

Suppléments vitaminiques et performances de reproduction chez le verrat.

Isabelle Audet (1), Jean-Paul Laforest (2), Guy-Pierre Martineau (3) et Jean-Jacques Matte (1)

(1) Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de R & D sur le Bovin Laitier et le Porc, CP 90, Lennoxville, Québec, J1M 1Z3, Canada

(2) Département des Sciences Animales, Université Laval, Québec, Canada

(3) École Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France

Avec la collaboration technique de Michelle Guillette et A. Giguère (1)

Suppléments vitaminiques et performances de reproduction chez les verrats.

Les effets de suppléments vitaminiques sur le statut vitaminique, la libido et la production spermatique ont été étudiés sur 60 jeunes verrats soumis à une récolte normale (3x / 2 sem) et intensive (journalière pendant 14 jours). Les traitements vitaminiques suivants ont été donnés : (T) aliment de base pour les vitamines et les minéraux (formulation commerciale pour verrats) ; (T+C) aliment T supplémenté de vitamine C ; (T+ADEK) aliment T supplémenté de vitamines liposolubles ; (T+B) aliment T supplémenté de vitamines hydrosolubles. Des mesures de quantités et de qualités spermatiques ont été prises ainsi que de la libido. Des échantillons de sang et de plasma séminal ont été recueillis afin d'en évaluer le statut en vitamines. Durant la récolte intensive, la production spermatique a été plus élevée pour les verrats supplémentés dans les groupes T+B et T+ADEK. Suite à cette récolte, la qualité de la semence a été maintenue pour ces mêmes traitements. La morphologie des spermatozoïdes, ainsi que la libido des verrats, n'ont pas été affectées par les traitements. Des concentrations élevées en B6 et en acide folique ont été observées dans le plasma sanguin des verrats T+B alors que des concentrations élevées en vitamine E ont été mesurées pour les verrats T+ADEK. Pour le plasma séminal, une augmentation de l'acide folique a été notée. En conclusion, en dépit d'un transfert limité des vitamines du sang vers le plasma séminal, des suppléments vitaminiques hydrosolubles et liposolubles semblent augmenter la production de la semence en réponse à une condition de stress telle qu'une récolte intensive.

Vitamin supplements and reproductive performance in boars.

The effects of dietary supplements of vitamins, on vitamin status, libido and semen characteristics were evaluated in 60 young boars under normal (3 times every 2 weeks) and intensive (daily during 2 weeks) semen collections. The following diets were given: (B) basal diet (commercial formulation for boars) for minerals and vitamins ; (B+C) B diet supplemented with vitamin C ; (B+F) B diet supplemented with fat-soluble vitamins ; (B+W) B diet supplemented with water-soluble vitamins. Sperm quality and quantity were recorded as well as boar libido, on all animals. Blood and seminal plasma samples were taken during this experiment to monitor vitamin status. Semen production was higher during the intensive collection period, for boars in the B+W and B+F groups. After this period, semen quality was maintained for these treatments. Sperm morphology and libido were not affected by treatments. High concentrations of B6 and folic acid were observed in blood plasma of B+W boars while higher concentrations of vitamin E were obtained in B+F boars. In the seminal plasma, an increase in folic acid concentrations was noted in B+W boars. In conclusion, in spite of a limited transfer from blood to seminal plasma, dietary supplements of water-soluble and fat-soluble vitamins appear to increase semen production in response to stress conditions such as an intensive semen collection.

INTRODUCTION

On considère généralement qu'un aliment pour truies gravides est suffisant pour combler les besoins nutritionnels des verrats reproducteurs. Étant donné la restriction sévère imposée aux verrats (correspondant tout au plus à 50% du niveau d'ingestion à volonté), il est possible que l'apport en certains nutriments mineurs comme les vitamines ne soit pas adéquat pour assurer des performances de reproduction optimales.

