

R7902

## CONSERVATION PROLONGÉE DU SPERME FRAIS DE VERRAT

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

(1) I.T.P. - 149, rue de Bercy, 75012 Paris

(2) I.N.R.A. - S.E.I.A. - 86480 Rouille

(3) I.N.R.A. - Physiologie de la Reproduction, 37380 Nouzilly

### I. - INTRODUCTION

Avec l'utilisation du dilueur BL<sub>1</sub> pour la conservation de la semence fraîche du verrat, un important progrès a été réalisé ces dernières années en insémination artificielle porcine. De bons taux de réussite sont maintenant obtenus avec la semence utilisée jusqu'au troisième jour (J<sub>2</sub>) de conservation (BARI-TEAU et al., 1977). Cependant cette durée de conservation apparaît encore insuffisante quand il s'agit d'expédier la semence dans les élevages éloignés du centre de production, ou d'inséminer avec le sperme d'un verrat déterminé les truies d'une même bande dont les chaleurs s'étalent sur plusieurs jours, ou encore d'améliorer l'organisation des collectes dans les centres d'insémination artificielle porcine.

Ainsi l'objectif pratique de l'étude dont nous rapportons ici les résultats a-t-il été d'essayer de prolonger la conservation de la semence en préservant au maximum son pouvoir fécondant. Pour ce faire nous avons eu recours à :

1) l'addition de catalase dans le dilueur BL<sub>1</sub> selon les résultats positifs de IGBOELI (1970) et DEDE et STEINBACH (1976) ;

2) l'utilisation d'un dilueur d'origine soviétique à très forte concentration en glucose et contenant de l'E.D.T.A., dilueur dit de "Kiev" (HAEGER et MÄCKLE, 1971) ou de "Guelph" (REED, 1976) ;

en comparant les résultats obtenus à ceux du dilueur BL<sub>1</sub>.

### II. - MATÉRIEL ET MÉTHODE

Après le contrôle de la motilité des spermatozoïdes et de leur concentration, effectué aussitôt après la récolte du sperme, les éjaculats ont été partagés en deux fractions diluées à 3.10<sup>9</sup> spermatozoïdes totaux par dose de 100 ml prête à l'emploi, respectivement, selon les expériences,

- dans le dilueur BL<sub>1</sub> avec ou sans catalase (270 unités/ml de catalase pure extraite du foie de bovin),
- dans le dilueur de Guelph (Tableau 1) et le dilueur BL<sub>1</sub>.

TABLEAU 1

COMPOSITION DES DILUEURS UTILISÉS POUR LA CONSERVATION DU SPERME DE VERRAT A + 15° C

PRODUITS (1)	BL <sub>1</sub>	GUELPH
Glucose	29 g	60 g
Citrate de Sodium (2)	10 g	4,4 g
Bicarbonate de Sodium	2 g	1,2 g
Chlorure de potassium	0,3 g	
E.D.T.A. (3)	—	3,7 g
Streptomycine (dihydrosulfate)	1 g	1 g
Penicilline G (potassium)	1.10 <sup>6</sup> U.I.	1.10 <sup>6</sup> U.I.

(1) Quantité de produits dissous dans de l'eau distillée dont le volume final sera ajusté à 1 litre.

(2) Citrate de sodium 2H<sub>2</sub>O pour BL<sub>1</sub> et 5,5 H<sub>2</sub>O pour Guelph.

(3) Acide éthylène diamine-tétraacétique, sel disodique.

Les doses étaient conservées à 15° C jusqu'à l'utilisation. Des contrôles de motilité ont été effectués quotidiennement jusqu'au cinquième jour (J<sub>4</sub>) de conservation après agitation et incubation à 37° C. Les doses préparées avec le dilueur BL<sub>1</sub> simple n'ont été utilisées que jusqu'au troisième jour (J<sub>2</sub>) de conservation, car au-delà nous savions qu'il y a une chute de fertilité (BARITEAU et al., 1977). Celles préparées avec le dilueur BL<sub>1</sub> additionné de catalase ou avec le dilueur Guelph ont été utilisées jusqu'au cinquième jour (J<sub>4</sub>) de conservation. Une seule dose était mise en place par I.A. pour la semence de J<sub>0</sub> et de J<sub>1</sub>. A partir du troisième jour (J<sub>2</sub>) de conservation, les inséminations ont été réalisées avec deux doses par I.A. Les inséminations I.A. premières uniquement ont été réalisées de Mars 1977 à Mai 1978 dans l'ensemble de la zone d'activité du centre de Rouillé par des inséminateurs spécialisés. Les résultats de fertilité sont exprimés en taux de mise-bas et analysés par le test  $\chi^2$  corrigé.

