

Mireille Thériault, M. Sc., adjointe de recherche, Département des sciences animales, Université Laval

Geneviève Pouliot, agr., étudiante à la maîtrise, Département des sciences animales, Université Laval

Vincent Demers-Caron, M. Sc., professionnel de recherche, Département des sciences animales, Université Laval

François Castonguay, Ph. D., professeur, Département des sciences animales, Université Laval

Utilisation du **CIDR** pour l'**insémination artificielle** avec **semence congelée** chez la brebis

Au cours des dernières années, plusieurs éleveurs de races pures ont manifesté un grand intérêt pour l'importation de semence ovine congelée. Les principaux buts poursuivis sont : (1) améliorer la diversité génétique à l'intérieur de certaines races (ex. Romanov), (2) avoir accès à de la semence de béliers élités issus de programmes de sélection génétique performants et uniques au monde (ex. Lacaune type « lait » en France), (3) introduire de nouveaux phénotypes dans une race donnée (ex. Suffolk d'Angleterre). C'est pour répondre à cette demande des producteurs que notre équipe de recherche s'est réintéressée (ce n'est pas un sujet nouveau pour nous !) à l'utilisation de l'insémination avec semence congelée.

Utilisation de la semence congelée chez les ovins

L'insémination artificielle (IA) est une technique de reproduction qui a grandement contribué au progrès génétique des productions animales, notamment chez les bovins laitiers et le porc. Chez les ovins, les mêmes bénéfices peuvent être envisagés. Outre l'augmentation des performances obtenue par l'utilisation à plus grande échelle de béliers de qualité génétique supérieure, l'utilisation de semence de béliers d'autres pays permet également d'améliorer la diversité génétique de nos races ovines et aide à réduire les problèmes de consanguinité qui pointent à l'horizon chez certaines races.

Chez le mouton, contrairement à



d'autres espèces comme le bovin, **réaliser efficacement des inséminations avec semence congelée requiert un niveau technique très élevé**. Les deux premières raisons sont de nature physiologique :

1. chez la femelle ovine, le col de l'utérus (structure située entre le vagin et l'utérus) est constitué de nombreux replis fibreux qui rendent généralement impossible le passage d'une tige d'insémination standard permettant de déposer la semence directement dans l'utérus, comme cela se pratique chez le bovin;
2. les spermatozoïdes du bélier sont très fragiles au processus de congélation-décongélation, ce qui fait que les taux de fertilité obtenus en IA cervicale avec semence congelée sont très faibles (10-30 %).

Ainsi, pour obtenir de bons taux de fertilité en semence congelée, il faut avoir recours à une technique chirurgicale, la laparoscopie, qui permet de déposer la semence à l'intérieur des cornes utérines via l'abdomen (voir encadré).

L'insémination par laparoscopie...

c'est quoi au juste ?

L'IA par laparoscopie est une technique chirurgicale mineure qui permet de déposer la semence décongelée dans les deux cornes utérines en passant par la cavité abdominale. Pour ce faire, la brebis est tranquilisée par l'injection d'un sédatif et un anesthésiant local est injecté aux sites d'incisions. Deux légères incisions sont pratiquées au niveau de l'abdomen de la brebis et des canules sont mises en place. Ces canules permettent d'introduire un endoscope (lentille), une tige de manipulation et ultimement le pistolet d'insémination qui servira à injecter la semence dans les cornes. La procédure chirurgicale est relativement facile et rapide à réaliser (8-12 brebis/h) pour un vétérinaire expérimenté.

Malgré de très nombreux essais répertoriés dans la littérature, il n'existe actuellement pas d'alternative efficace à la laparoscopie pour obtenir de bons résultats de fertilité avec la semence congelée de bélier.



L'autre raison qui augmente la complexité de l'IA en semence congelée chez la brebis est que pour faciliter le travail d'insémination, il faut regrouper les chaleurs des brebis en utilisant un traitement de synchronisation. Ainsi, le protocole d'insémination doit également être parfaitement agencé à celui de la synchronisation des chaleurs.

Compte tenu des coûts importants de l'ensemble de l'opération (achat de la semence, synchronisation des chaleurs, frais vétérinaires pour l'insémination...), soit entre 80-140 \$/brebis, il est essentiel de chercher à optimiser le taux de réussite des IA réalisées avec de la semence congelée.