L'intérêt limité pour les besoins nutritionnels du verrat est probablement lié aux pratiques d'élevage des décennies antérieures. En effet, dans un contexte de saillie naturelle, la libido et la qualité des membres sont des critères bien plus importants à considérer que la production spermatique car un éjaculat de verrat peut contenir de 5 à 20 fois plus de spermatozoïdes que ce qui est nécessaire pour assurer la fécondation de tous les ovules.

Alors qu'en situation de saillie naturelle l'importance de l'alimentation du verrat est plutôt marginale, son impact en insémination revêt un tout autre intérêt. En effet, en centre d'insémination, outre la libido et la qualité des membres, la quantité ainsi que la qualité spermatique deviennent primordiales, non seulement pour la dissémination à plus grande échelle du potentiel génétique supérieur de ces animaux sélectionnés, mais également pour réduire les coûts de production des doses de semence. Comme l'insémination représente maintenant plus de 80% des saillies faites au Québec, ainsi que dans la grande majorité des régions productrices de porc, il est très important de pouvoir répondre aux besoins nutritionnels spécifiques des verrats afin de s'assurer de performances reproductives optimales tant au niveau de la libido et de la production spermatique que de la capacité fécondante de la semence.

L'objectif de cette étude exploratoire est donc de déterminer les effets de suppléments alimentaires importants de vitamines liposolubles, hydrosolubles et de vitamine C sur les caractéristiques de la semence et la libido chez de jeunes verrats soumis à une récolte normale et intensive.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Animaux et traitements

Dans cette expérience, 60 verrats de race Duroc, Landrace ou Yorkshire ont été utilisés. Ils ont été répartis en 5 répétitions de 12 verrats. Un groupe de verrats a reçu un aliment de base (T) contenant un supplément vitaminique correspondant au niveau moyen de l'industrie (BASF, 1993). Un deuxième groupe (T+C) a reçu l'aliment T additionné de vitamine C (1 g par jour), un troisième groupe (T+ADEK), l'aliment T additionné de vitamines liposolubles (A, E et K équivalent à 5xT et D à 3xT) et enfin un quatrième groupe (T+B), l'aliment T additionné de vitamines hydrosolubles (niacine, acide pantothénique, acide folique, biotine, B₁, B₂, B₆ et B₁₂ équivalent à 10xT). La quantité d'aliment servie aux verrats a été fixée à 3 kg/jour.

Les verrats ont été assignés à leur traitement vitaminique selon leur âge et leur poids. Après une période d'adaptation

de 1 mois, les verrats ont été entraînés à la monte durant une période d'environ 2 mois et ceux ayant une faible libido ont été éliminés à la fin de cette période. Donc 40 verrats ont poursuivi l'expérience et ont été récoltés à une fréquence de 3 fois par quinzaine (normes suivies dans les centres d'insémination) jusqu'à l'obtention de 8 éjaculats par verrat (5 semaines). Cette période a été désignée comme période de récolte régulière. Par la suite, les verrats ont été récoltés de façon intensive (récolte journalière) pendant 2 semaines et une période de récupération a suivi pendant 10 semaines durant lesquelles les verrats étaient récoltés à une fréquence de 3 fois par quinzaine pour un total de 15 éjaculats sur cette période.

Pour toutes les récoltes, la libido a été évaluée comme décrit précédemment par LOUIS et al. (1994). 2 mesures ont été prises : 1) le temps entre l'entrée du verrat dans le parc de récolte et la monte sur le mannequin et le début de l'éjaculation ; 2) la durée de l'éjaculation. Des mesures de quantités spermatiques (concentration spermatique, volume et nombre de doses produites à raison de 3x10⁹ spermatozoïdes/85 ml) ont été prises pendant la durée de l'expérience. Des mesures de qualité spermatique (% de motilité des spermatozoïdes et % de spermatozoïdes anormaux) et de conservation ont également été faites durant la période de récolte régulière et la période de récupération. Pour la conservation, l'évolution de la qualité de la semence a été évaluée sur une période de 7 jours.

