

**PROGRAMME D'ESSAIS ET  
EXPÉRIMENTATION EN  
AGRO-ALIMENTAIRE**

**INSÉMINATION TRANSCERVICALE AVEC  
SEMENCE CONGELÉE  
PAR INJECTION D'OCYTOCINE**

**ET**

**UTILISATION DE LA GnRH POUR  
LA SYNCHRONISATION DES  
CHALEURS EN INSÉMINATION**

Projet no.: SE.30880430-154

Octobre 1997

## **PROGRAMME D'ESSAIS ET EXPÉRIMENTATION EN AGRO-ALIMENTAIRE**

L'objectif de ce programme est d'accroître les niveaux de productivité et de rentabilité de l'agriculture dans la région du Lac-St-Jean. Le programme vise particulièrement à:

- Accélérer l'adoption de systèmes et d'outils nouveaux par les producteurs agricoles en soutenant les activités de développement, d'évaluation, d'essai et de démonstration de nouveaux systèmes ou techniques de production sur des fermes ;
- Diversifier la base et les alternatives de production par l'introduction et l'adaptation de nouvelles productions, espèces ou variétés susceptibles d'être exploitées sur une base commerciale dans la région du Lac-St-Jean ;
- Accélérer l'adoption, par l'industrie des aliments et boissons, de technologies, de systèmes de production et de produits innovateurs, en aidant à la dernière mise au point et à la démonstration des procédés expérimentés dans les centres de recherche gouvernementaux ou autres ;
- Accroître les niveaux d'utilisation de l'équipement, du capital foncier et des ressources humaines disponibles dans la région du Lac-St-Jean.

Le coût total de ce projet s'est élevé à 38 185\$. Ce projet a débuté en septembre 1994 et s'est terminé en septembre 1997. Le budget alloué pour le projet a été utilisé pour la réalisation d'une expérience sur l'insémination transcervicale et d'une sur l'administration de GnRH pour améliorer la synchronisation des ovulations des brebis. Plusieurs autres essais, qui ont aidé à la planification et à la réalisation de ces expériences, ont été réalisés et en partie défrayés par la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière. Les responsables scientifiques tiennent également à souligner le soutien financier du CORPAQ au développement et à la mise au point de la technique de synchronisation avec la GnRH pour son utilisation en insémination.

## INTERVENANTS

- Promoteur du projet: Langis Croft  
Producteur ovin  
502, rang St-Isidore  
Héberville, G0W 1S0  
☎ (418) 344-1680
- Agents de projet: Marc Tardif et Jacques Bussières  
Agriculture et Agroalimentaire Canada  
Direction générale des services à l'industrie et aux marchés  
Gare maritime Champlain  
901, rue Cap-Diamant, pièce 350-4  
G1K 4K1  
☎ (418) 648-4820
- Responsables scientifiques: Dr. François Castonguay, Ph.D.  
Agriculture et Agroalimentaire Canada  
En poste au Département des sciences animales  
Université Laval  
Ste-Foy, G1K 7P4  
☎ (418) 656-2131(8358)
- Dr. Jean-Paul Laforest, Ph.D.  
Département des sciences animales  
Université Laval  
Ste-Foy, G1K 7P4  
☎ (418) 656-2131
- Aviseur scientifique: Dr. Jacques J. Dufour, Ph.D.  
Département des sciences animales  
Université Laval  
Ste-Foy, G1K 7P4  
☎ (418) 656-2131
- Lieu de réalisation du projet: Ferme Langis Croft  
502, rang St-Isidore  
Héberville

## REMERCIEMENTS

Les responsables scientifiques de ce projet, François Castonguay et Jean-Paul Laforest, tiennent à remercier toutes les personnes qui ont participé à sa réussite:

D'abord **Langis Croft**, pour nous avoir fait confiance pour mener à bien ce projet. Il faut souligner sa disponibilité, sa grande coopération, son dynamisme et son accueil lors des expérimentations faites à sa ferme. Son ouverture d'esprit et la grande confiance qu'il nous a démontrée nous ont permis de réaliser ces expérimentations avec toute la liberté voulue. La production ovine québécoise progressera avec des producteurs comme Langis. Un grand merci!

**Pierre Brouillette**, technicien à la Ferme de recherche sur le mouton de La Pocatière, qui a réalisé toutes les inséminations transcervicales des nombreux essais et qui a participé activement à la mise au point de la technique.

**Cynthia Lévesque**, technicienne en santé animale, et **Diane Paradis**, agronome, qui ont apporté leur aide technique au projet en participant aux expériences et en compilant les données. Merci également à Diane Paradis pour la rédaction du rapport.

**Luc Boily**, agronome, pour son aide lors des manipulations d'animaux effectuées à la ferme de Langis Croft et pour la supervision du projet.

**Luc Martin DeRoy** du Centre d'insémination ovine du Québec, pour la coordination de toutes les étapes reliées à la préparation de la semence et aux inséminations. Soulignons le travail d'**Annie Bard** pour l'évaluation de la qualité de la semence et des inséminateurs **Louise Saindon** et **Daniel Dion**.

**Marc Tardif** et **Jacques Bussière**, agents de projet à Agriculture et Agroalimentaire Canada, pour leur compréhension et leur confiance durant le déroulement du projet et particulièrement lors des modifications de protocoles après la première année.

**Jacques J. Dufour**, professeur au Département des sciences animales de l'Université Laval, pour sa collaboration et ses idées lors de l'élaboration des protocoles expérimentaux.

**Gilles Gagnon**, berger en chef à la Ferme de recherche sur le mouton de La Pocatière, et les bergers **Camille Beaulieu**, **Jean-Guy Beaulieu**, **Bernard Grondin** et **André Lippé**, pour leur aide et leur collaboration à la réalisation des essais effectués à la Ferme de La Pocatière.

**Maxime Dessureault**, vétérinaire, pour avoir assuré le suivi de santé des brebis et s'être intéressé à la réussite du projet à travers nos discussions.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>INTERVENANTS .....</b>	<b>3</b>
<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>4</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>7</b>
<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>8</b>
<b>1.0 INTRODUCTION .....</b>	<b>11</b>
<b>2.0 DESCRIPTION DE L'ENTREPRISE .....</b>	<b>11</b>
<b>3.0 EXPÉRIENCE «INSÉMINATION TRANSCERVICALE».....</b>	<b>12</b>
3.1 PROBLÉMATIQUE.....	12
3.2 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES .....	15
3.3 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE.....	16
3.4 RÉSULTATS .....	19
3.5 EXPÉRIENCE COMPLÉMENTAIRE .....	21
3.6 DISCUSSION.....	25
<b>4.0 EXPÉRIENCE «SYNCHRONISATION AVEC GNRH».....</b>	<b>26</b>
4.1 PROBLÉMATIQUE.....	26
4.2 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES .....	27
4.3 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE.....	28
4.4 RÉSULTATS .....	29
4.5 DISCUSSION.....	31
<b>5.0 CONCLUSION .....</b>	<b>31</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