La problématique au Québec

Des essais d'inséminations avec semence congelée, autant au niveau commercial qu'en recherche, ont déjà été réalisés au Québec au cours des 30 dernières années. Les protocoles de



synchronisation des chaleurs et d'insémination étaient relativement bien connus. Cependant, en 2009, la disparition du marché canadien des éponges vaginales Veramix^{MD} (Upjohn) a entraîné avec elle toutes nos références techniques pour la synchronisation des chaleurs dans les programmes d'IA. Il fallait donc revalider les protocoles jusqu'ici utilisés avec le nouveau produit de remplacement mis en marché en 2010, le CIDR^{MD} (Zoetis Animal Health, Montréal, QC).

Le protocole « standard » d'IA avec semence congelée chez les ovins, qui a été établi sur la base de l'utilisation de l'éponge vaginale, veut que les inséminations soient réalisées autour de 55 h suivant le retrait de l'éponge (temps fixe), pour toutes les brebis synchronisées. Les recherches antérieures ont montré que c'était le moment optimal pour obtenir les meilleurs résultats de fertilité. Cependant, le CIDR est techniquement différent de l'éponge vaginale par le type de progestérone qu'il contient : naturelle dans le CIDR vs synthétique dans les éponges. Les recherches ont montré que cette différence faisait varier la séquence des événements physiologiques qui ont une importance primordiale sur les résultats obtenus en IA à temps fixe (moments du début de la chaleur et de l'ovulation). Ainsi, la lecture de la littérature sur le sujet nous a confirmé qu'il s'avérait important de revalider avec le CIDR les résultats obtenus dans les protocoles utilisant l'éponge vaginale comme technique de synchronisation. Plus encore, certains résultats de recherche montraient qu'il existait



d'autres avenues intéressantes à explorer, comme le dépôt intra-utérin de la semence en fonction du début de la chaleur réelle de chacune des brebis, plutôt qu'à un temps fixe (55 h) après le retrait de l'éponge ou du CIDR. Le moment d'injection de l'eCG (nouveau nom de la PMSG) faisait aussi l'objet de variation dans les protocoles.

Le projet « Utilisation du CIDR pour l'insémination artificielle avec semence congelée chez la brebis » (CDAQ #6705), mis sur pied en 2012, visait à développer un ou des protocoles performants pour les programmes d'IA utilisant le CIDR chez trois types de races, soit prolifique, maternelle et terminale. Nous voulions ainsi consolider notre expertise en matière d'IA et rendre la technique disponible à l'ensemble des éleveurs de races pures voulant « investir » dans l'amélioration génétique.



Description du projet

Au total, 14 essais ont été réalisés en saison sexuelle chez 10 éleveurs (**Tableau 1**). Au final, c'est 332 brebis Romanov (RV), 246 brebis et agnelles Suffolk (SU) et 142 brebis Dorset (DP) qui ont été inséminées par laparoscopie par notre équipe au cours des deux années qu'a duré le projet. La semence congelée importée utilisée provenait de sept béliers RV français (GEODE - Insem Ovin, Limoges), trois SU anglais (Essie Suffolk - Innovis, Malvern) et trois DP australiens (Hillcroft farm - Allstock, Narrogin).

Les femelles ont été réparties selon l'âge, le poids, l'état de chair, la parité, la prolificité antérieure, l'intervalle entre le dernier agnelage et la répartition et l'intervalle entre le tarissement et la répartition dans un des trois protocoles d'insémination suivants :

- ◆ **Témoin** : CIDR pendant 14 j, eCG¹ (PMSG; Folligon^{MD}, Intervet) injectée au retrait du CIDR, IA réalisée 48 h après le retrait du CIDR.
- ◆ **T14** : CIDR pendant 14 j, eCG (PMSG) injectée 24 h avant le retrait du CIDR, IA réalisée 24 h après le début de la chaleur.
- ◆ **T5** : CIDR pendant 5 j, eCG (PMSG) et 20 mg de PGF_{2α} (Lutalyse^{MD}, Zoetis) injectés 24 h avant le retrait du CIDR, IA réalisée 24 h après le début de la chaleur.