1.2. Échantillons

Des prélèvements sanguins (Vacutainer® à la veine jugulaire) ont été réalisés sur les animaux durant l'expérience afin d'évaluer les concentrations en vitamine C ainsi qu'en vitamines liposolubles et hydrosolubles qui étaient incluses dans les suppléments vitaminiques. Les échantillons ont été recueillis au début de l'expérience, avant l'attribution des traitements (semaine=0), avant et après la récolte intensive (semaine=20 et 22) et à la fin de la période de récupération (semaine=34). Les échantillons de plasma séminal ont été recueillis aux mêmes moments que les échantillons de sang, exception faite de celui effectué avant l'attribution des traitements, les verrats n'étant pas encore entraînés à la monte.

1.3. Analyses des vitamines

Les vitamines ont été mesurées dans le plasma sanguin ainsi que dans le plasma séminal. Les concentrations en vitamines hydrosolubles B₂, B₆, B₉ et B₁₂ ont été déterminées ainsi que celles de la vitamine C et de la vitamine liposoluble E.

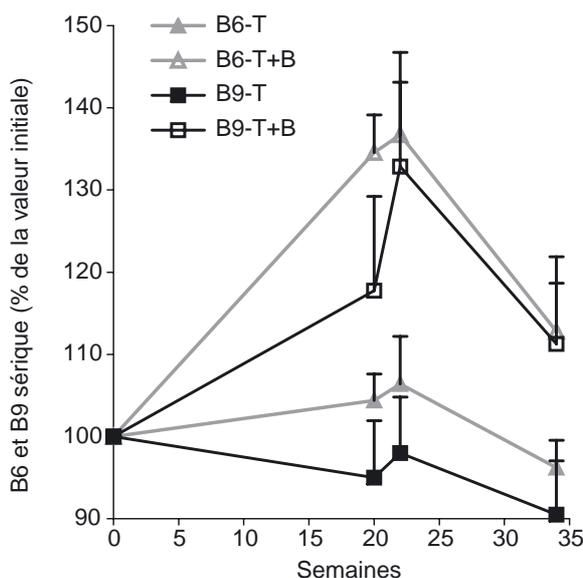
L'acide folique a été mesuré à l'aide de trousse radio isotopiques (Quantaphase Folate, Bio-Rad Laboratories Ltd, Mississauga, ON) contenant l'acide ¹²⁵I-pteroylglutamique et selon la méthode décrite par TREMBLAY et al. (1986). La vitamine B12 a également été mesurée à l'aide de trousse radio-isotopiques (Quantaphase B₁₂, Bio-Rad Laboratories Ltd, Mississauga, ON) contenant le ⁵⁷Co-cyanocobalamine, selon la méthode de BILODEAU et al. (1989). L'acide ascorbique a été mesuré dans les échantillons par une méthode fluorimétrique décrite par BRUDACHER et VUILLEUMIER

Tableau 1 - Composition vitaminique moyenne du plasma séminal de jeunes verrats récoltés régulièrement, sans égard aux traitements alimentaires subits.

Vitamines	Concentrations	Quantités par éjaculat
Riboflavine (B2)	121,8 pmol / ml	54,2 nmol
Pyridoxine (B6)	2,2 nmol / ml	475,1 nmol
Folates (B9)	1,8 ng / ml	374,1 ng
Cyano-cobalamine (B12)	5157,5 pg / ml	1117 ng
Vitamine C	53,7 ug / ml	11,3 mg
Vitamine E	0	0

(1974). Les concentrations de pyridoxal-5-phosphate ont été mesurées selon une méthode fluorimétrique adaptée (MATTE et al., 1997) de SRIVASTAVA et BEUTLER (1973). Le statut en riboflavine a été estimé selon une méthode HPLC, à partir d'une modification des méthodes de ZEMPLENI (1995) et SCHUEP et al. (1988). L'évaluation de la vitamine E a également été faite sur HPLC selon une modification des méthodes décrites par BIERI et al. (1979) et DRISKELL et al. (1982). Les méthodes HPLC ont été validées dans nos laboratoires tant pour le plasma sanguin que le plasma séminal. Les autres méthodes ont été validées dans nos laboratoires pour le plasma séminal. Les coefficients de variation intra- et inter-essais étaient respectivement inférieurs à 5,18% et 8,52% et les essais de recouvrement se situaient entre 94,3% et 102,8%.