### III. - RÉSULTATS

#### 1) Motilité du sperme

Les résultats présentés dans le Tableau 2 montrent que le dilueur BL<sub>1</sub> additionné de catalase ou le dilueur de Guelph n'améliorent pas significativement le maintien du pourcentage de spermatozoïdes mobiles au cours de la conservation de la semence par rapport au dilueur BL<sub>1</sub> de référence. L'évolution du taux de spermatozoïdes mobiles n'est pas statistiquement différente selon les dilueurs utilisés. La plus forte chute, 50 %, intervient entre le jour de la dilution (J<sub>0</sub>) et le lendemain (J<sub>1</sub>). La quantité de spermatozoïdes encore mobiles au cinquième jour (J<sub>4</sub>) de conservation représente seulement le quart du pourcentage de cellules initialement mobiles.

TABLEAU 2  
EFFET DE DIFFÉRENTS DILUEURS SUR L'ÉVOLUTION DU POURCENTAGE DE SPERMATOZOÏDES MOBILES AU COURS DE LA CONSERVATION DU SPERME DE VERRAT

AGE DE LA SEMENCE (*)	SPERMATOZOÏDES MOBILES (%)			
	BL <sub>1</sub>		BL <sub>1</sub> (5)	Guelph (5)
	Sans catalase (9)	Avec catalase (9)		
J <sub>0</sub>	84,4 ± 1,7	84,4 ± 1,7	—	—
J <sub>1</sub>	41,0 ± 5,6 <sup>1</sup>	42,5 ± 4,9	42,0 ± 8,0	48,0 ± 5,8
J <sub>2</sub>	34,4 ± 4,4	36,7 ± 5,6	37,5 ± 7,5	50,0 ± 9,0
J <sub>3</sub>	29,0 ± 5,5	19,5 ± 4,7	20,0 ± 8,9	23,0 ± 6,6
J <sub>4</sub>	21,8 ± 4,7	16,4 ± 4,6	15,0 ± 9,5	20,0 ± 5,7

(\*) J<sub>0</sub> est le jour de la collecte du sperme

( ) nombre d'observations

#### 2) Fertilité

Les résultats de fertilité indiqués dans le Tableau 3 montrent que la catalase additionnée au dilueur BL<sub>1</sub> n'améliore pas le taux de mise-bas quand la semence est utilisée jusqu'au troisième jour (J<sub>2</sub>) de conservation. Aux troisième (J<sub>2</sub>) et quatrième jours (J<sub>3</sub>) les taux de mise-bas ne sont pas significativement différents. Cependant la tendance à une baisse de la fécondance, qui apparaît en J<sub>3</sub>, se confirme avec les résultats enregistrés après l'utilisation de la semence en J<sub>4</sub> : le taux de réussite a fortement chuté pour devenir significativement inférieur ( $P \leq 0,05$ ) à celui obtenu en J<sub>2</sub>. On ne note pas de différence significatives pour la prolificité, bien qu'une légère baisse apparaisse avec la semence conservée jusqu'en J<sub>4</sub> que l'on peut relier à la chute de fertilité de cette semence.