Douze heures suivant le retrait des CIDR, un bélier vasectomisé muni d'un harnais-marqueur était introduit avec les femelles. Les femelles démontrant des signes de chaleur étaient identifiées et mises à l'écart, et ce, jusqu'à ce que toutes les brebis soient venues en chaleur ou au plus tard 27 h après le retrait. Seules les femelles venues en cha-

Tableau 1. Nombre de femelles synchronisées et inséminées des races Romanov (RV), Suffolk (SU) et Dorset (DP) chez les différents éleveurs

Race	Éleveur	Traitée au CIDR			Inséminée		
		Essai	Adulte	Agnelle	Adulte	Agnelle	
RV	A	1	53		52		
		2	64		64		
		1	60		57		
		1	54		53		
	B	2	57		55		
		1	54		51		
		E	1	47	4	44	4
			2	18	25	18	25
F	1	59		57			
	2	63		57			
	1	45		41			
DP	H	1	49		42		
	I	1	43		39		
	J	1	68		61		
TOTAL			734	29	691	29	

leur ont été inséminées par laparoscopie.

Rares sont les programmes d'IA qui incorporent la détection des chaleurs. L'utilisation de béliers vasectomisés avait pour objectifs :

1. **de stimuler la venue en chaleur;**
2. **de mieux regrouper la venue en chaleur;**
3. **d'identifier les femelles réellement venues en chaleur.**

Le traitement Témoin est inspiré du protocole « standard » utilisé avec l'éponge vaginale, mais il a été adapté pour tenir compte du fait qu'on utilisait des béliers vasectomisés pour la détection des chaleurs. Ainsi, l'IA a été devancée de quelques heures étant donné qu'il a été démontré dans la littérature que le contact avec des béliers devance la venue en chaleur des brebis. ▶▶▶



¹La quantité d'eCG (PMSG) injectée a été ajustée selon la race et l'âge. Les brebis adultes RV, SU et DP ont reçu 350, 640 et 500 U.I. respectivement. Les agnelles SU ont reçu 500 U.I.



Résultats

Chez les brebis RV, les trois traitements de synchronisation ont eu une efficacité similaire, avec plus de 95 % des brebis en chaleur 27 h après le retrait du CIDR. Globalement, les traitements ont donné des résultats de fertilité équivalents (**Figure 1**). La fertilité des RV a été très bonne, avec une moyenne de 74,9 % (brebis agnelées/brebis inséminées) et des taux supérieurs ou égaux à 75 % dans 4 des 6 essais. À noter que les antenaises (femelles ayant eu un seul agnelage) ont obtenu 79,4 % de fertilité. Pour ce qui est de la prolificité, le nombre d'agneaux nés/agnelage a montré une tendance statistique à être plus élevé pour les traitements T5 et T14, ceux recevant l'eCG 24 h avant le retrait du CIDR (2,60 vs 2,91 et 2,96 agneaux nés/brebis agnelée pour le Témoin vs T14 et T5, respectivement).

Chez les SU, le protocole T5 a montré une tendance à induire des chaleurs chez une plus grande proportion de femelles (98,9 vs 90,5 et 90,6 % pour le T5 vs Témoin et T14). Ce constat est cohérent avec l'hypothèse émise par certains chercheurs américains voulant que les traitements hormonaux de synchronisation avec CIDR devraient être plus courts que 14 j chez les races de gabarit plus imposant afin de maintenir un niveau de progestérone sanguin suffisant pour bien synchroniser l'œstrus. Les trois traitements ont donné des fertilités similaires chez les brebis inséminées (**Figure 1**). La fertilité de 1 des 5 essais a été décevante (44-52 %), possiblement due au stress causé par la réalisation de prises de sang répétées dans la période entourant les IA (nous voulions mesurer la LH, une hormone qui est liée au moment de l'ovulation). Les résultats de cet essai ont ainsi été retirés de toutes les analyses. Globalement, les femelles SU n'ont rien à envier aux RV, avec un taux de fertilité très satisfaisant de 71,9 %. Il est intéressant de noter ici que 25 agnelles SU de 12 mois ont