Figure 1 - Evolution des concentrations en pyridoxal-5-P et folates sériques selon les traitements vitaminiques.

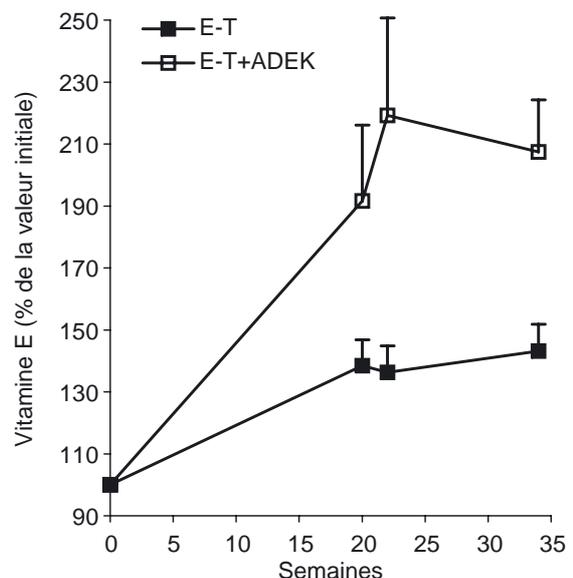


Semaines 0 = attribution traitement ; 20 = fin récolte régulière ;
22 = fin récolte intensive et 34 = fin de l'expérience.
Les valeurs initiales pour B9-T = 63,2 ng/ml ; B9+T = 62,9
ng/ml ; B6-T = 0,676 nmome/ml et B6-T+B = 0,774 nmole/ml

1.4. Analyses statistiques

Comme le nombre d'animaux dans chacune des races était restreint, les analyses statistiques ont été faites sur l'ensemble des animaux, toutes races confondues. Les données ont été analysées en utilisant la procédure « Mixed models » de SAS (LITTELL et al., 1996) selon une disposition au hasard des traitements avec le supplément vitaminique comme principale variable indépendante. Le verrot a été considéré comme l'unité expérimentale. Pour les vitamines dans le plasma sanguin et le plasma séminal, ou encore la production et la qualité spermatique, le moment de l'échantillonnage, ou l'éjaculat, a été ajouté au modèle comme second facteur et l'analyse a été faite en utilisant l'option mesures répétées de la procédure « Mixed models ». Le test de

Figure 2 - Evolution des concentrations en vitamines E sériques selon les traitements vitaminiques.



Les valeurs initiales pour
E-T = 1,8 ug/ml et E-T+ADEK=2,3 ug/ml

Dunnett a été utilisé pour toutes les mesures analysées afin de comparer les données des différents traitements avec celles du témoin. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque $P < 0,05$.

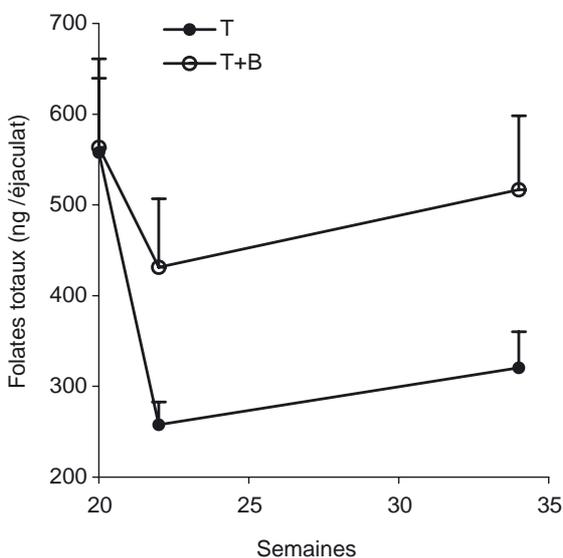
2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Évolution des vitamines sériques et séminales