**TABEAU 3**  
EFFET DE L'ADDITION DE CATALASE DANS LE DILUEUR BL<sub>1</sub> SUR LA CONSERVATION DU POUVOIR FÉCONDANT  
DU SPERME DE VERRAT ET LA TAILLE DES PORTÉES RÉSULTANTES

AGE DU SPERME (*)	NOMBRE DE DOSES/I.A	% DE MISES-BAS		PROLIFICITÉ	
		Sans catalase	Avec catalase	Sans catalase	Avec catalase
J <sub>0</sub>	1	71,1 (45) NS	NS 72,4 (29) NS	10,6 (32)	10,2 (21)
J <sub>1</sub>	1	77,6 (67) NS	NS 61,8 (68) NS	10,4 (52)	10,1 (42)
J <sub>2</sub>	2	70,8 (41)	NS 69,8 (43) NS	9,5 (29)	10,4 (30)
J <sub>3</sub>	2	—	a 56,6 (53) NS	—	10,2 (30)
J <sub>4</sub>	2	—	27,8 (18)	—	9,2 (5)

(\*) J<sub>0</sub> est le jour de la collecte du sperme

( ) Nb. de truies inséminées pour le taux de Mise-Bas et nombre de truies ayant mis bas pour la prolificité.

(a) Différence significative : P ≤ 0,05.

Pour le dilueur de Guelph les résultats de fertilité sont indiqués dans le Tableau 4. Les taux de mise-bas obtenus avec la semence diluée dans le BL<sub>1</sub> ou dans le Guelph ne sont pas significativement différents jusqu'au troisième jour (J<sub>2</sub>) de conservation de la semence. Avec le dilueur de Guelph, le taux de réussite peut même être maintenu jusqu'au cinquième jour (J<sub>4</sub>) de conservation. Toutefois, il commence à baisser en J<sub>4</sub> avec 53,9 % de mise-bas. Les deux dilueurs permettent d'obtenir une même prolificité jusqu'à trois jours de conservation (J<sub>0</sub> à J<sub>2</sub>). On doit remarquer qu'avec le dilueur de Guelph une baisse de prolificité apparaît en J<sub>3</sub> (8,9 porcelets), principalement due à une baisse de prolificité chez les truies multipares, qui s'accroît au cinquième jour de conservation (J<sub>4</sub>) pour atteindre 6,8 porcelets par portée.

**TABEAU 4**  
EFFET DE DIFFÉRENTS DILUEURS SUR LA CONSERVATION DU POUVOIR FÉCONDANT DU SPERME DE VERRAT  
ET LA TAILLE DES PORTÉES RÉSULTANTES

AGE DU SPERME (*)	NOMBRE DE DOSES/I.A	% DE MISE-BAS		PROLIFICITÉ	
		BL <sub>1</sub>	Guelph	BL <sub>1</sub>	Guelph
J <sub>0</sub>	1	59,1 (22) NS	NS 66,6 (30) NS	12,1 (13)	10,4 (20)
J <sub>1</sub>	1	70,5 (44) NS	NS 75,5 (53) NS	10,5 (31)	10,3 (40)
J <sub>2</sub>	2	54,2 (24)	NS 63,2 (38) NS	9,8 (13)	11,2 (24)
J <sub>3</sub>	2	—	76,9 (26) NS	—	8,9 (20)
J <sub>4</sub>	2	—	53,9 (13)	—	6,8 (7)

(\*) J<sub>0</sub> est le jour de la collecte du sperme

( ) Nb. de truies inséminées pour le taux de Mise-Bas et nombre de truies ayant mis-bas pour la prolificité.

#### IV. - DISCUSSION

Dans cette étude le dilueur BL<sub>1</sub> additionné de catalase ainsi que le dilueur de Guelph ne permettent pas d'améliorer le pourcentage de spermatozoïdes mobiles au cours de la conservation prolongée de la semence à 15° C par rapport au dilueur BL<sub>1</sub> de référence. Pour la catalase, ces résultats ne confirment pas ceux d'IGBOELI (1970) et DEDE et STEINBACH (1976). Un effet bénéfique de l'enzyme pouvait être espéré car il élimine les peroxydes formés par action d'une oxydase des spermatozoïdes morts sur les composés du milieu environnant (SHANNON et CURSON, 1972). Or les peroxydes sont toxiques vis à vis des spermatozoïdes vivants. En réalité cet effet toxique est considérablement accru par la présence de jaune d'œuf dans le milieu (SHANNON et CURSON, 1972) ; c'est probablement la raison pour laquelle la catalase est efficace dans les dilueurs d'IGBOELI (1970) et DEDE et STEINBACH (1976) qui contiennent 20 % de jaune d'œuf alors qu'elle n'a pas d'effet dans le BL<sub>1</sub> qui ne contient pas de jaune d'œuf. La catalase n'améliore donc pas les capacités de protection du dilueur BL<sub>1</sub>. Le taux de 56,6 % de mise-bas observé avec la semence conservée jusqu'en J<sub>3</sub> est d'ailleurs très comparable à celui observé antérieurement avec le BL<sub>1</sub> seul (53,8 % BARITEAU et al., 1977), il est trop faible d'un point de vue pratique d'élevage.