TABLEAU 1. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES DES BREBIS INSÉMINÉES PAR LAPAROSCOPIE AVEC DE LA SEMENCE CONGELÉE EN FONCTION DU GROUPE DE SYNCHRONISATION.....	19
TABLEAU 2. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES DES BREBIS INSÉMINÉES DE FAÇON TRANSCERVICALE AVEC DE LA SEMENCE CONGELÉE EN FONCTION DU GROUPE DE SYNCHRONISATION.....	20
TABLEAU 3. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES DES BREBIS INSÉMINÉES DE FAÇON TRANSCERVICALE AVEC DE LA SEMENCE FRAÎCHE EN FONCTION DU GROUPE DE SYNCHRONISATION.....	21
TABLEAU 4. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES EN FONCTION DES TRAITEMENTS DE SYNCHRONISATION AVEC LA GNRH .....	29
TABLEAU 5. FERTILITÉ DES BREBIS POUR CHAQUE TRAITEMENT DE SYNCHRONISATION AVEC LA GNRH EN FONCTION DES PRINCIPALES RACES DE BREBIS* .....	30
TABLEAU 6. FERTILITÉ DES BREBIS POUR CHAQUE TRAITEMENT DE SYNCHRONISATION AVEC LA GNRH EN FONCTION DES BÉLIERS UTILISÉS* .....	31

## RÉSUMÉ

À l'origine, il était prévu de faire deux essais d'insémination transcervicale chez Langis Croft. Le très faible taux de fertilité (3%) obtenu lors du premier essai d'insémination transcervicale en 1994 chez Langis Croft (résultats présentés dans ce document), ainsi que les résultats similaires observés lors d'un autre projet réalisé à la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière ont amené l'équipe de supervision à abandonner l'idée de réaliser un autre essai d'insémination transcervicale chez Langis Croft. Pour la deuxième phase du projet, nous avons choisi d'évaluer l'utilisation de la GnRH pour contrôler les ovulations des brebis et ainsi permettre une meilleure synchronisation entre l'ovulation et le temps d'insémination.

### **Expérience « Insémination transcervicale »**

Contrairement au bovin, où la semence peut être directement déposée dans l'utérus, chez la brebis, le col utérin constitue une barrière quasi infranchissable pour la tige d'insémination, ce qui limite l'utilisation de la semence congelée. En 1992, des chercheurs américains ont publié un article démontrant l'efficacité de l'ocytocine pour dilater le cervix. C'est cette approche que nous avons voulu tester dans cette première expérience.

En saison sexuelle, 100 brebis ont été synchronisées avec des éponges vaginales et ont reçu 500 U.I. de PMSG au moment du retrait, 14 jours après l'insertion. Les brebis ont été réparties dans trois traitements d'inséminations réalisées environ 58 heures après le retrait de l'éponge: (1) Insémination par laparoscopie avec semence congelée; (2) Insémination transcervicale avec semence congelée, après injection de 200 U.I. d'ocytocine et (3) Insémination transcervicale avec semence fraîche, après injection de 200 U.I. d'ocytocine.

La fertilité des brebis inséminées par laparoscopie avec de la semence congelée était en moyenne de 53.3%. En ce qui concerne les brebis inséminées de façon transcervicale avec semence congelée après injection d'ocytocine, nous avons réussi à traverser le col utérin de 90% des brebis. Cependant, une seule brebis sur les 27 inséminées de façon transcervicale a

agnelé donnant un taux de fertilité global de 3.3%. Les résultats des brebis inséminées de façon transcervicale avec semence fraîche étaient sensiblement les mêmes (85% de passage, 0% de fertilité). Ces résultats sont en accord avec d'autres essais qui ont été réalisés avec la technique transcervicale entre les années 1993 et 1995 par l'équipe de chercheurs du présent projet et ceux récemment publiés en 1997 par les auteurs du premier article scientifique de 1992.

### **Expérience « Synchronisation avec GnRH »**

La GnRH, une hormone sécrétée de façon naturelle chez l'animal et qui contrôle le relâchement de deux autres hormones reliées à la croissance folliculaire et à l'ovulation, est depuis peu commercialement disponible sous forme synthétique. Des expériences conduites à l'automne 1996 à la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière montraient que l'injection de GnRH à différents moments après le retrait de l'éponge provoquait le pic préovulatoire de LH, élément déclencheur des événements physiologiques menant à l'ovulation. Or, une des hypothèses qui expliquerait les résultats variables de fertilité en insémination artificielle à temps fixe serait la variabilité du moment de l'ovulation des brebis synchronisées. Ainsi en contrôlant le moment du pic de LH, par l'injection exogène de GnRH, on devrait donc obtenir de meilleurs taux de fertilité en insémination à temps fixe. Nous avons donc décidé d'évaluer cette nouvelle approche de synchronisation dans le cadre de la deuxième expérience réalisée chez Langis Croft.

Au mois de mars 1997, nous avons synchronisé 77 brebis principalement de deux types de prolificité soit F1 Romanov x Suffolk (jugées prolifiques) et également F2 Dorset x 1/2RV1/2SU et Dorset x 1/2DP1/2RV (jugées moins prolifiques). Les brebis ont été réparties selon trois traitements de synchronisation : (1) Éponges vaginales laissées en place pendant 14 jours. Au retrait, injection i.m. de 500 U.I. de PMSG (témoins); (2) Éponges vaginales laissées en place pendant 14 jours. Au retrait, injection i.m. de 500 U.I. de PMSG. Injection i.m. de 50 µg de GnRH 48 h après le retrait; (3) Éponges vaginales laissées en place pendant 14 jours. Injection i.m. de 50 µg de GnRH 48 h après le retrait. Les inséminations avec de la semence

fraîche ont eu lieu environ 55 h après le retrait de l'éponge pour le traitement 1 et à 65h pour les traitements 2 et 3.

Les résultats des traitements 1 et 2 démontrent que l'injection de GnRH peut avoir des effets bénéfiques sur la fertilité, mais que cet effet est variable d'un type de brebis à l'autre. Les croisements moins prolifiques inséminés à 65 h obtiennent de meilleurs résultats de fertilité avec une injection de GnRH à 48 h après le retrait des éponges, alors que les brebis plus prolifiques performant très bien avec le traitement sans GnRH avec une insémination à 55 h. Moins de 20% des brebis ayant reçu une injection unique de GnRH 48 h après le retrait de l'éponge (sans PMSG) ont été diagnostiquées gestantes lors de l'échographie.

### **Conclusion**

Les résultats présentés dans ce projet démontrent que la technique d'insémination transcervicale par injection d'ocytocine demande encore des mises au point importantes et de la recherche avant d'espérer être utilisée chez les producteurs. Plusieurs expériences fondamentales devront être réalisées pour comprendre les phénomènes physiologiques qu'entraînent l'injection de l'ocytocine et/ou la manipulation du cervix.

Par contre, nous croyons que l'utilisation de la GnRH pour la synchronisation des ovulations constitue une avenue intéressante pour améliorer les résultats en insémination. Les essais effectués à ce jour nous permettent d'envisager des résultats intéressants au cours des prochaines années.