Une interaction traitement x temps ($P=0,052$) a été observée pour la concentration en folates (figure 1). Pour la B_6 , les concentrations sériques étaient significativement plus élevées chez les verrats T+B comparativement aux T ($P=0,015$) (figure 1). Également, les concentrations sériques de vitamine E étaient significativement plus élevées chez les verrats T+ADEK que chez les T ($P=0,001$) (figure 2). Il n'y a pas eu d'augmentation sérique des vitamines B_2 et B_{12} pour les verrats recevant le traitement enrichi en vitamines hydrosolubles. Finalement, bien que les concentrations sériques de vitamine C soient numériquement plus élevées pour les verrats recevant le traitement T+C, cette différence n'était pas statistiquement significative.

Les vitamines B_2 , B_6 , B_{12} , les folates, la vitamine C et la vitamine E ont également été mesurées dans les échantillons de plasma séminal (tableau 1). La vitamine E (α -tocophérol) n'a pas été détectée dans le plasma séminal. Cette absence d' α -tocophérol dans le plasma séminal est en accord avec les résultats de MARIN-GUZMAN et al. (1997). Cependant, elle ne signifie pas nécessairement un manque de transfert au niveau du système reproducteur puisque l' α -tocophérol est plus élevée dans les testicules et les spermatozoïdes chez des verrats recevant des suppléments de vitamine E (MARIN-GUZMAN et al., 1997). Un supplément alimentaire avec des vitamines ayant un important potentiel antioxydant, telle que la vitamine E, n'apparaît donc pas comme une approche viable pour augmenter les antioxydants du plasma séminal.

Figure 3 - Evolution des folates totaux du plasma séminal (ng/éjaculat) selon les traitements vitaminiques



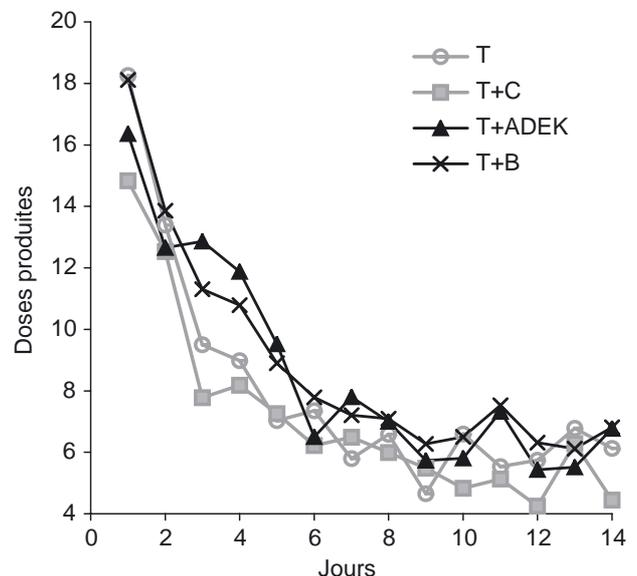
Quant à la vitamine C et aux vitamines hydrosolubles, malgré une augmentation dans le plasma sanguin, aucun effet des traitements T+C et T+B n'a été observé sur les concentrations séminales. Les vitamines ne semblent donc pas être transférées préférentiellement du sérum vers le plasma séminal. La seule exception est la quantité de folates totaux contenus dans le plasma séminal. Ceux-ci étaient plus élevés pour les verrats recevant le traitement T+B comparativement au T ($P=0,006$) (figure 3). Chez l'humain, une corrélation positive a été observée entre les folates sériques et les folates totaux contenus dans le plasma séminal (WALLOCK et al., 2001). Il est aussi bien connu que les folates sont très importants pour les fonctions reproductives chez la truie (MATTE et al., 1984 ; LINDEMANN et KORNEGAY, 1989; et THALER et al., 1989). Cependant, le rôle et les effets des folates du plasma séminal dans la semence des verrats méritent une étude plus poussée.

2.2. Production spermatique

Durant la période de récolte régulière et la période de récupération, aucune différence significative n'a été observée entre les traitements, pour le nombre de doses produites par verrat et par éjaculat. Il faut tout de même mentionner que la production spermatique était numériquement plus importante pour les verrats recevant les traitements T+ADEK et T+B comparativement aux T (respectivement 296, 298 et 286 doses produites au total) pour les 15 éjaculats de la période de récupération.

