

Cryopréservation du sperme de verrat : études sur le terrain

Pierre THILMANT

Centre Interprofessionnel pour l'Amélioration et la Promotion animales (C.I.A.P.)
5, Rue St Rémy, B4601, Argenteau, Belgique

pierre.thilmant@prov-liege.be

INTRODUCTION

Afin de simplifier le processus de décongélation du sperme de verrat conditionné en paillettes françaises de 0,5 ml (Thilmant, 1997 ; 1999), l'utilisation de paillettes fines de 0,25 ml a été préconisée (Thilmant, 2001).

Avec la semence fraîche, un nombre élevé de spermatozoïdes (spz) par dose compense la perte de spermatozoïdes féconds au cours du temps. Selon ce raisonnement, l'emploi extemporané de semence décongelée devrait permettre de réduire le nombre de spermatozoïdes par dose. Les objectifs de cette étude ont été de tester cette hypothèse lors d'inséminations (IA) réalisées en deux sites (intra-cervical versus intra-utérin), au moyen de deux volumes d'insémination (100 versus 50 ml). Les avantages respectifs de ces approches sont d'éliminer la barrière cervicale (Watson et Behan, 2002) et de réduire le processus inflammatoire associé à l'injection d'un volume élevé (Matthijs et al., 2003).

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Animaux

210 truies issues de 2 élevages ont été inséminées en double dose de semence décongelée, 5 jours post-sevrage, durant la période d'immobilité, au moyen de 24 éjaculats de 7 verrats Piétrain.

1.2. Protocole de congélation-décongélation de la semence

Chaque éjaculat conditionné en paillettes françaises moyennes (0,5 ml ; $0,72 \times 10^9$ spz/paillette) et fines (0,25 ml ; $0,32 \times 10^9$ spz/paillette) a été congelé suivant la méthode de Thilmant (1997). Lors de la décongélation, les paillettes moyennes ont été immergées 12 secondes dans un bain-marie à 55°C et les fines, une minute à 38°C. Le contenu des paillettes a ensuite été dilué dans un flacon de BTS à 38°C. Les doses ont été utilisées endéans les 30 minutes.

1.3. Sondes d'insémination

Une sonde conventionnelle à bout mousse a permis l'insémination intra-cervicale (IC) ; un autre modèle a servi pour l'IA intra-utérine (IU), à la base des cornes.

1.4. Essais sur le terrain

Trois essais ont été réalisés successivement selon le protocole décrit dans le tableau 1.

1.5. Mesures

La gestation a été contrôlée par échographie 23 à 42 jours après l'insémination permettant de calculer le taux de gestation (i.e. truies gestantes/truies inséminées). Les porcelets nés totaux/portée ont été dénombrés.

2. RÉSULTATS

2.1. Taux de gestation

Les taux de gestation (Tableau 2) n'ont pas été significativement influencés par le type de paillette et le nombre de spermatozoïdes. Ils ont par contre chuté significativement lors de l'insémination en IU ($p < 0,05$) et notamment avec 1×10^9 spermatozoïdes. Il n'y a pas eu de différence entre les 2 volumes testés lors de l'IA en IC, quels que soient le type de paillette et le nombre de spermatozoïdes.

2.2. Taille des portées

Au total, 11 truies ont été écartées de l'étude : 5 réformes (boiterie), 4 avortements et 2 mortalités. Les tailles des portées (Tableau 3) ont été significativement supérieures lors d'insémination en IC avec $3,2$ versus $1,0 \times 10^9$ spz ($p < 0,05$). Globalement, lors d'insémination en IU, la taille des portées a eu tendance à diminuer ($p = 0,08$) par rapport aux résultats obtenus en IC. Une différence significative a été enregistrée entre le lot 3f inséminé en IU et les lots 5m, 10f, 5f et 4f inséminés en IC ($p < 0,05$). Il n'y a pas eu de différence entre les lots inséminés avec 100 ($11,5 \pm 0,2$; 139 mises bas) et 50 ml ($11,0 \pm 0,5$; 33 mises bas) lors de l'insémination en IC, quels que soient le nombre et le type de paillettes.

3. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

En insémination intra-cervicale, le taux de gestation moyen a été supérieur à 86 % quel que soit le nombre de spermatozoïdes/dose et le type de paillettes. Un résultat similaire à celui habituellement enregistré avec la semence fraîche. Avec $1,0 \times 10^9$ spz/dose, le taux de gestation n'a pas été

Tableau 1 - Plan de l'étude

Lots de truies	Essai 1			Essai 2						Essai 3					
	5m	10f	5f	5m	5m	4f	4f	3f	3f	5m	5m	4f	4f	3f	3f
Nombre de truies	22	22	22	13	9	11	11	12	10	13	13	13	13	13	13
Type de paillettes (moyenne=m ; fine=f)	m	f	f	m	m	f	f	f	f	m	m	f	f	f	f
Nbre de pail./dose	5	10	5	5	5	4	4	3	3	5	5	4	4	3	3
Spz/dose IA (n x 10 ⁹)	3,6	3,2	1,6	3,6	3,6	1,3	1,3	1,0	1,0	3,6	3,6	1,3	1,3	1,0	1,0
Site IA	IC	IC	IC	IC	IU	IC	IU	IC	IU	IC	IC	IC	IC	IC	IC
Volume IA (ml)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	50	100	50	100	50

Tableau 2 - Taux de gestation (%)

Site IA	Volume doses (ml)	Lots de truies					Total
		5m	10f	5f	4f	3f	
IC	100 (1)	95,8 (48)	90,9 (22)	86,4 (22)	100 (24)	88,0 (25)	92,9 (141)
	50 (2)	100 (13)	NT	NT	76,9 (13)	84,6 (13)	87,2 (39)
	Moyenne (1)+(2)	96,7 (61)	90,9 (22)	86,4 (22)	91,9 (37)	86,8 (38)	91,7 (180)
	p	n.s.			n.s.	<0,05	<0,05
IU	100	66,7 (9)	NT	NT	63,6 (11)	50,0 (10)	60,0 (30)

NT : non testé ; n.s. : non significatif ($p > 0,05$)

Tableau 3 - Taille des portées

Site IA	Lots de truies					Total
	5m	10f	5f	4f	3f	
IC	11,6 ± 0,4 ^{ab} (56)	12,3 ± 0,6 ^a (20)	11,8 ± 0,7 ^{ab} (17)	11,5 ± 0,5 ^{ab} (32)	10,6 ± 0,5 ^b (31)	11,5 ± 0,2 (156)
IU	10,3 ± 1,2 (6)	NT	NT	11,1 ± 1,1 (7)	7,7 ± 1,6 (3)	10,2 ± 0,7 (16)

Les valeurs présentées sont les moyennes des moindres carrés (nombre de mise bas). Les moyennes présentant un exposant différent sur la même ligne sont significativement différentes ($p < 0,05$) ; NT : non testé

influencé mais la taille de portée a diminué significativement. L'emploi extemporané de la semence après décongélation permettrait donc de travailler avec $1,3 \times 10^9$ spz/dose. En insémination intra-utérine, le taux de gestation a fortement diminué et ce d'autant plus que le nombre de spermatozoïdes a diminué. Cela pourrait s'expliquer par l'absence de plasma séminal dans la semence congelée-décongelée, qui contient une grande quantité de TGF- β 1 (Transforming Growth Factor- β 1), une cytokine inhibant les réactions immunitaires utérines (Lépine et al., 2002). En l'absence d'effet immunodépresseur, toute cause d'inflammation - comme le passage complet de la sonde à travers le cervix -

pourrait induire une mobilisation importante et rapide de polymorphonucléaires neutrophiles et la phagocytose des spermatozoïdes. La réduction du volume d'insémination de 100 à 50 ml n'a pas influencé le taux de gestation ni la taille des portées.

Les bons résultats obtenus sur le terrain et la facilité d'utilisation des paillettes fines ouvrent des perspectives intéressantes. Pour améliorer les résultats d'IA intra-utérine, il faudrait pouvoir limiter les risques de micro-traumas causés par la sonde. Lors d'une prochaine étude, il serait intéressant de tester des volumes d'insémination inférieurs à 50 ml.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Lépine M., Lessard M., Matte J.J., Palin M.F., Laforest J.P., Dilution de la semence porcine : rôle du plasma séminal dans la régulation de la réponse immunitaire utérine et sur les performances de reproduction chez la truie. 2002. Journées Rech. Porcine en France, 34, 283-288.
- Matthijs A., Engel B., Woelders H., 2003. Reproduction, 125, 357-367.
- Thilmant P., 1997. Ann. Méd. Vét., 141, 457-462.
- Thilmant P., 1999. Congélation de sperme de verrat : résultats observés sur le terrain en Belgique pendant les années 1995 et 1996. Journées Rech. Porcine en France, 31, 59-64.
- Thilmant P., 2001. Congélation du sperme de verrat en paillettes fines de 0,25 ml. Résultats observés sur le terrain. Journées Rech. Porcine en France, 33, 151-156.
- Watson P.F., Behan J.R., 2002. Theriogenology, 57, 1683-1693.