## **1.0 Introduction**

Ce projet a fait un cheminement particulier durant les trois années qu'il a duré. À l'origine, il était prévu de faire deux essais d'insémination transcervicale chez Langis Croft. Le très faible taux de fertilité (3%) obtenu lors du premier essai d'insémination transcervicale en 1994, ainsi que les résultats similaires (4%) observés lors d'un projet de maîtrise réalisé à la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière ont amené l'équipe de supervision à effectuer une expérimentation complémentaire avant de se lancer dans la phase 2 du projet chez Langis Croft. Les résultats obtenus lors de cette expérimentation réalisée à La Pocatière nous ont convaincus qu'il existe encore plusieurs points de la technique à mieux maîtriser avant d'effectuer de nouveaux essais chez un producteur. C'est pourquoi nous avons dû abandonner l'idée de réaliser un autre essai d'insémination transcervicale chez Langis Croft. Pour la deuxième phase du projet, nous avons plutôt choisi d'évaluer le potentiel d'une autre avenue très prometteuse pour accroître les résultats en insémination : l'utilisation de la GnRH (hormone naturelle) pour contrôler les ovulations des brebis et ainsi permettre une meilleure synchronisation entre l'ovulation et le temps d'insémination. Dans le présent rapport, vous trouverez donc les résultats de tous les essais effectués sur la technique d'insémination transcervicale avec ocytocine, réalisés aussi bien à la Ferme de recherche sur le mouton de La Pocatière que chez Langis Croft. De plus, les résultats d'une expérience de synchronisation avec GnRH vous seront présentés.

## **2.0 Description de l'entreprise**

M. Langis Croft est en production ovine depuis 15 ans et s'est constitué un troupeau de 200 brebis à partir d'un troupeau souche de 50 brebis Suffolk. Considérant les résultats obtenus avec ce troupeau, il a décidé d'y introduire un bélier Romanov pour améliorer la prolificité, la rusticité, les qualités maternelles et le désaisonnement. Les résultats obtenus ont été significativement positifs. Il pratique l'agnelage accéléré sur toutes les brebis de son troupeau

L'insémination n'est pas une technique nouvelle pour M. Croft. Il l'utilisait systématiquement avec un troupeau bovin Simmental et les résultats obtenus en Station d'épreuves l'ont vite convaincu du bien fondé de cet outil d'amélioration génétique.

Le requérant a fait parti d'un réseau d'essai au Lac-St-Jean qui portait sur la production et l'engraissement d'agneaux à contre-saison. M. Croft a fait l'acquisition d'un bélier Texel en 1993. Ce bélier est présentement au Centre d'insémination ovine du Québec (CIOQ) depuis le mois d'avril 1994. Il a également fait l'acquisition de deux autres béliers Texel pour son troupeau. Il utilise à très large échelle l'insémination autant en saison sexuelle qu'en contre-saison dans l'optique d'améliorer la qualité génétique de ses sujets de remplacement et également des agneaux destinés à l'abattoir. Son intérêt pour ce projet était de pouvoir participer au développement d'une nouvelle technique d'insémination qui faciliterait l'utilisation de la semence congelée.

### **3.0 Expérience «Insémination transcervicale»**

#### **3.1 Problématique**

L'ampleur de l'amélioration génétique escomptée chez les ovins passe avant tout, comme chez les bovins, par une dissémination rapide et à large échelle de la semence des meilleurs mâles reproducteurs. Pour favoriser la dissémination du potentiel génétique d'un bélier, la semence du sujet améliorateur doit donc être disponible en tout temps et pendant plusieurs années. Pour combler ces deux besoins, il devient impératif de congeler la semence, comme cela se pratique chez les bovins, puisque présentement, la semence de bélier utilisée à l'état frais ne se conserve qu'environ 8 heures dans les meilleures conditions. Ainsi, comme la durée de conservation de la semence est limitée, le marché potentiel que représente certaines régions périphériques du Québec (Lac-St-Jean, Abitibi) demeure peu accessible au Centre d'insémination ovine du Québec (CIOQ).

Contrairement au bovin, où la semence peut être directement déposée dans l'utérus, chez la brebis, le col utérin constitue une barrière quasi infranchissable pour la tige d'insémination. Le

cervix de la brebis est constitué de nombreux replis cartilagineux qui s'imbriquent les uns dans les autres, rendant impossible le passage de la tige. La semence doit donc être déposée à l'entrée du cervix (insémination cervicale "traditionnelle"). La remontée des spermatozoïdes vers l'oviducte est donc rendue beaucoup plus difficile par cet « obstacle » naturel. Ainsi, on a montré qu'en augmentant la profondeur du dépôt de la semence dans le col utérin, on augmentait le taux de fertilité de 44% à 71%. De plus, en déposant la semence fraîche directement dans l'utérus, par laparoscopie, on obtient encore de meilleurs résultats.

La barrière physique du cervix prend encore plus d'importance lorsqu'on utilise la semence congelée. L'insémination cervicale avec semence congelée donne un taux de fertilité très faible comparativement à la semence fraîche (20% vs 60%). Ceci peut s'expliquer par le fait que les opérations de congélation et de décongélation de la semence de bélier réduisent la viabilité des spermatozoïdes dans le tractus génital de la brebis et que la capacité des spermatozoïdes décongelés d'atteindre le site de fertilisation est diminuée. Lorsque la semence décongelée est déposée directement dans les cornes utérines, par laparoscopie, les taux de fertilité augmentent considérablement et s'établissent autour de 50-60%. Cependant, cette technique chirurgicale n'est pas pratique commercialement, en plus d'être très onéreuse.

Une approche envisageable pour « éliminer » la barrière du cervix est de parvenir à le faire dilater de manière à pouvoir y faire traverser la tige d'insémination. En 1992, des chercheurs du Virginia Polytechnic Institute and State University aux États-Unis (Dr. Khalifa et G.S Lewis) ont publié un premier article démontrant l'efficacité de l'ocytocine, produit commercialement disponible à un coût très bas, pour dilater le cervix. L'injection d'ocytocine (200 U.I.) juste avant l'insémination, a permis de traverser, avec la tige d'insémination conventionnelle, le col utérin d'environ 75% des brebis traitées. Cependant, aucune information précise sur les résultats de fertilité n'était alors présentée dans les études menées aux États-Unis. C'est suite à la lecture de cette publication que nous avons entrepris d'étudier cette nouvelle technique d'insémination. Les intérêts de cette technique transcervicale sont son coût peu élevé, sa facilité d'utilisation et la possibilité d'utiliser efficacement la semence congelée de bélier. Le développement d'une technique simple et peu coûteuse d'insémination

avec de la semence congelée permettrait d'assurer la persistance à long terme de l'insémination ovine et contribuerait à relever le potentiel génétique des troupeaux de tout le Québec.

Avant d'effectuer le projet chez Langis Croft, plusieurs essais ont été réalisés à la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière dans le but de vérifier le potentiel de l'ocytocine à dilater le cervix.

Le premier essai s'est déroulé en septembre 1993 (saison sexuelle) dans le but d'établir combien de temps prenait l'ocytocine à faire dilater le col pour permettre le passage de la tige d'insémination. Pour ce faire on a utilisé 6 brebis qu'on a synchronisées à l'aide d'éponges vaginales laissées en place 14 jours. Au retrait des éponges, 500 U.I. de PMSG ont été injectées de façon intramusculaire à chaque brebis. L'injection intraveineuse de 400 U.I. d'ocytocine a eu lieu environ 55 heures après le retrait de l'éponge. Nous avons ensuite fait des essais pour tenter de traverser le col à différents moments après l'injection. Ces tentatives ne nous ont pas permis d'identifier le temps idéal puisque nous n'avons pas été capable de traverser le col chez aucune des brebis. Suite à ce premier essai, nous avons communiqué avec le Dr. Lewis du Virginia Polytechnic Institute, qui nous a mentionné que normalement le col utérin se dilate environ 15 à 30 minutes après l'injection d'ocytocine.

