

NOTE

FERTILITÉ DES BREBIS TRAITÉES  
AVEC DE L'ACÉTATE DE FLUOROGESTONE  
ET INSÉMINÉES ARTIFICIELLEMENT  
AVEC DU SPERME CONGELÉ :  
RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

G. COLAS\*, G. BRICE\*\*

*\*Station de Physiologie de la Reproduction,  
Centre de Recherches de Tours, 37 - Nouzilly  
Institut national de la Recherche agronomique*

*\*\*I. T. O. V. I. C., 36 rue Fontaine, 75 - Paris 9<sup>e</sup>,*

L'extension des techniques d'insémination artificielle chez les Ovins est liée à la mise au point d'une méthode de conservation du sperme à basse température.

D'importants progrès ont été réalisés dans le domaine de la congélation du sperme de bélier au cours des dernières années. Néanmoins, à l'exception des travaux d'AAMDAL et ANDERSEN (1968), LIGHTFOOT et SALAMON (1970), les pourcentages de mise bas demeurent encore faibles. En outre, on ne possède aucune indication concernant la fertilité des brebis inséminées artificiellement avec du sperme congelé après synchronisation des œstrus par traitement progestatif. Or, cette synchronisation facilite l'utilisation de l'insémination artificielle. Aussi est-ce dans ces conditions que nous avons abordé l'étude de la conservation à basse température des spermatozoïdes de bélier.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

a) *Technologie du sperme*

Aussitôt après examen (motilité  $\geq 4,5/5$ , volume, concentration), le sperme recueilli sur des béliers *Ile-de-France* et *Préalpes* était pré-dilué (1 volume de sperme pur + 2 volumes de dilueur) à la température de + 30°C dans un milieu lactose-jaune d'œuf (NAGASE et GRAHAM, 1964) et mis à refroidir. Deux heures plus tard, lorsque sa température atteignait + 4°C, il était additionné d'un volume identique du même dilueur contenant 10 p. 100 de glycérol. La glycérolisation était effectuée en deux fois, à 20 minutes d'intervalle. Deux heures après la première addition de glycérol, le sperme était conditionné en paillettes de 0,5 ml. Celles-ci étaient placées horizontalement au-dessus du niveau de l'azote liquide pendant sept minutes, puis immergées dans celui-ci.

b) *Contrôle et mise en place du sperme dans les voies génitales des brebis*

Le sperme a été décongelé (+ 38°C pendant 45 secondes) environ 15 jours plus tard. Un contrôle préalable de tous les éjaculats au contraste de phase  $\times 200$  (0,45 ml de sperme décongelé + 1,0 ml de solution isotonique de citrate de sodium) a permis d'observer un pourcentage de spermatozoïdes mobiles compris entre 35 et 58 p. 100.

Les animaux étaient inséminés artificiellement 50 et 60 heures après la fin du traitement progestatif, sans contrôle préalable des chaleurs. Le nombre de spermatozoïdes vivants déposés à l'entrée du col de l'utérus au cours de chaque intervention était au moins égal à  $190 \times 10^6$  spermatozoïdes. Les brebis ont donc reçu un nombre total de spermatozoïdes vivants au moins égal à  $380 \times 10^6$  spermatozoïdes.

c) *Brebis expérimentales*

Cent trente-trois brebis sèches, âgées de 1 à 8 ans, de race *Ile-de-France* et *Préalpes*, ont été traitées à l'acétate de fluorogestone (40 mg) par voie vaginale (ROBINSON, 1965) et inséminées artificiellement pendant l'anœstrus saisonnier (63 ♀) ou pendant la saison sexuelle (70 ♀). Une partie de ces animaux (les 63 premières et 50 parmi les autres) ont également reçu une injection I. M. de PMSG (respectivement 600 et 400 UI) le jour du retrait de l'éponge (J<sub>0</sub>).

Les éponges étaient retirées entre 7 h 30 et 8 h 30.

Les retours en chaleur (saison sexuelle) ont été contrôlés une fois par jour, le soir, par un bélier boute-en-train, en présence d'un observateur, du 17<sup>e</sup> au 22<sup>e</sup> jour après l'arrêt du traitement.

