

## CONSERVATION PROLONGÉE DU SPERME FRAIS DE VERRAT

### Dilueur JYP - fertilité et prolificité des truies

R. TONIOLLI (1,3), F. BARITEAU (2), J. BUSSIÈRE (2), M. COUROT (1), Y. COMBARNOUS (1)

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

(2) I.N.R.A. Station Expérimentale d'Insémination Artificielle - 86640 Rouillé

(3) CNPq-UECE, Faculté Vétérinaire - Fortaleza, 60.750-150, Brésil

Dans ce travail, nous avons testé *in vivo* l'effet, sur la conservation du sperme de verrat, de l'addition d'un composé, JYP, dans le dilueur de référence en usage chez le porc (BTS). Chaque éjaculat a été partagé et dilué ( $35 \times 10^6$  spz/ml) d'une part dans le dilueur témoin (BTS) et d'autre part dans le dilueur additionné de JYP à la concentration de 10 ng/ml final pour être utilisés le jour de la recolte (J0) et 5 jours plus tard (J5). Deux inséminations sont pratiquées par femelle et par chaleur réparties en cinq lots expérimentaux: 1 = BTS (témoin), J0 dose simple; 2 = BTS + JYP, J0 dose simple; 3 = BTS + JYP, J5 dose simple; 4 = BTS + JYP, J5 dose double; 5 = BTS, J5 dose double. Les paramètres étudiés sont la fertilité (% de mise-bas) et la prolificité (nés totaux par portée et nés vivants par portée). L'addition de JYP (10 ng/ml) au BTS a maintenu le taux de fertilité à cinq jours de conservation (dose simple) à une valeur moyenne supérieure à celle du témoin à J0 (81,8% vs 78,4%, NS). A J0 la valeur moyenne de mise-bas pour le BTS est supérieure à celle du JYP (78,4% vs 72,7%, NS) mais à J5 avec la dose double ( $6 \times 10^9$  spz totaux) les valeurs ont été semblables (78,9% vs 78,8%, NS). Les résultats de prolificité (nés vivants/portée) ne sont pas différents pour les cinq lots. Avec le JYP on peut donc, sans risque apparent, utiliser des doses simples de semence de verrat conservées jusqu'à J5.

#### **Prolonged preservation of fresh boar semen : Extender JYP - fertility and prolificacy**

The importance of boar semen preservation for several days without a decrease in fertility facilitates the development of artificial insemination in sows. In this study we tested the *in vivo* effect of adding JYP to the normal reference extender used in the porcine (BTS). Split ejaculates of several boars were diluted ( $35 \times 10^6$  spz/ml) with either BTS as control extender or with JYP added to BTS (final concentration 10 ng/ml). They were used either on D0 or D5 according to the following protocol. Each insemination dose had a total of  $3 \times 10^9$  spz in 90 ml of solution. Each female received 2 A.I. doses per heat period. The experimental groups were : 1 = BTS (control), day 0, single dose; 2 = BTS + JYP, day, 0 single dose; 3 = BTS + JYP, day 5, single dose; 4 = BTS + JYP, day 5, double dose; 5 = BTS, day 5, double dose. The parameters studied were the fertility (% farrowing) and the prolificacy (total piglets per female and live births per female). The addition of JYP (10 ng/ml) to BTS maintains the rate of fertility until day 5 with an average value superior to that of the control D0 (81.8% vs 78.4%, NS). At day 0 the average birth rate was better with BTS than that with JYP (78.4% vs 72.7%, NS) and at day 5 with double the concentration dose ( $6 \times 10^9$  spz) the values were similar between BTS and BTS + JYP (78.9% vs 78.8%, NS). The prolificacy (live births per female) was similar in each of the five different groups. It seems that one may store boar semen until day 5 after collection without a decrease in fertility when JYP is added to BTS extender.

## INTRODUCTION

Le développement d'une technique simple et fiable pour la préparation et l'utilisation de la semence de verrat et sa conservation pendant un temps suffisant sans perte de pouvoir fécondant a été soulignée (BARITEAU *et al.*, 1977). La conservation prolongée du sperme de verrat au-delà de 2 jours, devra permettre un certain développement de l'insémination artificielle porcine (PAQUIGNON *et al.*, 1980). Pour cela les dilueurs jouent un rôle essentiel (PAQUIGNON *et al.*, 1982; WEITZE, 1990).