Pour la période de récolte intensive, durant laquelle les verrats étaient récoltés à tous les jours pendant une période de 14 jours, la production spermatique diminue jusqu'au jour 7 pour ensuite se stabiliser (figure 4). Cette production de base serait une bonne approximation de la spermatogenèse chez ces animaux. Une différence significative dans la production spermatique a été observée pour la moyenne des 14 jours entre le traitement T et le traitement T+B (respectivement 8,04

Figure 4 - Doses produites par verrat durant la récolte intensive en fonction des différents traitements



$\pm 0,45$ et $8,89 \pm 0,41$ doses ; $P=0,059$). Également, la production spermatique avait tendance à être plus élevée pour le traitement T+ADEK ($8,64 \pm 0,49$ doses ; $P=0,101$). L'effet des traitements vitaminiques se faisant davantage sentir en période de récolte intensive, il semble donc que certaines vitamines pourraient avoir un rôle à jouer dans la spermatogenèse chez les verrats.

Chez l'humain, WALLOCK et al. (2001) ont suggéré que les folates pouvaient jouer un rôle important dans les fonctions de reproduction chez le mâle ; ils ont montré une corrélation entre les concentrations en méthyltétrahydrofolate et la production spermatique (concentration et nombre totaux de spermatozoïdes). Chez le verrot, MARIN-GUZMAN et al. (1997) ont montré qu'un supplément de vitamine E pouvait entraîner une augmentation de la concentration et du nombre de spermatozoïdes totaux. Selon COOPER et al. (1987), le rôle de la vitamine E serait relié au contrôle des facteurs intra-testiculaires qui sont responsables des différentes étapes du développement des cellules germinales. Toutefois, il ne faut pas éliminer la possibilité d'un effet antioxydant de cette vitamine sur la spermatogenèse (COOPER et al., 1987) et son action dans la prévention des dommages aux cellules spermatiques (BRZENZINSKA-SLEBODZINSKA et al., 1995 ; MARIN-GUZMAN et al., 1997).

2.3 Qualité spermatique

La qualité spermatique a été évaluée dans la période de récolte régulière et la période de récupération. Pendant la période de récolte régulière, aucun effet de traitement sur la qualité de la semence n'a été obtenu. Par contre, durant la période de récupération, le pourcentage de motilité pour le traitement T+B était significativement plus élevé que pour le témoin soit respectivement $89,1 \pm 0,3$ et $87,0 \pm 0,5$ ($P=0,030$) ; l'effet était moins marqué avec le traitement de T+ADEK ($88,8 \pm 0,3$, $P=0,102$). Ces effets ont été observés en dépit d'une absence de transfert (sauf pour les folates) vers le pool séminal. En fait, l'effet des vitamines hydrosolubles sur la spermatogenèse et sur la motilité suggère une action directe au niveau testiculaire sur la synthèse et/ou la maturation des spermatozoïdes. En ce qui a trait à la vitamine E, MARIN-GUZMAN et al. (1997) ont démontré qu'elle

pouvait protéger le spermatozoïde de dommages morphologiques en liant les endoperoxydes et ainsi préserver non seulement la motilité mais aussi la morphologie des spermatozoïdes. Dans la présente expérience, aucun effet de traitement n'a été observé sur la morphologie des spermatozoïdes.

Pour l'évaluation de la conservation de la semence sur une période de 7 jours, aucun effet de traitement n'a été observé. Cela est probablement lié à l'absence presque généralisée d'un enrichissement du plasma séminal en vitamines connues pour leurs propriétés antioxydantes comme les vitamines C et E.

CONCLUSION

En conclusion, nos résultats montrent que des suppléments alimentaires importants de vitamines liposolubles et hydrosolubles administrés à de jeunes verrats peuvent aider à maintenir la production spermatique et la qualité de la semence en période de stress. Bien que prometteurs, ces résultats restent à être confirmés avec des effectifs d'animaux plus grands.

