O., MÄCKLE N., 1971. Dtsch. tierärztl. wschr. **78**, 395-397.
- JOHNSON L.A., AALBERS J.G., WILLEMS C.T.M., RADEMAKER J.H.M. 1980., Int. Pig. Vet. Society. **33**.
- KING G.J., MACPHERSON J.W., 1973. J. Anim. Sci., **36**, 563-565.
- MACPHERSON J.W., 1968. Proc. 2nd Tech. Conf. A.I. and Reprod. 64-67.
- PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F., LE MAIGNAN de KERANGAT G., COUROT M., 1980. Journées Rech. Porcine en France, **12**, 157-160.
- PAQUIGNON M., DACHEUX J.L., COUROT M., 1982. Journées Rech. Porcine en France, **14**, (in press).
- PURSEL V.G., JOHNSON L.A., SCHULMAN L.L., 1973. J. Anim. Sci. **37**, 532-535.
- PURSEL V.G., 1979. J. Anim. Sci., **49**, Suppl. 1, 328.
- SEGLIN'SH A., BRUTGANS Y., 1981. A.B.A., **49**, 337.
- TAYLOR L., 1976. Pig. Intern. **6** (1), 19-20.
- VESELSKY L., SEDLAKOVA E., DOSTAL J., HRUBAN V., PAZDERA J., 1981. Int. J. Fertil., **26** (1), 61-64.
- VIRING S., EINARSSON S., 1980. Acta Vet. Scand., **21**, 607-616.
- WAIDE Y., SOEJIMA A., MASUDA H., 1977. Japan J. Anim. Reprod. **23** (3), 99-104.