Dans le cadre d'un projet de maîtrise réalisé en mars 1994 par l'étudiante Geneviève Castonguay, 70 brebis de race Arcott Outaouais ont été distribuées dans 3 groupes d'inséminations: cervicale, par laparoscopie et transcervicale. Elles ont été synchronisées à l'aide d'éponges vaginales laissées en place 14 jours. Au retrait des éponges, 350 U.I. de PMSG ont été injectées de façon intramusculaire à chaque brebis. Pour chaque groupe d'insémination nous avons évalué deux temps d'inséminations soit 50 et 62 heures après le retrait de l'éponge. Quinze à trente (15-30) minutes avant l'insémination transcervicale, les brebis ont reçu une injection intraveineuse de 300 U.I. d'ocytocine. Le dépôt intra-utérin (cervix complètement traversé) de la semence a été réussi chez 8 brebis des 23 utilisées (34.8%) dans le groupe d'insémination transcervicale. Cependant, le taux de succès a augmenté avec l'expérience de l'opérateur pour atteindre près de 60% dans le dernier sous-

groupe inséminé. Des 5 brebis gestantes, issues de ce groupe d'insémination, une seule provenait d'une insémination transcervicale complète, les 4 autres ayant été inséminées de façon cervicale (transcervicale non réussie). Ce qui porte le taux réel de gestation dans le groupe d'insémination transcervicale à 4%. Ces très faibles résultats, tant au niveau du passage de la tige d'insémination que du taux de fertilité des brebis, nous ont amené à faire un autre essai avant la réalisation du projet chez Langis Croft.

Suite à la lecture d'un article décrivant les effets positifs de l'«Atravet» (tranquillisant, Laboratoires Ayerst) combiné à l'ocytocine sur la dilatation du col utérin, nous avons décidé de tenter son utilisation en combinaison avec l'ocytocine pour la réalisation d'inséminations transcervicales. Cette avenue semblait prometteuse et c'est ainsi qu'en septembre 1994 (saison sexuelle), 5 brebis de race Romanov ont été utilisées pour tester la combinaison «Atravet»-ocytocine. Les brebis ont été synchronisées à l'aide d'éponges vaginales laissées en place 14 jours. Au retrait des éponges, 500 U.I. de PMSG ont été injectées de façon intramusculaire à chaque brebis. Les essais de pénétration de la tige d'insémination ont eu lieu environ 55 heures après le retrait de l'éponge. Vingt (20) minutes avant l'insémination, les brebis ont reçu une injection intraveineuse de 300 U.I. d'ocytocine ainsi qu'une injection intramusculaire de 0.25 cc d'«Atravet», 15 minutes avant l'insémination. Nous avons réussi à traverser le col utérin de toutes les brebis. Nous avons alors émis trois hypothèses pour expliquer ce succès: (1) combinaison heureuse de l'«Atravet» et de l'ocytocine; (2) meilleure dextérité de la part de l'insémineur, qui était le même depuis 1<sup>er</sup> essai; (3) un effet de race possible sur la facilité de dilatation du col. Quoiqu'il en soit, ces résultats encourageants nous ont amené à l'expérience effectuée chez Langis Croft, dont les résultats vous seront maintenant présentés.

### **3.2 Objectifs et hypothèses**

L'objectif de cette expérience était d'évaluer la technique d'insémination transcervicale par injection d'ocytocine. Les hypothèses de travail étaient:

1. L'injection d'ocytocine permet la dilatation du col utérin et le passage de la tige d'insémination;

2. L'insémination transcervicale permet d'atteindre un taux de fertilité égal à celui obtenu par laparoscopie.

### **3.3 Méthodologie expérimentale**

#### ***Choix des brebis***

Cent (100) brebis adultes principalement hybrides F1 1/2RV1/2SU (n=82) et également F2 1/2DP1/4SU1/4RV (n=10), 3/4DP1/4RV (n=3), 1/2DP1/2RV (n=1) et SU (n=4), qui ont agnelé au moins une fois, ont été utilisées pour cette expérience réalisée au mois de septembre 1994 (saison sexuelle). Les brebis avaient agnelé depuis au moins 70 jours et étaient tarées depuis au moins 3 semaines. L'âge moyen des brebis utilisées était de 4 ans.

#### ***Alimentation***

Les brebis ont été alimentées à volonté avec du foin sec (10-12% P.B.) pendant toute la durée de l'expérience. Durant la période du reconditionnement, 3 sem. avant à 3 sem. après l'insémination, les brebis recevaient entre 450 et 600 g/tête/j d'orge. La quantité d'orge a été ajustée en fonction de la qualité du fourrage servi de façon à rencontrer les besoins du NRC. Le programme alimentaire a été établi en fonction de la qualité des fourrages servis et de l'état de chair moyen des animaux. Les brebis avaient un poids moyen au début de la période de reconditionnement de 73.2 kg et un état de chair moyen de 2.8. À la fin de la période de reconditionnement, l'état de chair des brebis s'était accru d'environ un point et s'établissait à 3.7.

#### ***Évaluation et congélation de la semence***

La semence de 3 béliers Dorset a été utilisée comme semence congelée. La semence fraîche provenait de 3 béliers Dorset et un bélier Texel. La semence a été préparée par le Centre d'insémination ovine du Québec (CIOQ). Les béliers ont été récoltés à chaque semaine pour obtenir le nombre de doses requises pour la semence congelée. À chaque journée de récolte, la technicienne du CIOQ procédait à l'évaluation de la semence en fonction des critères suivants: la motilité massale, la motilité progressive, le pourcentage de survie et la morphologie des spermatozoïdes. Une évaluation de l'intégrité de l'acrosome (structure du spermatozoïde

nécessaire à la pénétration de l'ovule et donc indispensable pour assurer la fertilisation) a été faite par la méthode de l'érythrosine B qui consiste à colorer un frottis de spermatozoïdes avec un colorant rose. Ce colorant pénètre les parois de l'acrosome et s'accumule à l'apex du spermatozoïde pour donner une coloration rose foncée. Lorsque l'acrosome est absent ou endommagé, le colorant n'est pas retenu et l'apex du spermatozoïde devient rose pâle.

La semence a été ensuite diluée et congelée selon la méthode utilisée en France. Immédiatement après l'évaluation, la semence a été diluée à 30°C avec un diluant à base de lactose et de jaune d'oeuf. Environ 2 heures après la première dilution, une deuxième dilution a été faite à 4°C avec un diluant à base de poudre de lait écrémé et du glycérol. Vingt (20) minutes après cette dilution, une dernière dilution à 4°C (même diluant que dilution #2) permettait d'amener la semence à la concentration désirée. La mise en paillettes s'est faite à 4°C, 1 heure après la dilution finale. Les paillettes utilisées contenaient 0.25 ml de semence diluée avec une concentration finale de spermatozoïdes de 400 millions/paillette. La congélation s'est faite graduellement dans de l'azote liquide à -196°C.

La semence fraîche a été conditionnée selon la méthode standard du CIOQ (diluant BTS).

### ***Synchronisation hormonale***

Les brebis ont été synchronisées à l'aide d'éponges vaginales (« Véramix ») laissées en place pour une période de 14 jours. Au retrait des éponges, 500 U.I. de PMSG (« Équinex ») ont été injectées de façon intramusculaire à chaque brebis pour stimuler l'activité de l'ovaire et assurer une synchronisation plus précise de l'oestrus.

### ***Inséminations***

Les inséminations ont été réalisées environ 58 heures après le retrait de l'éponge (octobre 1994). La décongélation de la semence s'est faite juste avant l'insémination. On a retiré la paillette de l'azote liquide et on l'a submergé rapidement dans de l'eau à 38°C pour une durée d'environ 20 sec.