Dans la technologie de conduite en bande pour féconder un grand nombre de truies sur une période de quelques jours, le développement de cette pratique dépend de l'efficacité de la technologie de conservation de la semence pour maintenir un bon pouvoir fécondant et des facilités de son utilisation (BARITEAU *et al.*, 1984).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'addition du composé JYP (NUNES *et al.*, 1994) sur la fertilité et la prolificité de truies inséminées avec la semence ainsi traitée et utilisée le jour de la récolte (J0) et 5 jours plus tard (J5).

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Animaux et semence

Les mâles utilisés dans ce travail se trouvent en service régulier (1 éjaculat par semaine en moyenne) à la Station Expérimentale d'Insémination Artificielle de Rouillé (INRA-SEIA). Tous les éjaculats présentaient les caractéristiques (volume, concentration et qualité) normalement exigées pour leur usage en insémination artificielle.

### 1.2. Traitement des éjaculats

Dès la collecte et les contrôles de qualité, chaque éjaculat est partagé pour qu'une fraction soit diluée avec chacun des dilueurs (BTS témoin, BTS plus JYP) à deux concentrations finales différentes ( $35$  et  $70 \times 10^6$  spz/ml) dans un volume de 90 ml qui correspond à une dose d'insémination (dose «simple» ou dose «double» selon la concentration). Le JYP est ajouté au BTS à la concentration de 10 ng/ml final.

### 1.3. Lots expérimentaux

Les doses de chaque éjaculat sont réparties pour être utili-

sées selon la technique des «éjaculats partagés» dans 5 lots expérimentaux :

1. BTS - I.A. en J0 dose simple =  $3 \times 10^9$  spz/l.A.
2. BTS + JYP - I.A. en J0 dose simple =  $3 \times 10^9$  spz/l.A.
3. BTS + JYP - I.A. en J5 dose simple =  $3 \times 10^9$  spz/l.A.
4. BTS + JYP - I.A. en J5 dose double =  $6 \times 10^9$  spz/l.A.
5. BTS - I.A. en J5 dose double =  $6 \times 10^9$  spz/l.A.

Les truies utilisées sont multipares pour la plupart d'entr'elles. Les inséminations se font en double (le jour désigné et le lendemain). Les paramètres de fertilité sont exprimés en pourcentage de mise-bas et la prolificité par le nombre total de porcelets nés par portée et par celui des porcelets nés vivants.

### 1.4. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés par les moyennes et les écarts-types pour chaque traitement. Les différences entre moyennes ont été analysées par le test t de Student (portée moyenne par femelle) ou par le test de  $\chi^2$  en appliquant la correction de Yates (pourcentage de mise-bas).

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. Effet sur la fertilité (tableau 1)

Les résultats obtenus avec l'adjonction de JYP dans le dilueur BTS montrent une légère supériorité non significative du pourcentage de mise-bas à J5 par rapport à ceux du dilueur témoin soit à J0 ou à J5 (81,8% vs 78,4% et 78,8%, NS), indépendamment de la dose utilisée avec le dilueur témoin (simple ou double). La fertilité à J0 est légèrement supérieure pour le BTS par rapport au BTS + JYP (78,4% vs 72,7%, NS). Après 5 jours de conservation, la dose double de spermatozoïdes ( $6 \times 10^9$  spz) donne les mêmes résultats de mise-bas pour le BTS ou le BTS + JYP (78,8% vs 78,9%).

### 2.2. Effet sur la prolificité (tableau 1)

Le nombre de porcelets nés totaux par portée est semblable dans tous les lots. Il n'y a pas non plus de différences statistiquement significatives pour le nombre de porcelets nés vivants par portée. L'adjonction de JYP au dilueur BTS n'a donc pas d'influence sur cette caractéristique de la reproduction porcine.

**Tableau 1** - Fertilité et prolificité des truies inséminées avec le JYP additionné au dilueur BTS et conservé entre 15-18°C jusqu'à 5 jours (m  $\pm$  sd).