Les besoins en vitamines des verrats doivent être actualisés compte tenu du fait que les travaux sur le sujet sont relativement rares et anciens et, par conséquent, effectués chez des animaux bien différents de ceux utilisés dans les élevages aujourd'hui. De plus, l'utilisation accrue de l'insémination comme outil préférentiel d'amélioration génétique justifie de s'attarder aux divers éléments nutritionnels qui pourraient bonifier le produit offert, pour le bénéfice de l'ensemble de l'industrie porcine.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier la Fédération des producteurs de porcs du Québec (FPPQ), la Société des éleveurs de porcs du Québec (SEPCQ), le Centre d'insémination porcine du Québec inc. (CIPQ inc), Roche Vitamines Canada inc et le Programme de partage des frais pour l'investissement d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, pour leur support à ce projet.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BASF. 1993. Keeping Current, KC 9305. Vitamin supplementation Rates for U. S. Commercial Poultry, Swine and Dairy Cattle.
- BIERI, J. G., TOLLIVER, T. J., CATIGNANI, G. L. 1979. Am. J. Clin. Nutr. 32, 2143-2149.
- BILODEAU, R., MATTE, J. J., de PASSILLÉ A.-M. B., GIRARD, C. L., BRISSON, G. J. 1989. Can. J. Anim. Sci. 69, 779-788.
- BRUDACHER, G., VUILLEUMIER, J. P. 1974. Clinical Biochemistry principles and methods. Vol II. WalterdeGruyter, Berlin, New-York. pp. 989-997.
- BRZENZINSKA-SLEBODZINSKA, E., SLEBODZINKI, A. B., PIETRAS, B., WIECZOREK, G. 1995. Biol. Tr. Elem. Res. 47, 69-74.
- COOPER, D. R., KLING, O. R., CARPENTER, M. P. 1987. Endocrinology 120 (1), 83-90.
- DRISKELL, W. J., NEESE, J. W., BRYANT, C. C., BASHOR, M. M. 1982. J. Chromato. 231, 439-444.
- LINDEMANN, M. D., KORNEGAY, E. T. 1989. J. Anim. Sci. 67, 459-464.
- LITTELL, R. C., MILIKEN, G. A., STROUP, W. W., WOLFINGER, R. D. 1996. SAS system for mixed models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- LOUIS, G. F., LEWIS, A. J., WELDON, W. C., MILLER, P. S., KITOK, R. J., STROUP, W. W. 1994. J. Anim. Sci. 72, 2038-2050.

- MARIN-GUZMAN, J., MAHAN, D. C., CHUNG, Y. K., PATE, J. L., POPE, W. F. 1997. *J. Anim. Sci.* 75,2994-3003.
- MATTE, J. J., GIRARD, C. L., BRISSON, G. J. 1984. *J. Anim. Sci.* 59, 1020-1025.
- MATTE, J. J., PONTER, A. A., SÈVE, B. 1997. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 663-668.
- SCHUEP, W., STEINER, K. 1988. Determination of vitamin B2 in complete feeds and premixes with HPLC. In: Keller, H. E., *Animal Nutrition and Health*, Roche, Vitamins and fin chemicals division, Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feed, pp. 30-33.
- SRIVASTAVA, S. K., BEUTLER, E. 1973. *Bioch Biophys Acta* 304, 765-773.
- THALER, R. C., NELSEN, J. L., GOODBAND, R. D., ALLEE, G. L. 1989. *J. Anim. Sci.* 67, 3360-3369
- TREMBLAY, G. F., MATTE J. J., LEMIEUX, L., BRISSON, G. J. 1986. *J. Anim. Sci.* 63, 1173-1178.
- WALLOCK, L. M., TAMURA, T., MAYR, C. A., JOHNSTON, K. E., AMES, B. A., JACOB, R. A. 2001. *Fertil. Steril.* 75, 252-259.
- ZEMPLINI, J. 1995. *Ann. Nutr. Metabol.* 39, 224-226.