Les brebis ont été réparties dans trois traitements d'insémination:

1. Insémination par laparoscopie avec semence congelée;
2. Insémination transcervicale avec semence congelée, après injection d'ocytocine et d'«Atravet»;
3. Insémination transcervicale avec semence fraîche, après injection d'ocytocine et d'«Atravet»;

#### Insémination par laparoscopie:

Les laparoscopies ont été réalisées selon la procédure décrite dans « Technique de la laparoscopie » produit à la Ferme de recherche sur le mouton de La Pocatière et acceptée par le « Comité de protection et de bien-être des animaux » de cette institution. La moitié de la semence contenue dans la paillette a été déposée dans chaque corne utérine.

#### Insémination transcervicale avec semence congelée ou fraîche:

Toutes les brebis de ce traitement recevaient une injection intraveineuse de 200 U.I. d'ocytocine 30 minutes avant l'insémination et une injection intramusculaire d'«Atravet» de 0.25 cc au même moment. La brebis était ensuite placée sur un chevalet d'insémination. On a utilisé une tige d'insémination de 2 mm de diamètre. La semence a été déposée le plus loin possible, soit à l'entrée du cervix (si le col n'était pas traversé) ou dans l'utérus (plus de 7 cm de pénétration).

Pour s'assurer d'uniformiser le plus possible le nombre d'heures entre le retrait de l'éponge et l'insémination, nous avons divisé les brebis inséminées avec de la semence congelée en 4 groupes (Groupes 1 à 4) et celles inséminées avec de la semence fraîche en 2 groupes (Groupes 5-6).

#### ***Gestation***

Des échographies, autour de 60 jours de gestation, ont permis d'établir un diagnostic de gestation des brebis (décembre 1994). Ces informations ont ensuite été validées par l'agnelage.

### 3.4 Résultats

Le tableau 1 présente les résultats des 30 brebis 1/2RV1/2SU inséminées par laparoscopie avec semence congelée (traitement 1). Nous avons réalisé environ 8 laparoscopies à l'heure. Malgré le fait que nous ayons fait des groupes de synchronisation, on observe une augmentation du nombre d'heures entre le retrait de l'éponge et l'insémination du premier groupe au quatrième (57.5 vs 59.7 h), ce qui semble avoir eu un effet sur la fertilité des brebis (16.7 vs 66.7%). On constate donc que plus le nombre d'heures entre le retrait de l'éponge et l'insémination augmente et tend vers 60 h, plus le taux de fertilité des brebis augmente. On ne peut pas non plus écarter l'hypothèse qu'au fil des inséminations, l'inséminateur a amélioré sa technique. En général, on peut mentionner qu'un taux de fertilité de 53% après insémination par laparoscopie avec de la semence congelée se situe dans la moyenne des résultats publiés (entre 50 et 60%).

TABLEAU 1. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES DES BREBIS INSÉMINÉES PAR LAPAROSCOPIE AVEC DE LA SEMENCE CONGELÉE EN FONCTION DU GROUPE DE SYNCHRONISATION

Groupe/	1	2	3	4	Total
Nb brebis synchronisées	9	8	9	9	35
Nb brebis retirées	3	1	1	0	5
Nb brebis inséminées	6	7	8	9	30
Intervalle entre retrait de l'éponge et insémination (h)	57.5 ±0.1	58.0 ±0.3	59.0 ±0.2	59.7 ±0.1	58.7 ±0.2
Brebis gestantes à l'écho (%)	0 (0)*	42.9 (3)	62.5 (5)	66.7 (6)	46.7 (14)
Brebis agnelées (%)	16.7 (1)	57.1 (4)	62.5 (5)	66.7 (6)	53.3 (16)

\* % (nbre de brebis)

En ce qui concerne les brebis inséminées de façon transcervicale avec semence congelée après injection d'ocytocine (traitement 2), nous avons réussi à traverser le col utérin de 90% des brebis pour y déposer la semence (tableau 2). Cependant, malgré ce succès seule une brebis

sur les 27 inséminées de façon transcervicale a agnelé donnant un taux de fertilité globale de 3.3%.

TABLEAU 2. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES DES BREBIS INSÉMINÉES DE FAÇON TRANSCERVICALE AVEC DE LA SEMENCE CONGELÉE EN FONCTION DU GROUPE DE SYNCHRONISATION

<b>Groupe/</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>
Nb brebis synchronisées	9	9	8	9	35
Nb brebis retirées	4	1	0	0	5
Nb brebis inséminées	5	8	8	9	30
Intervalle entre insémination et retrait de l'éponge (h)	57.6 ±0.1	58.4 ±0.2	59.0 ±0.2	59.7 ±0.2	58.8 ±0.2
Intervalle entre ocytocine et insémination (min)	30.4 ±2.3	29.6 ±4.5	26.3 ±2.8	24.1 ±1.5	27.2 ±1.5
Brebis col traversé (%)	80.0 (4)*	100.0 (8)	87.5 (7)	88.9 (8)	90.0 (27)
Brebis gestantes à l'écho (%)**	0 (0)	12.5 (1)	0 (0)	0 (0)	3.3 (1)
Brebis agnelées (%)**	0 (0)	12.5 (1)	0 (0)	0 (0)	3.3 (1)

\* % (nbre de brebis)

\*\* Nbre de brebis gestantes ou agnelées/ Nbre de brebis inséminées de façon transcervicale

Sensiblement les mêmes résultats pour les brebis inséminées de façon transcervicale avec de la semence fraîche (traitement 3) où on a réussi à traverser le cervix chez près de 85% des brebis après l'injection d'ocytocine (tableau 3) alors qu'aucune d'entre elles n'a agnelé. On peut quand même conclure que la congélation de la semence n'est pas responsable des mauvais résultats de fertilité des brebis.

TABLEAU 3. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES DES BREBIS INSÉMINÉES DE FAÇON TRANSCERVICALE AVEC DE LA SEMENCE FRAÎCHE EN FONCTION DU GROUPE DE SYNCHRONISATION

Groupe/	5	6	Total
Nb brebis synchronisées	14	16	30
Nb brebis retirées	2	2	4
Nb brebis inséminées	12	14	26
Intervalle entre insémination et retrait de l'éponge (h)	57.3 ±0.1	57.9 ±0.0	57.6 ±0.1
Intervalle entre ocytocine et insémination (min)	47.6 ±4.2	25.5 ±1.7	35.8 ±2.9
Brebis col traversé (%)	66.7 (8)*	100.0 (14)	84.6 (22)
Brebis gestantes à l'écho (%)**	8.3 (1)	0 (0)	3.8 (1)
Brebis agnelées (%)**	0 (0)	0 (0)	0 (0)

\* % (nbre)

\*\* Nbre de brebis gestantes ou agnelées/ Nbre de brebis inséminées de façon transcervicale

Même si ce n'était pas le but de l'étude, nous nous sommes intéressés à savoir s'il pouvait exister un effet bélier dans la réussite des inséminations par laparoscopie. Trois béliers Dorset ont été utilisés soit le DP110, le DP109 et le DP203. Les résultats de fertilité ont été de 40.0% (4/10), 50.0% (5/10) et 70.0% (7/10) respectivement. Ces observations semblent confirmer qu'il existe une aptitude à la congélation de la semence qui varie d'un individu à l'autre comme démontré dans plusieurs études scientifiques.