LOTS	Âge du sperme <sup>(1)</sup>	Fertilité		Prolificité	
		Nombre Truies I.A.	Mise-bas (%)	Nés (Total/portée)	Vivants (Total/portée)
BTS, S <sup>(2)</sup>	J0	97	78,4	11,1 $\pm$ 3,0	10,8 $\pm$ 2,9
BTS + JYP, S <sup>(2)</sup>	J0	99	72,7	11,6 $\pm$ 3,1	11,1 $\pm$ 3,1
BTS + JYP, S <sup>(2)</sup>	J5	121	81,8	11,3 $\pm$ 3,5	10,7 $\pm$ 3,2
BTS + JTP, D <sup>(3)</sup>	J5	114	78,9	11,7 $\pm$ 3,1	11,1 $\pm$ 2,9
BTS, D <sup>(3)</sup>	J5	85	78,8	11,3 $\pm$ 3,3	10,7 $\pm$ 2,9

Les différences des moyennes entre lots pour chaque paramètre ne sont pas statistiquement significatives ( $P < 0,05$ ).

(<sup>1</sup>) J0 est le jour de la collecte du sperme. (<sup>2</sup>) dose simple ( $3 \times 10^9$  spz, à chaque I.A.). (<sup>3</sup>) dose double ( $6 \times 10^9$  spz, à chaque I.A.).

### 3. DISCUSSION

La recherche de conditions de stockage prolongé pour la semence de verrat sans perte de son pouvoir fécondant, a fait l'objet de nombreux travaux (BARITEAU *et al.*, 1977 ; PAQUIGNON *et al.*, 1987 et 1988; SLAWETA *et al.*, 1981 ; CHENG, 1988; GALLI et BOSISIO, 1988; RILLO *et al.*, 1991 ; SONE *et al.*, 1992). Chez les porcins, le dilueur le plus répandu dans le monde est le BTS. Cependant, il apparaît que le troisième jour après la récolte représente une limite pratique d'utilisation de la semence au-delà de laquelle on observe une baisse des niveaux de fertilité et de prolificité qui deviennent trop faibles pour la pratique de l'élevage (PAQUIGNON *et al.*, 1982 et 1987; BARITEAU *et al.*, 1977 ; STRZEZEK *et al.*, 1979; GALLI et BOSISIO, 1988; REVELL et GLOSSOP, 1989; BHUYAN *et al.* 1992 ; SONE *et al.*, 1992). Le présent travail suggère qu'il pourrait être possible d'utiliser la semence porcine après le troisième jour de conservation tout en maintenant des résultats de fertilité et de prolificité acceptables. Déjà en 1991 nous avons montré l'effet bénéfique de l'eau de coco pour la dilution du sperme de verrat (TONIOLLI, 1991). A partir de ces résultats nous avons recherché si le produit actif (JYP) qu'elle contient était également efficace sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes de verrat, lorsqu'on l'ajoutait seul au dilueur BTS. Ce produit avait montré *in vitro* une stimulation des paramètres de mobilité et de morphologie des spermatozoïdes de verrat (TONIOLLI *et al.*, 1994).

Dans les conditions normales d'utilisation, une chute du pouvoir fécondant de la semence porcine fraîche ne peut être évitée (WABERSKI *et al.*, 1992), cependant, avec l'addition de JYP au dilueur BTS nous pouvons maintenir un niveau de fertilité (81,8%) et de prolificité (10,7 porcelets vivants par portée) convenables en utilisant des doses simples ( $3 \times 10^9$ ) d'une semence stockée pendant 5 jours entre 15-18°C. Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par plusieurs auteurs

(WABERSKI *et al.*, 1992 ; JOHNSON *et al.*, 1982 et 1988 ; MACHATY *et al.*, 1992; WEITZE, 1990); la semence qu'ils utilisent, est aussi stockée entre 3 et 5 jours. Leurs résultats de fertilité et de prolificité n'ont en effet pas dépassé les valeurs moyennes de 69,2% et 9,3 porcelets par portée. Les dilueurs BL-1 (PURSEL *et al.*, 1973) et Guelph (HAEGER et MACKLE, 1971) permettent de conserver la semence sans baisse de son pouvoir fécondant jusqu'aux 2<sup>è</sup> et 3<sup>è</sup> jours après la récolte (BARITEAU *et al.*, 1977 ; PAQUIGNON *et al.*, 1980), au-delà l'efficacité de ces dilueurs peut être prolongée d'un jour supplémentaire (J4) à la condition d'utiliser une dose double pour l'insémination. MACHATY *et al.* (1992) en utilisant le BTS comme dilueur et des doses de  $5 \times 10^9$  ont obtenu un taux de mise-bas de 74,5% et une prolificité de 9,5 porcelets par portée après 4 jours de conservation de la semence.

