

## Du nouveau pour la CONGÉLATION DE LA SEMENCE D'ÉTALON

Plus performant, plus simple d'utilisation, le milieu INRA96<sup>®</sup>, supplémenté de jaune d'œuf et de glycérol, permet de congeler la semence d'étalon avec succès.



© PILLET

### L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE DE SEMENCE CONGELÉE : DES ATOUTS, MAIS AUSSI DES LIMITES À REPOUSSER

La valorisation d'un étalon de haute valeur génétique à la fois par une carrière sportive et par une carrière de reproducteur est permise par l'insémination artificielle. En effet, mener de front une double carrière devient beaucoup plus facile pour tout étalon lorsque la collecte de la semence et l'insémination des juments peuvent être dissociés dans le temps, comme dans l'espace. Pour cela, l'insémination artificielle de semence congelée est particulièrement pratique puisque la semence peut-être conservée indéfiniment et transportée facilement dans l'azote liquide. Cependant, lors de la congélation, la descente de température et la formation des cristaux de glace notamment, altèrent le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. La semence congelée est ainsi connue pour avoir une fertilité après insémination plus faible que la semence fraîche. Pour la monte 2007 par exemple, d'après les données des Haras nationaux, le taux de fertilité par cycle était de 44% pour la semence congelée, comparé à 51% pour la semence fraîche inséminée immédiatement après la récolte.

Pour limiter les conséquences négatives de la congélation sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes, le milieu de congélation joue un rôle essentiel. En effet, les composants du milieu vont protéger les spermatozoïdes des stress induits par la congélation. Pour préserver au mieux le pouvoir fécondant des spermatozoïdes, la composition du milieu doit donc être optimale. Ainsi, le milieu de congélation est un facteur clé pour le succès de l'insémination artificielle de semence congelée.

### Dans les pratiques actuelles, le lait et le jaune d'œuf font partie des milieux de congélation.

Actuellement, pour congeler la semence d'étalon, différents milieux essentiellement à base de lait et/ou de jaune d'œuf sont utilisés. Jusqu'à présent, le milieu principalement utilisé en France est le milieu INRA82.

L'INRA82 se compose d'une solution de sels, de sucres, et de lait écrémé, supplémentée de jaune d'œuf et de glycérol. Il doit être fabriqué par l'utilisateur ; sa fabrication est coûteuse en temps et en équipement.

Contrairement à l'INRA82, le milieu INRA96<sup>®</sup> présente l'avantage d'être disponible prêt à l'emploi puisqu'il est commercialisé depuis l'année 2000 (société IMV-Technologies, L'Aigle). Cependant, le milieu INRA96<sup>®</sup> a été développé pour conserver la semence d'étalon à 4 ou 15°C pendant 24 à 72 heures, et son efficacité pour congeler la semence n'avait encore jamais été testée expérimentalement. L'INRA96<sup>®</sup> présente également l'avantage d'être de composition définie : il ne contient pas de lait, mais la fraction purifiée des caséines du lait, optimale pour la protection des spermatozoïdes lors de la conservation. Pour tester son efficacité pour congeler la semence, il a été dans ce travail supplémenté de jaune d'œuf et de glycérol comme le milieu INRA82 (considéré comme milieu contrôle dans l'expérience suivante).

### LE MILIEU INRA96<sup>®</sup> SUPPLÉMENTÉ DE JAUNE D'ŒUF ET DE GLYCÉROL EST-IL EFFICACE POUR CONGELER LA SEMENCE D'ÉTALON ?



© PILLET

Pour répondre à cette question une expérience de fertilité sur le troupeau expérimental de l'INRA de Nouzilly a été conduite. La semence de 3 poneys Welsh (7 éjaculats/étalon) a été congelée (selon la technique préconisée par les Haras nationaux) dans les milieux INRA82 et INRA96<sup>®</sup>, supplémentés de jaune d'œuf (2%) et de glycérol (2,5%). Un total de 84 cycles de jument a été inséminé : les ponettes ont été inséminées avec une seule dose de 400 millions de spermatozoïdes totaux, 6 heures avant l'ovulation programmée. Le diagnostic de gestation a été réalisé 14 jours après l'ovulation constatée.

## DES RÉSULTATS DE FERTILITÉ PARTICULIÈREMENT MARQUANTS !

FIGURE 1

La fertilité par cycle a été significativement plus élevée après insémination de semence congelée dans le milieu INRA96®

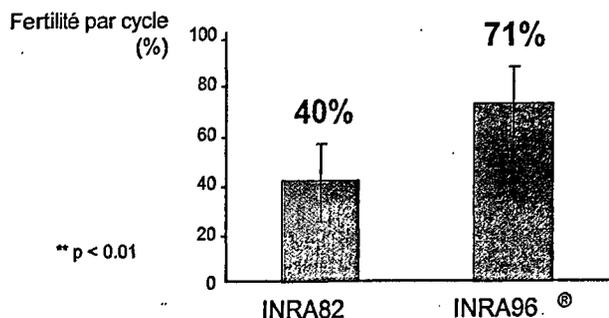
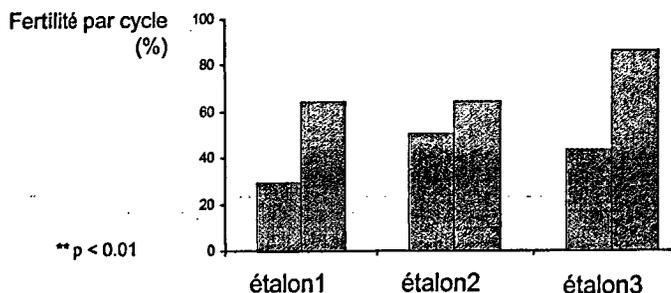