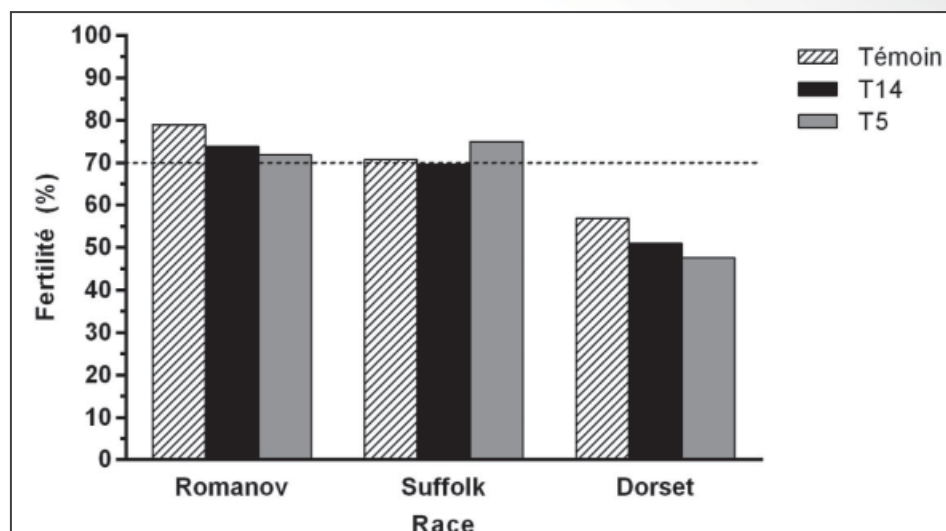


Figure 1. Fertilité selon la race et le protocole d'insémination

été soumises aux différents protocoles et ont obtenu une fertilité de 70,8 %, comparable à celle obtenue avec les brebis adultes. Les antenaises ont également démontré une excellente fertilité de 76,4 %. La prolificité a été différente entre les traitements, le T14 ayant une prolificité inférieure aux deux autres traitements (1,49 vs 1,83 et 1,88 agneaux nés/brebis agnelée pour T14 vs Témoin et T5).

Enfin, **chez les brebis DP**, contrairement aux SU, le pourcentage d'induction des chaleurs pour le T5 a été inférieur aux deux autres traitements (78,9 vs 94,4 et 94,4 % pour le T5 vs Témoin et T14). Ici aussi, les trois protocoles ont permis d'obtenir des fertilités comparables (**Figure 1**). Toutefois, les performances des DP ont été décevantes lors des trois essais (pas de différence entre les éleveurs), avec une fertilité globale de seulement 51,4 %. Certains éléments peuvent expliquer ces résultats. La semence de DP reçue de l'Australie présentait une concentration en spermatozoïdes inférieure aux 20 millions spz vivants/paillette généralement recommandés. Ce problème a été contourné par l'utilisation de deux paillettes par insémination; la quantité de spermatozoïdes motiles inséminée devrait donc avoir été suffisante. Cependant, comme la semence

de chaque race a été préparée par un centre de récolte différent, selon différentes méthodologies (diluant...), l'impact de la qualité de la semence sur la fertilité ne peut être bien identifié. Aussi, d'autres facteurs liés au choix des brebis ont été relevés, notamment l'âge. Ainsi, dans l'essai à la bergerie J, un gain de plus de 10 % de fertilité est observé en excluant des analyses les brebis âgées de plus de 5 ans (60,0 vs 48,7 %). Parallèlement, 18 antenaises DP de la bergerie H ont obtenu une fertilité de 66,7 %. D'ailleurs, l'âge a aussi été identifié comme un facteur de variation de la fertilité dans les deux autres races. La sélection de brebis vides d'accouplements précédents pour une intervention aussi importante que l'IA peut également avoir des conséquences « coûteuses ». Plus de 10 % de fertilité est gagné en retirant des analyses 7 brebis vides de l'accouplement antérieur dans les données de la bergerie H (64,7 vs 54,2 % chez les brebis). Reste aussi la possibilité que les protocoles de synchronisation et d'IA testés soient mal adaptés à la race DP. Concernant la prolificité, elle n'a pas différé de façon significative entre les traitements, malgré que les brebis du T5 aient eu une prolificité numériquement supérieure (1,95 vs 1,62 et 1,78 pour le T5 vs T14 et



Conclusions du projet

Les résultats antérieurs de notre équipe de recherche et ceux rapportés dans la littérature nous indiquent qu'un taux de fertilité entre 60-70 % est un objectif atteignable en insémination ovine par laparoscopie avec de la semence congelée. Les résultats sous le seuil de 50 % sont considérés comme décevants.