### 3.5 Expérience complémentaire

#### *Justification*

Depuis la revue de littérature rapportée dans le protocole initial du projet, une seule autre publication s'était ajoutée aux travaux sur l'ocytocine. Sayre et Lewis (1994) rapportaient que

l'injection d'ocytocine n'avait pas eu d'effet sur le transport de la semence vers l'oviducte. Cependant, aucune évaluation de l'état des spermatozoïdes n'avait été faite. De plus, on ne rapportait aucune information sur la fertilité des brebis.

Les très faibles résultats de fertilité obtenus suite aux inséminations transcervicales pratiquées jusqu'alors (4% pour le projet de maîtrise et 3% dans l'expérience chez Langis Croft) semblaient indiquer que cette technique d'insémination affectait l'établissement ou le maintien de la gestation. Les étapes affectées et les causes pourraient être multiples: lieu de dépôt de la semence inapproprié, inhibition du transport des spermatozoïdes ou des ovules, diminution de la survie des spermatozoïdes ou des ovules, inhibition de la fécondation, mortalité embryonnaire hâtive élevée. De plus, l'effet de la manipulation du col n'a jamais été dissocié de l'effet de l'injection de l'ocytocine. Pour tenter de poursuivre la recherche entreprise et réaliser la seconde étape du projet chez Langis Croft, il était impératif d'identifier la ou les causes d'infertilité dans des expériences plus fondamentales. Cette expérience « complémentaire » ne faisait donc pas partie intégrante du projet initial mais voulait trouver une solution ou une explication qui aurait pu permettre une amélioration des taux de fertilité obtenus. L'expérimentation s'est déroulée à la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière.

### ***Objectifs***

Le premier objectif était d'évaluer l'effet d'une injection d'ocytocine sur le taux de fertilité des brebis sans manipulation du col utérin (insémination cervicale). Le deuxième objectif était de vérifier le véritable site d'insémination après avoir traversé le col et tenté par la suite d'évaluer la mobilité des spermatozoïdes.

### ***Choix des brebis***

Au total, 28 brebis adultes Arcott Outaouais (>2 ans) ont été utilisées pour cette expérience, 15 pour les inséminations transcervicales et 13 pour les cervicales. Les brebis étaient alimentées à volonté avec de l'ensilage de graminées de bonne qualité pendant toute la durée du projet.

### ***Évaluation de la semence***

La semence fraîche a été préparée par le Centre d'insémination ovine du Québec (CIOQ). Une technicienne du CIOQ procédait à l'évaluation de la semence pour les critères suivants: la motilité massale, la motilité progressive, le pourcentage de survie et la morphologie des spermatozoïdes. Les paillettes préparées avec le diluant « lait » contenaient 0.25 ml de semence avec une concentration de spermatozoïdes de 400 millions.

### ***Synchronisation hormonale***

Au mois d'août 1995, les chaleurs des brebis ont été synchronisées avec l'aide d'éponges vaginales (« Véramix ») laissées en place pour une période de 14 jours. Au retrait des éponges, 300 U.I. de PMSG (« Équinex ») ont été injectées de façon intramusculaire à chaque brebis du groupe d'insémination cervicale et 250 U.I. de PMSG au groupe d'insémination transcervicale.

### ***Inséminations***

Les inséminations ont eu lieu en septembre 1995.

#### Inséminations Cervicales:

Pour isoler l'effet de l'ocytocine des effets combinés potentiellement négatifs de l'ocytocine et de la manipulation du cervix, 13 brebis ont été inséminées de façon cervicale avec de la semence fraîche, 55 heures après le retrait de l'éponge. Sept (7) brebis ont été injectées avec 200 U.I. d'ocytocine 15 minutes avant l'insémination. Les 6 autres n'ont reçu aucune injection.

#### Inséminations Transcervicales:

Dix (10) inséminations transcervicales ont pu être faites au total entre 48 à 55 heures après le retrait de l'éponge. Les brebis recevaient une injection intraveineuse de 200 U.I. d'ocytocine 15 minutes avant l'insémination. Pour réaliser les inséminations, on a utilisé le chevalet d'insémination et le mini-pistolet (2 mm de diamètre). Une fois la semence injectée dans

l'utérus, la tige d'insémination a été laissée environ 10 secondes à l'intérieur de l'utérus de façon à minimiser l'effet de succion de la semence au moment du retrait de la tige. Quatre (4) brebis ont été inséminées de façon transcervicale avec des paillettes de méthyl violet 2% de façon à pouvoir identifier précisément le site d'insémination. Environ cinq minutes après l'insémination, les brebis ont été abattues et l'endroit d'insémination identifié.

Les six autres brebis ont été inséminées avec de la semence fraîche. Quatre (4) heures environ après l'insémination, 4 brebis ont été abattues et leur tractus récupéré. Le tractus a été découpé en plusieurs sections et son contenu lavé avec une solution saline de façon à récupérer les spermatozoïdes. Les 2 dernières brebis ont été abattues 30 jours après l'insémination.

### ***Résultats***

Les essais de pénétration de la tige ont été beaucoup plus difficiles que lors de l'expérience de Langis Croft. Ainsi, nous avons synchronisé 15 brebis au départ, mais il a été totalement impossible de passer la tige chez 5 brebis (taux de passage de 67%). Nous avons donc conservé 10 brebis pour la suite du projet.

Des quatre brebis inséminées de façon transcervicale avec le méthyl violet, une seule brebis a été inséminée au bon endroit, soit dans l'utérus. Une brebis a été inséminée dans le tissu de l'utérus, donc un peu trop profondément, et les deux autres ont été inséminées dans l'abdomen à travers la paroi du cervix. Ces résultats montrent que l'insémination transcervicale par injection d'ocytocine, lorsque le passage de la tige est difficile pour des raisons qui ne sont pas encore connues (race, saison, âge de la brebis ?), n'est pas une technique d'insémination efficace.

L'observation des tractus des 4 brebis abattues environ 4 heures après l'insémination avec semence fraîche, ne nous a pas permis de tirer des conclusions sur la présence de spermatozoïdes dans le tractus. Nous avons trouvé des spermatozoïdes dans un seul utérus et en très petite quantité. On peut penser que les inséminations n'ont pas eu lieu dans l'utérus

Les 2 dernières brebis ont été abattues 30 jours après l'insémination mais elles n'étaient pas gestantes.

Pour la deuxième partie de l'expérience qui voulait évaluer l'effet de l'injection d'ocytocine sur la fertilité, nos résultats montrent que 4 brebis sur 6 inséminées de façon cervicale sans injection d'ocytocine ont agnelé (67%) alors qu'une seule brebis a donné naissance à des agneaux sur les 7 injectées avec de l'ocytocine (14%). Les résultats de cette expérience semblent indiquer un effet néfaste de l'injection d'ocytocine sur la fertilité qui n'impliquerait pas nécessairement la manipulation du cervix. Cependant, les mécanismes physiologiques précis impliqués dans ce phénomène restent inconnus.