JOHNSON *et al.* (1988) ont montré que l'utilisation de la semence porcine dépend de la possibilité du dilueur à induire un métabolisme optimum facilitant leur stockage. Il semble que le dilueur que nous présentons ait cette propriété.

### CONCLUSION

En conclusion, ce travail permet d'envisager l'insémination artificielle porcine avec la semence conservée jusqu'à 5 jours après la récolte, avec l'addition de JYP au dilueur BTS sans qu'il soit nécessaire de doubler la concentration spermatique de la dose d'insémination.

### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient G. BERTAUD, technicien au Laboratoire de Reproduction Porcine, et les inséminateurs de la SEIA (INRA, Rouillé) pour leur contribution technique à cette étude.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARITEAU F., BUSSIÈRE J., COUROT M., 1977. Journées Rech. Porcine en France, 9, 11-14.
- BARITEAU F., BUSSIÈRE J., COUROT M., PAQUIGNON M., 1984. Journées Rech. Porcine en France, 16, 173-180.
- BHUYAN D., BORGHAIN B.N., AHAMED K., DEKA B.C., 1992. Indian J Reprod 13, 41-43.
- CHENG W.T.K., 1988. J Chinese Soc Vet Sci, 14, 339-350.
- GALLI A., BOSISIO M., 1988. Theriogenology, 30, 1185-1189.
- HAEGER O., MACKLE N., 1971. Dtsch. Tierärztl., 78, 395-397.
- JOHNSON L.A., AALBERS J.G., WILLEMS C.M.T., RADEMAKER J.H.M., REXROAD JR C.E., 1982. J. Anim.; Sci., 54, 132-136.
- JOHNSON L.A., AALBERS J.G., GROOTEN J.J.G., 1988. Zuchthyg, 23, 49-55.
- MACHATY Z., TAKACS T., GATHY I., 1992. Anim. Reprod. Sci., 29, 289-295.
- NUNES J.F., COMBARNOUS Y., LECLERCQ P., 1994. Demande de brevet en cours.
- PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F., LE MAIGNAN DE KERANGAT G.,
- COUROT M., 1980. Journées Rech. Porcine en France, 12, 157-160.
- PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F., DACHEUX J.L., COUROT M., 1982. Journées Rech. Porcine en France, 14, 85-90.
- PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F., 1987. Journées Rech. Porc. en France, 19, 63-78.
- PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F., 1988. INRA Prod Anim, 1, 271-280
- PURSEL V.G., JOHNSON A., SCHULMAN L.L., 1973. J. Anim. Sci., 37, 532-535.
- REVELL S.G., GLOSSOP C.E., 1989. Anim. Prod., 48, 579-584.
- RILLO M.S., SANCHEZ R., GARENA CASADO P., 1991. Proceeding of 2<sup>nd</sup> International Conference on Boar Semen Preservation, 26, 321-324.
- SLAWETA R., SIKORSKAL J., STRZEZEK J., 1981. Medycyna Weterynaryja, 37, 687-690.
- SONE M., CHIKYU M., YOSHIDA M., BAMBA K., OGASA A., 1992. Jap J Swine Sci, 29, 41-50.
- STRZEZEK J., MIGIELSK J., LIMINOXICZ J., CZECZOT H., GLOGOWSKI J., 1979. Wojewódzki Zakład Weterynarii, 153-162.
- TONIOLLI R., 1991. Rev. Bras. Reprod. An., 15, 133-137.
- TONIOLLI R., BUSSIÈRE J., COUROT M., COMBARNOUS Y., 1994. 33<sup>ème</sup> Réunion de la Société pour l'Etude de la Fertilité, résumé du poster n° 3.
- WABERSKI D., MEDING S., DIRKSEN G., WEITZE K.F., LEIDING C., WILLMEN T., 1992. Proceeding of 12<sup>th</sup> International Congress of Animal Reproduction, 23-27.
- WEITZE K.F., 1990. Pig News and Information, 11, 23-26.