

03204

## 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).

**TABEAU 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.