### **3.6 Discussion**

Les nombreux essais effectués depuis 1993 avec la technique d'insémination transcervicale démontrent que cette technique est loin de laisser entrevoir les succès que laissaient miroiter Khalika et Lewis en 1992. La dilatation du cervix après l'injection d'ocytocine est possible mais difficilement répétable d'une expérience à l'autre. Les résultats semblent varier d'une race à l'autre, d'une saison à l'autre et peut-être en fonction de l'âge de la brebis également. En plus de cette difficulté s'ajoute celle liée à la fertilité des brebis inséminées de façon transcervicale qui est quasiment nulle. D'ailleurs, dans un article publié en 1997 par Sayre et Lewis (*Theriogenology*, 48:267-275), le taux de fertilité obtenu par des brebis inséminées par la méthode transcervicale de l'ocytocine a été de 0%, résultats similaires à ceux que nous avons obtenus. Est-ce la manipulation du cervix qui affecterait certaines étapes de la fécondation ou est-ce simplement l'injection d'ocytocine. D'après nos résultats, il semblerait que ce soit l'injection d'ocytocine qui serait responsable. Cependant, Sayre et Lewis (1997) ont démontré que l'injection d'ocytocine a augmenté le nombre d'embryons récupérés dans les oviductes 3 jours après une insémination par laparoscopie (100% vs 56.7%) et n'a pas affecté le pourcentage d'embryons fertilisés. L'effet négatif de l'injection de l'ocytocine pourrait donc apparaître après le jour 3 de gestation, ce qui expliquerait nos faibles résultats de fertilité. Dans l'étude de Sayre et Lewis (1997), la manipulation du cervix lors des inséminations transcervicales a cependant considérablement réduit le taux de fertilisation des

ovocytes et ce, avec ou sans ocytocine. La manipulation du cervix ne semble pas affecter la montée des spermatozoïdes vers l'oviducte mais pourrait diminuer la survie des spermatozoïdes dans le tractus selon l'hypothèse de Sayre et Lewis (1997). Cependant, les événements physiologiques suivant la manipulation du cervix et menant à une baisse de fertilité dramatique demeurent inconnus.

À la suite des très faibles résultats de fertilité obtenus lors des différents essais sur l'insémination transcervicale, l'équipe de supervision en est venue à la conclusion qu'il existait encore beaucoup trop d'inconnus à maîtriser avant de pouvoir penser réaliser un autre essai dans des conditions commerciales. Le besoin d'effectuer une recherche beaucoup plus fondamentale sur la technique nous apparaissait évident. C'est pour cette raison que nous avons abandonné la phase 2 du projet et que nous nous sommes plutôt tournés vers une autre problématique importante liée à l'insémination: la synchronisation des chaleurs et particulièrement de l'ovulation.

## **4.0 Expérience «Synchronisation avec GnRH»**

### **4.1 Problématique**

Pour la synchronisation de l'oestrus en insémination, on utilise traditionnellement un traitement progestatif, une éponge vaginale, auquel on ajoute l'injection de PMSG qui permet de mieux synchroniser les ovulations. En plus des coûts importants que représentent l'utilisation de cette technique (7.00\$/brebis), on a récemment démontré que les brebis traitées à plusieurs reprises avec la PMSG développaient une réponse immunitaire, production d'anticorps anti-PMSG, qui diminuait leur taux de fertilité en insémination.

Depuis le développement de la méthode de synchronisation classique « éponge-PMSG », de nouveaux produits sont apparus sur le marché. La GnRH (« Gonadotrophin Releasing Hormone »), une hormone sécrétée de façon naturelle chez l'animal et qui contrôle le relâchement de deux autres hormones reliées à la croissance folliculaire et à l'ovulation (la LH et de la FSH), est depuis peu commercialement disponible sous forme synthétique. Le

principal argument qui justifie l'utilisation de la GnRH plutôt que la PMSG est que, puisqu'elle est reliée « naturellement » au mécanisme hormonal de l'animal en contrôlant le développement folliculaire et l'ovulation, son utilisation devrait permettre de réduire la variabilité de la réponse ovulatoire observée avec la PMSG. Des expériences conduites à l'automne 1996 à la Ferme de recherche sur le mouton d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à La Pocatière montraient que l'injection de GnRH à différents moments après le retrait de l'éponge provoquait le pic préovulatoire de LH, élément déclencheur des événements physiologiques menant à l'ovulation. Or, une des hypothèses qui expliquerait les résultats variables de fertilité en insémination artificielle à temps fixe serait la variabilité du moment de l'ovulation des brebis synchronisées. Ainsi en contrôlant le moment du pic de LH, par l'injection exogène de GnRH, on devrait donc obtenir de meilleurs taux de fertilité en insémination à temps fixe. Les expériences à La Pocatière tendent à démontrer que l'utilisation combinée de l'éponge vaginale et de la GnRH permet d'obtenir un taux de fertilité généralement plus élevé que le traitement traditionnel. L'injection de GnRH diminuerait donc les variations individuelles dans le moment de l'ovulation ce qui permettrait d'augmenter le nombre de brebis au meilleur stade de l'oestrus au moment de l'insémination. Dans ces expériences, on a montré que la race de la brebis a cependant un effet important sur les résultats. Le traitement combinant l'éponge et la GnRH est moins dispendieux que la synchronisation avec éponge et PMSG (4.60\$ vs 8.00\$). Cependant, aucun essai n'avait jamais encore été réalisé au printemps, période où la majorité des inséminations sont pratiquées au Québec. Nous avons donc décidé d'évaluer cette nouvelle technique de synchronisation dans le troupeau de Langis Croft.

## **4.2 Objectifs et hypothèses**

L'objectif de cette deuxième expérience était d'évaluer la méthode de synchronisation des chaleurs combinant l'éponge vaginale et la GnRH pour la réalisation d'inséminations pendant la période du printemps.

Les hypothèses étaient que chez des brebis synchronisées avec des éponges vaginales au printemps:

1. L'injection de PMSG est essentielle lorsqu'on utilise la GnRH lors de la synchronisation;

2. L'injection de GnRH augmente la fertilité des brebis.

### **4.3 Méthodologie expérimentale**

#### ***Choix des brebis***

Au mois de mars 1997, nous avons sélectionné 77 brebis adultes principalement hybrides F1 Romanov x Suffolk (1/2RV1/2SU, n=31) et également F2 Dorset x 1/2RV1/2SU (1/2DP1/4RV1/4SU, n=12) et Dorset x 1/2DP1/2RV (3/4DP1/4RV, n=24). Les plus récents agnelages des brebis remontaient au mois de novembre 1996 et les brebis étaient taries depuis au moins 3 semaines au moment de la pose des éponges. Au moment de la sélection, leur état de chair était supérieur ou égal à 2.0. Les brebis avaient agnelé depuis au moins 70 jours et étaient taries depuis au moins 3 semaines. Au moment de la pose des éponges, les brebis ont été regroupées par traitement dans trois parquets.

#### ***Alimentation***

Les brebis ont été alimentées à volonté avec du foin sec (12-13% P.B.) pendant toute la durée de l'expérience. Durant la période du reconditionnement, 3 sem. avant à 3 sem. après l'insémination, les brebis recevaient environ 1.0 kg/tête/j d'orge. La quantité d'orge à servir a été calculée en fonction de la qualité du fourrage de façon à rencontrer les besoins du NRC. Le programme alimentaire a été établi en fonction de la qualité des fourrages servis et de l'état de chair moyen des animaux. Les brebis avaient un poids moyen au début de la période de reconditionnement autour de 62 kg et un état de chair moyen de 2.4. À la fin de la période de reconditionnement, le poids des brebis était de 70 kg et l'état de chair des brebis avait augmenté à 3.3.