Chez les animaux traités pendant l'anœstrus saisonnier, la gestation a été contrôlée par laparatomie 40 jours après la première insémination.

## RÉSULTATS

1. Après utilisation de sperme congelé, on observe une fertilité relativement élevée pendant la saison sexuelle. En cours d'anœstrus, les résultats sont légèrement plus faibles (tabl. 1).

TABLEAU I

*Fertilité obtenue après utilisation de sperme congelé pendant la saison sexuelle et en anœstrus saisonnier chez des brebis sèches traitées à l'acétate de fluorogestone par voie vaginale et à la PMSG*

Race et époque I. A.		% de N. R. à J <sub>22</sub>	Résultats % de mise bas : 1 % de gestation : 2
<i>Préalpes</i> (saison sexuelle) (Aut. 1969)		52,0 (25)	52,0 <sup>1</sup> (25)
<i>Ile-de-France</i>	Saison sexuelle (Aut. 1969)	68,0 (25)	68,0 <sup>1</sup> (25)
	Anœstrus saisonnier (Print. 1969)		44,4 <sup>2</sup> (63)

2 : Pourcentage de gestation contrôlé par laparatomie 40 jours après l'insémination.

( ) : Nombre d'animaux inséminés.

J<sup>o</sup> : Jour de retrait de l'éponge.

2. Il n'existe aucune différence entre les pourcentages de mise bas et ceux de non-retour calculés un cycle après le retrait de l'éponge (tabl. 1).

3. La fertilité relativement élevée à l'oestrus induit n'est obtenue que si les animaux reçoivent une injection de PMSG (10 p. 100 VS, 52,0 p. 100 P < 0,01) (tabl. 2).

TABLEAU 2

*Fertilité des brebis de race Préalpes traitées à l'acétate de fluorogestone par voie vaginale et inséminées avec du sperme congelé pendant la saison sexuelle : Influence de l'hormone PMSG*

PMSG	P. 100 de mise-bas
+	52,0* (25)
0	10,0 (20)

\* P < 0,01.

( ) : Nombre d'animaux inséminés.

## DISCUSSION

AAMDAL et ANDERSEN (1968), HAHN (1969), LIGHTFOOT et SALAMON (1970), ont montré que le sperme de bélier refroidi à  $-196^{\circ}\text{C}$  et utilisé chez des brebis entrant spontanément en chaleurs, conserve un pouvoir fécondant satisfaisant. Nos résultats prouvent qu'il en est de même lorsque celles-ci sont traitées avec de l'acétate de fluorogestone et de la PMSG. Il faut cependant souligner que LIGHTFOOT et SALAMON (1970) utilisent, dans le cas du sperme congelé, un minimum de spermatozoïdes vivants par dose supérieur à celui que SALAMON et ROBINSON (1962) préconisaient pour le sperme frais. Dans nos essais, au contraire, la quantité de spermatozoïdes mobiles après décongélation est très voisine de celle que nous déposons habituellement dans le cas du sperme non conservé (COLAS *et al.*, 1970).

La survie des spermatozoïdes de bélier est, après réchauffage, très sensiblement diminuée (LOPYRIN et LOGINOVA, 1958 ; LOGINOVA et JELTOBRUCH, 1968). Aussi est-il nécessaire que le dépôt des spermatozoïdes s'effectue à un moment bien précis par rapport à l'ovulation. C'est là sans doute l'origine des bons résultats observés chez les brebis traitées avec du FGA et l'hormone PMSG dont les effets de synchronisation sont bien connus (COGNIE *et al.*, 1968).

La mortalité embryonnaire observée par certains auteurs (LOGINOVA, 1962 ; SALAMON et LIGHTFOOT, 1967 ; MATTNER *et al.*, 1968) n'apparaît pas dans nos essais. L'identité entre le pourcentage de non-retour exprimé 22 jours après le retrait de l'éponge et celui des mises-bas prouve qu'après traitement progestatif et pendant la saison sexuelle, il n'existe pas de perte embryonnaire importante au-delà d'un cycle après la première insémination.