FIGURE 2

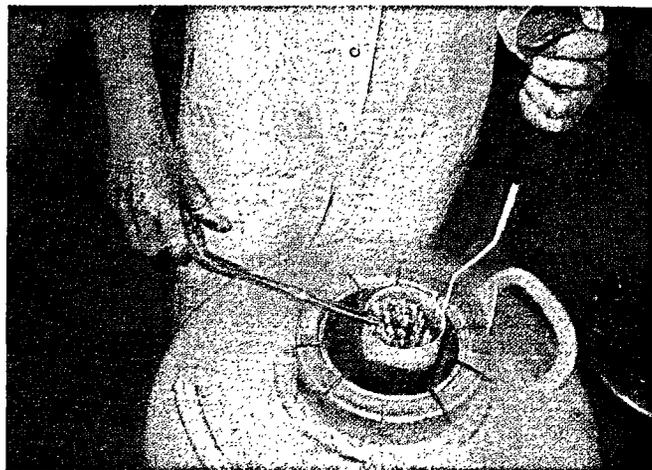
Pour chacun des 3 étalons utilisés, la fertilité par cycle a été améliorée avec le milieu INRA96® (en vert) comparé au milieu INRA82 (en orange)



La fertilité par cycle a été significativement plus élevée après insémination de semence congelée dans le milieu INRA96® comparé au milieu INRA82 : 71% pour l'INRA96® (30 juments gestantes sur 42 inséminées) contre 40% pour l'INRA82 (17 juments gestantes sur 42 inséminées), ( $p < 0,01$ ) (cf. figure 1). Pour chacun des 3 étalons, la fertilité a été améliorée avec le milieu INRA96®, comparé au milieu INRA82 (cf. figure 2). Ce résultat, 71% de fertilité par cycle après insémination de semence congelée dans le milieu INRA96®, est particulièrement élevé. En effet, il correspond à la fertilité par cycle obtenue habituellement, sur ce même troupeau expérimental, après insémination de semence fraîche, immédiatement après la récolte.

Ce résultat est d'autant plus remarquable, que les paramètres *in vitro* analysés au laboratoire ne laissaient pas présager une telle différence de fertilité entre les deux milieux de congélation testés. Par exemple, le pourcentage de spermatozoïdes rapides, évalué par analyse automatisée de la mobilité, était même légèrement supérieur après congélation-décongélation dans le milieu INRA82 comparé au milieu INRA96® : 61% de spermatozoïdes rapides pour le milieu INRA82 contre 58% pour l'INRA96® ( $p < 0,01$ ). La faiblesse des paramètres *in vitro* pour prédire la fertilité d'un reproducteur ou d'un éjaculat est toutefois fréquemment rapportée dans la littérature scientifique, chez l'étalon, comme dans d'autres espèces.

Bien sûr, cette amélioration apportée par l'INRA96® mérite d'être confirmée dans des conditions de terrain, en particulier avec 2 inséminations pré-ovulatoires, et un intervalle insémination-ovulation plus long et plus variable (compris entre 0 et 24 heures). Dans nos conditions expérimentales, l'ovulation a été induite par un extrait hypophysaire équin (le CEG : Crude equine gonadotropin) et une seule insémination pré-ovulatoire a été réalisée avec un intervalle insémination-ovulation de 6 heures. Cette amélioration doit aussi être confirmée sur un plus grand nombre d'étalons et de cycles inséminés. Cependant un tel résultat de fertilité par cycle, avec de la semence congelée, permet d'ores et déjà de conclure que le milieu INRA96® supplémenté de jaune d'œuf et de glycérol, simple d'utilisation, est efficace pour congeler la semence d'étalon.



## VERS LA MISE AU POINT D'UN NOUVEAU MILIEU DE CONGÉLATION...

Le prochain objectif est maintenant de substituer le jaune d'œuf par une ou plusieurs molécules optimales pour la protection des spermatozoïdes, afin de mettre au point un milieu de composition définie et prêt à l'emploi. L'impact à terme de ce projet est de mettre à disposition des éleveurs et des producteurs de semence, un nouveau milieu de congélation optimal et pratique d'utilisation, dans un esprit de biosécurité.

Elodie PILLET, Florence BATELLIER,  
Michèle MAGISTRINI, et Guy DUCHAMP  
INRA de Nouzilly

### Remerciements :

Elodie PILLET mène ce projet dans le cadre d'une thèse financée par la société IMV-Technologies et l'ANRT (Association nationale de la recherche technique).

Nous remercions également toute l'équipe de l'unité expérimentale équine de Nouzilly.