L'utilisation de la catalase dans un dilueur sans jaune d'œuf ne permet donc pas d'augmenter la durée de conservation du pouvoir fécondant du sperme de verrat.

Après dilution dans le dilueur BL<sub>1</sub> ou le dilueur de Guelph, les résultats de fertilité et prolificité sont identiques jusqu'au troisième jour (J<sub>2</sub>) de conservation. Au quatrième jour (J<sub>3</sub>) les résultats confirment la tendance déjà observée (PAQUIGNON et al., 1978) : la semence conservée dans le dilueur de Guelph peut être utilisée sans baisse de fertilité (76,9 % de mise-bas) une journée de plus que celle diluée dans le BL<sub>1</sub>. A partir de J<sub>4</sub> la fertilité n'est plus suffisante d'un point de vue pratique. Il convient cependant de rester prudent et de confirmer les résultats que nous venons de présenter avec l'utilisation du dilueur de Guelph. En effet, au-delà de J<sub>2</sub> nous observons une baisse de prolificité, principalement dues aux truies multipares, et qui s'accroît en J<sub>4</sub>. Nous ne savons pas ce qui dans le dilueur de Guelph permet de mieux maintenir le pouvoir fécondant des spermatozoïdes, mais déjà leur survie au cours de la conservation avait tendance à être légèrement supérieure à celle observée dans le dilueur BL<sub>1</sub> (Tableau 2). Outre sa teneur élevée en glucose le dilueur de Guelph se caractérise notamment par une diminution de la concentration en sodium et par une augmentation de la pression osmotique.

Ces résultats ont été obtenus avec un nombre relativement faible de truies par dilueur et par jour de conservation. Il convient donc de poursuivre l'expérimentation avec le dilueur de Guelph sur un plus grand nombre d'animaux pour confirmer ou infirmer ces premiers résultats.

#### V. - CONCLUSION

D'un point de vue pratique, la catalase ajoutée au dilueur BL<sub>1</sub> n'améliore pas la durée de conservation de la semence ni son pouvoir fécondant.

Le dilueur de Guelph semble susceptible de préserver le pouvoir fécondant des spermatozoïdes de verrat un jour de plus que le BL<sub>1</sub>. Ce travail mérite donc d'être poursuivi sur un plus grand nombre d'animaux en portant une attention toute particulière sur la taille des portées ainsi engendrées.

#### VI. - REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé en partie grâce à une aide du F.O.R.M.A. versée au titre d'une convention entre l'I.N.R.A. et l'I.T.P. pour l'insémination artificielle porcine.

**BIBLIOGRAPHIE**

- BARITEAU F., BUSSIERE J., COUROT M., 1977 - Journées Recherche Porcine en France, 11-14.
- DEDE T., STEINBACH J., 1976 - Cong. Int. Reprod. Anim. Insem. Artif. Krakov., 4, 984-986.
- HAEGER O., MACKLE N., 1971 - Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 395-397.
- IGBOELI G., 1970 - J. Anim. Sci. 30, 569-572.
- PAQUIGNON M., MARTINAT-BOTTE F., BARITEAU F., BOSC M.J., COUROT M., MAULEON P., SIGNORET J.P., 1978 - Journées Rech. Porcine en France, 63-92.
- REED H., 1976 - Communication personnelle.
- SHANNON P., CURSON B., 1972 - J. Dairy Sci. 5, 614-620.