Pour les brebis RV et les SU, les essais de cette étude ont confirmé l'efficacité du traitement Témoin avec IA à temps fixe (fertilité de 70-75 %). Les traitements expérimentaux T5 et T14, avec une IA programmée précisément en fonction du début de la chaleur de chaque brebis, n'ont pas permis d'obtenir un gain de fertilité significatif. Chez les SU, le T5 pourrait présenter un certain avantage, notamment via une meilleure induction des chaleurs. Ce traitement devrait faire l'objet d'essais supplémentaires avec des inséminations réalisées à temps fixe. Chez les DP, bien que décevants dans leur ensemble, les résultats avec le traitement Témoin ont été similaires à ceux des deux autres traitements, et même numériquement supérieurs.

Le protocole recommandé

Le protocole d'IA effectuées à temps fixe du retrait du CIDR reste donc à privilégier en raison de sa simplicité de planification et de réalisation dans un environnement commercial. Le protocole d'IA avec semence congelée actuellement recommandé est donc :

- ◆ *Traitement au CIDR pendant 14 jours;*
- ◆ *eCG (PMSG) injectée au retrait du CIDR;*
- ◆ *Introduction d'un bélier vasectomisé 12 h après le retrait des CIDR et détection des chaleurs;*
- ◆ *IA par laparoscopie 48 h après le retrait des CIDR des brebis en chaleur dans les 27 h suivant les retraits.*

La détection des chaleurs à l'aide de béliers vasectomisés est un élément important du protocole proposé. Cet ajout au protocole « standard » que nous utilisons avant avec les éponges vaginales permet une augmentation de l'efficacité de l'IA. Ainsi, seules les brebis venues en chaleur sont inséminées réduisant par le fait même le nombre d'IA inutiles (l'IA de brebis qui ne sont pas venues en chaleur donne très peu de chances de réussite). Cette pratique permet ainsi de diminuer les coûts par agneau obtenu par une réduction du nombre de paillettes gaspillées pour des brebis qui ne sont pas venues en chaleur. Chacune de ces paillettes épargnées représente une économie substantielle (45-90 \$/paillette). De plus, la présence du bélier via les stimuli comportementaux et les phéromones apparaît comme un élément supplémentaire pouvant avoir contribué aux bonnes performances obtenues dans ce projet. Mais cette hypothèse reste à valider.

Plusieurs autres protocoles pourraient, bien sûr, être essayés pour améliorer le taux de fertilité et de prolificité et, donc, l'efficacité globale : différents moments d'IA à temps fixe, traitement au CIDR de 5 j avec IA à temps fixe, injection d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR avec IA à temps fixe.... La recherche ne s'arrête jamais !! Mais pour le moment, nous pouvons au moins dire que nous possédons l'expertise pour réaliser des IA avec semence congelée avec un taux de fertilité très acceptable.

Un bon protocole d'insémination c'est important... mais ce n'est pas tout !

La réussite de l'IA avec semence congelée va bien au-delà de la réalisation du « simple » geste du dépôt de la semence dans les cornes utérines.

Elle nécessite la maîtrise de plusieurs éléments connexes au protocole de synchronisation et d'IA et exige le respect méticuleux de plusieurs règles. La sélection des brebis, l'alimentation et la régie des femelles, l'organisation du chantier d'insémination, la manipulation de la semence, l'équipement... sont autant de détails qu'il faut soigneusement contrôler si on veut espérer tirer le maximum de profit de ce puissant outil d'amélioration génétique.

La réussite en insémination, c'est une foule de petits « détails » qu'il faut tous bien contrôler. Parmi ceux-ci :

- ◆ *Excellente planification (réserver un groupe de brebis au bon stade physiologique, préparation d'un calendrier des opérations, organisation du chantier...);*
- ◆ *Réalisation en saison sexuelle pour maximiser les résultats;*
- ◆ *Choix et préparation des brebis (< 5 ans; état de chair entre 3,0 et 4,0; bonne fertilité et prolificité antérieures);*
- ◆ *Respect des protocoles à la lettre (synchro. et IA);*
- ◆ *Détection des chaleurs avec un BON bélier vasectomisé;*
- ◆ *Bonne qualité de la semence... bien congelée et bien décongelée;*
- ◆ *Équipe d'insémination entraînée et compétente;*
- ◆ *Manipulations et déplacements des animaux en douceur, sans stress, avant, pendant et après l'insémination;*
- ◆ *Environnement de gestation adéquat.*

Pour aider et guider les vétérinaires et les producteurs dans l'application de cette technique, un *manuel pratique de l'insémination artificielle avec semence congelée* chez la brebis sera préparé par notre équipe et disponible à la fin de l'été 2014.