#### ***Traitements de synchronisation hormonale***

Les brebis ont été réparties selon trois traitements de synchronisation:

1. Éponges vaginales laissées en place pendant 14 jours. Au retrait, injection i.m. de 500 U.I. de PMSG (groupe témoin);
2. Éponges vaginales laissées en place pendant 14 jours. Au retrait, injection i.m. de 500 U.I. de PMSG. Injection i.m. de 50 µg de GnRH 48 h après le retrait;

3. Éponges vaginales laissées en place pendant 14 jours. Injection i.m. de 50 µg de GnRH 48 h après le retrait.

### ***Inséminations et gestation***

Les inséminations (mars 1997) avec de la semence fraîche ont eu lieu environ 55 h après le retrait des éponges pour le traitement 1. Pour les traitements 2 et 3, les inséminations ont eu lieu environ 65 h après le retrait des éponges. Des échographies, entre 35 et 45 jours de gestation, ont permis de vérifier la gestation (mai 1997). Ces informations ont été confirmées par les agnelages de septembre 1997.

## **4.4 Résultats**

Les résultats de fertilité sont similaires, environ 70%, pour le traitement témoin utilisant la PMSG seule, injectée au retrait de l'éponge, et le traitement combinant PMSG au retrait de l'éponge et GnRH 48 h après le retrait (tableau 4). Moins de 20% des brebis du traitement utilisant une injection unique de GnRH 48 h après le retrait de l'éponge (sans PMSG) ont été diagnostiquées gestantes lors de l'échographie. Il semble donc qu'à cette période de l'année, la PMSG soit essentielle à la croissance folliculaire suite au traitement avec éponge.

TABLEAU 4. PARAMÈTRES ZOOTECHNIQUES EN FONCTION DES TRAITEMENTS DE SYNCHRONISATION AVEC LA GNRH

<b>Traitement</b>	<b>PMSG§</b>	<b>PMSG + GnRH à 48 h §§</b>	<b>GnRH à 48 h §§</b>
Nb brebis synchronisées	26	26	25
Nb brebis retirées	0	0	1
Nb brebis inséminées	26	26	24
Nb diagnostics de gestation	24	26	22
Intervalle entre insémination et retrait de l'éponge(h)	54.7 ±0.0	64.7 ±0.0	64.8 ±0.1
Brebis gestantes (%)*	70.8 (17)**	69.2 (18)	18.2 (4)
Brebis agnelées (%)	-	-	-

\* Manque 4 brebis car pas de diagnostic de gestation

\*\* % (nbre de brebis)

§ Insémination à 55h

§§ Insémination à 65 h

En poussant un peu plus loin l'analyse et en regardant l'effet des traitements en fonction des croisements de brebis (tableau 5), on peut constater que les croisements moins prolifiques (1/4 de sang RV- 3/4DP1/4RV et 1/2DP1/4RV1/4SU) obtiennent de meilleurs résultats de fertilité avec le traitement PMSG+GnRH. À l'inverse, le croisement plus prolifique 1/2RV1/2SU performe exceptionnellement mieux avec le traitement sans GnRH qu'avec le traitement PMSG+GnRH (100% vs 40%). Le traitement GnRH seule donne de mauvais résultats avec tous les types de brebis. À remarquer que le temps d'insémination entre le traitement PMSG et PMSG+GnRH n'était pas le même (55h vs 65h) et que ce paramètre pourrait avoir une importance sur les différences de fertilité obtenue. En d'autres termes, une insémination faite à 55h pourrait favoriser les croisements prolifiques et défavoriser les croisements moins prolifiques. Le fondement de cette hypothèse se trouverait dans les différences souvent rapportées au niveau de la dynamique folliculaire et hormonale entre les types de brebis prolifiques et non-prolifiques.

TABLEAU 5. FERTILITÉ DES BREBIS POUR CHAQUE TRAITEMENT DE SYNCHRONISATION AVEC LA GNRH EN FONCTION DES PRINCIPALES RACES DE BREBIS\*

Traitement §§	PMSG§	PMSG + GnRH à 48 h §§	GnRH à 48 h
3/4DP1/4RV	66.7 (4/6)**	88.9 (8/9)	25.0 (2/8)
1/2DP1/4RV1/4SU	40.0 (2/5)	100.0 (4/4)	0.0 (0/3)
1/2RV1/2SU	100.0 (10/10)	40 (4/10)	22.2 (2/9)

\* Manque 4 brebis car pas de diagnostic de gestation

\*\* % (nbre de brebis gestantes/nbre de brebis inséminées)

§ Insémination à 55h

§§ Insémination à 65 h

Nous avons également regardé l'effet du bélier comme facteur d'explication de réussite ou d'échec à l'intérieur de chaque traitement (tableau 6). Il est difficile de conclure sur ce point étant donné le nombre peu élevé de paillettes utilisées dans certain traitement.

TABLEAU 6. FERTILITÉ DES BREBIS POUR CHAQUE TRAITEMENT DE SYNCHRONISATION AVEC LA GNRH EN FONCTION DES BÉLIERS UTILISÉS\*

Traitement	PMSG§	PMSG + GnRH à 48 h §§	GnRH à 48 h §§
GOU 3E	100.0 (3/3)**	66.7 (2/3)	50.0 (1/2)
GOU 4E	88.9 (8/9)	83.3 (10/12)	30.0 (3/10)
MFR 50C	55.6 (5/9)	57.1 (4/7)	0.0 (0/6)
NC 118D	33.3 (1/3)	50.0 (2/4)	0.0 (0/4)

\* Manque 4 brebis car pas de diagnostic de gestation

\*\* % (nbre de brebis gestantes/nbre de brebis inséminées)

§ Insémination à 55h

§§ Insémination à 65 h

#### 4.5 Discussion

Les résultats de cette expérience démontrent que l'injection de GnRH peut avoir des effets bénéfiques sur la fertilité, mais que cet effet est variable d'un type de brebis à l'autre. Les croisements moins prolifiques inséminés à 65 h obtiennent de meilleurs résultats de fertilité avec une injection de GnRH à 48 h après le retrait des éponges, alors que les brebis plus prolifiques performant très bien avec le traitement sans GnRH avec une insémination à 55 h. Ces résultats concordent bien avec les résultats de d'autres expériences menées par François Castonguay (AAC), Jacques Dufour et Jean-Paul Laforest (Université Laval) qui démontrent un effet important de la race sur les traitements de synchronisation pour l'insémination. Pour arriver à formuler des recommandations claires sur le traitement de synchronisation à préconiser pour chaque type de brebis (prolifique et non-prolifique), il serait important de vérifier l'effet du temps d'insémination sur les résultats de fertilité.

#### 5.0 Conclusion

Les résultats présentés dans ce projet démontrent que la technique d'insémination transcervicale par injection d'ocytocine demande encore des mises au point importantes et de

la recherche avant d'espérer être utilisée chez les producteurs. Plusieurs expériences fondamentales devront être réalisées pour comprendre les phénomènes physiologiques qu'entraînent l'injection de l'ocytocine et/ou la manipulation du cervix. De notre côté, nous ne comptons pas continuer à développer cette technique puisque d'autres équipes de chercheurs travaillent sur cette problématique (Lewis aux États-Unis et Buckrell à Guelph).

Par contre, nous croyons que l'utilisation de la GnRH pour la synchronisation des ovulations constitue une avenue intéressante pour améliorer les résultats en insémination. Les essais effectués à ce jour nous permettent d'envisager des résultats intéressants au cours des prochaines années.