## CONCLUSIONS

Cette étude nous permet de dire que les spermatozoïdes de bélier refroidis à très basse température conservent un pouvoir fécondant satisfaisant, lorsqu'ils sont déposés dans l'appareil génital de brebis soumises à un traitement FGA + PMSG. Néanmoins, d'importants progrès restent à faire pour améliorer le pourcentage de cellules mobiles après réchauffage. Seule une analyse détaillée des principaux paramètres de la technique de congélation en paillettes permettra d'y parvenir.

*Reçu pour publication en juillet 1970.*

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer nos remerciements à M. MAULÉON, à M<sup>mes</sup> BEZARD et BERTHELOT qui ont effectué les laparotomies et à M. COURROT qui nous a encouragés à publier cet article.

## SUMMARY

FERTILITY OF FLUOROGESTONE ACETATE-TREATED EWES  
INSEMINATED WITH FROZEN SPERM : PRELIMINARY RESULTS

One hundred and thirty-three ewes of the *Ile-de-France* and *Préalpes* breeds, treated with fluorogestone acetate and, according to the cases, with the PMSG hormone, were inseminated with frozen ram sperm kept in straw at  $-196^{\circ}\text{C}$ .

The fertility following induced oestrus was rather high (52,0 p. 100 to 68 p. 100 lambings according to breeds) when the animals received PMSG (10 p. 100 without PMSG VS, 52 p. 100 with PMSG-P  $< 0,01$ ).

There was not difference between the percentage of non-return revealed one cycle after removing the sponge, and the lambing rate.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AAMDAL J., ANDERSEN K. A., 1968. Freezing of ram semen in straws. *VI<sup>e</sup> Cong. intern. Reprod. anim. Insem. artif.*, Paris, **2**, 977-980.
- COGNIE Y., THIMONIER J., MAULÉON P., 1968. Étude du moment d'ovulation chez la brebis après traitement progestatif administré par voie vaginale et injection de PMSG pendant la période d'annœstrus saisonnier. *VI<sup>e</sup> Cong. intern. Reprod. anim. Insem. artif.*, Paris, **2**, 1403-1406.
- COLAS G., COURROT M., ORTAVANT R., 1970. Fertilité après synchronisation des chaleurs et insémination artificielle chez les ovins. I. Brebis adultes, sèches ou allaitantes, et agnelles. *Ann. Zootech* (à paraître).
- HAHN R., 1969. A contribution to the deep-freezing-preservation of goat buck and ram semen. *Europ. Assoc. Anim. Prod.*, Helsinki, June.
- LIGHTFOOT R. J., SALAMON S., 1970. Fertility of deep frozen ram semen. *J. Reprod. Fert.*, **21**, 366-367.
- LOGINOVA N. V., 1962. Les causes d'un bas pourcentage de fécondation des brebis inséminées avec du sperme congelé. *Ovisev.*, **8** (8), 20-23.

- LOGINOVA N. V., JELTOBRUCH N. A., 1968. Experimental test of different methods of ram sperm freezing. *VI<sup>e</sup> Cong. intern. Reprod. anim., Insem. artif.*, Paris, **11**, 1077-1080.
- LOPYRIN A. I., LOGINOVA N. V., 1958. Méthode de conservation du sperme de bélier. *Outsev.*, **4** (8), 31-33.
- MATTNER P. E., ENTWISTLE I. W., MARTIN I. C. A., 1968. Passage, survival and fertility of sheep-frozen ram semen in the genital tract of the ewe. *Austr. J. Biol. Sci.*, **22**, 181-187.
- NAGASE H., GRAHAM E. F., 1964. Pelleted semen : comparison of different extenders and processes on fertility of bovine spermatozoa. *V<sup>e</sup> Cong. intern. Reprod. anim. Insem. artif.*, Trente, **4**, 387-391.
- SALAMON S., ROBINSON T. J., 1962. Studies on the artificial insemination of *Merino* sheep. *Austr. J. Agric. Res.* **13**, 52-68, **13**, 271-281 ; **13**, 1135-1150.
- SALAMON S., LIGHTFOOT R. J., 1967. Fertilization and embryonic loss in sheep after insemination with deep frozen ram semen. *Nature*, **216**, 5111 (194-195).
- ROBINSON T. J., 1965. Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrous cycle in the sheep. *Nature*, **206**, 4679 (39-41).
-