

RAPPORT FINAL

Développer une expertise en cryoconservation de la semence adaptée aux besoins de l'industrie caprine québécoise

Titre du projet

6381

Numéro du projet

Société des Éleveurs de Chèvres Laitières de Race du Québec

Nom du demandeur

5 septembre 2010 au 31 mai 2011

Période couverte par le rapport

Rédigé par Janice Bailey, Professeur, Université Laval (Chargé de projet)

Nom et fonction du rédacteur

18 mai 2011

Date de dépôt du rapport d'étape

Le rapport final transmis au CDAQ en version papier et Word doit inclure:

- les biens livrables décrits à l'annexe C de la convention de contribution financière;
- les pièces justificatives, numérotées, portant la mention payée et inscrites dans le document Plan de financement et conciliation des dépenses;
- les copies des documents de diffusion produits faisant mention de la contribution du programme.

Table des matières

1. OBJECTIFS	3
1.1 Objectif général	3
1.2 Objectifs spécifiques	3
2. RÉSULTATS ET ANALYSE	4
2.1 Résultats obtenus et analyse	4
3. CONCLUSIONS	23
4. HISTOIRE D'UNE RÉUSSITE	27
5. PLAN DE FINANCEMENT ET CONCILIATION DES DÉPENSES	29
6. ANNEXES	30

Annexes à ajouter, s'il y a lieu

1. OBJECTIFS

1.1 Objectif général

Développer une expertise en cryoconservation de la semence de boucs afin de définir un protocole adapté aux besoins de l'industrie caprine du Québec et d'encourager l'utilisation de l'insémination artificielle au Québec. L'importance éventuelle de ces objectifs généraux est que l'insémination artificielle avec la semence des boucs de qualité génétique importante favorisera l'amélioration génétique et augmentera la productivité du secteur de chèvre de lait.

1.2 Objectifs spécifiques

- (1) Entraîner des boucs au Centre de recherche en sciences animales à Deschambault (CRSAD) pour la récolte de semence sans électroéjaculation ;
- (2) Caractériser les paramètres de la semence fraîche selon les critères traditionnels (estimation de la motilité spermatique) ainsi que des paramètres non traditionnels (mobilité détaillée à l'aide de l'ordinateur et système Hamilton-Thorne (« Computer-assisted sperm analysis »), viabilité et fonction membranaire, stabilité de la chromatine; niveau de calcium spermatique) sur les boucs au CRSAD en saison de reproduction et en contre-saison ;
- (3) Comparer et optimiser les techniques de cryoconservation de la semence provenant de la littérature et des collaborateurs à Agriculture et Agroalimentaire Canada à Saskatoon, SK et à l'United States Department of Agriculture National Germplasm Laboratory à Fort Collins, Colorado ;
- (4) Caractériser la qualité de la semence caprine post-dégel selon les critères traditionnels ainsi que des paramètres non traditionnels ;
- (5) Comparer les paramètres de la semence post-dégel des boucs au CRSAD en saison de reproduction et en contre-saison pour savoir si une saison en particulière devrait être ciblée pour les récoltes ;
- (6) Mettre à l'essai le pouvoir fécondant de la semence cryoconservée par l'insémination artificielle de chèvres au CRSAD et ce, avec les chèvres synchronisées ou non à l'aide des hormones exogènes ;
- (7) Tester le protocole de récolte et de cryoconservation de semence en milieu commercial chez les producteurs québécois afin de caractériser plus largement la semence et de s'assurer que le protocole et le pouvoir fécondant soient à l'optimum ;
- (8) Développer une expertise québécoise sur la semence et l'insémination caprine afin de bien positionner le secteur et lui permettre de saisir de nouvelles opportunités (ex : exploiter le marché canadien, accéder au marché international, se préparer pour d'autres techniques tels que le transfert embryonnaire).

2. RÉSULTATS ET ANALYSE

2.1 Résultats obtenus et analyse

Objectif 1 : Planification et l'entraînement des boucs au CRSAD

Les étudiantes ont été embauchées (Julie Bernier et Geneviève Maher) et les boucs ont été sélectionnés et transférés dans un berger équipé à un laboratoire disposé spécifiquement pour l'étude au CRSAD (Figure 1).

La récolte des boucs s'est effectuée 2-3 fois par semaine à l'aide de plusieurs chèvres en œstrus.



Figure 1 : Photographies des installations au CRSAD

Objectif 2 : Caractériser les paramètres de la semence des boucs selon les différentes photopériodes

Une photopériode de 6 semaines a été choisie pour minimiser les effets négatifs des jours longs, qui correspondent à la période d'inactivité sexuelle.

Sept boucs adultes de race Alpine ont été logés au Centre de Recherche en Sciences Animales de Deschambault (CRSAD, Deschambault, Québec, Canada, 46° 48' -1" N, 71° 12' -1" E). Les boucs ont été soumis à une photopériode de 6 semaines de JC suivi de 6 semaines de JL (Delgadillo et al., 1991, 1993, 1995) pendant 14 mois. La durée des cycles journaliers était de 8 h de lumière en période de JC et 16 h de lumière en période de JL. La photopériode a été mise en place 2 mois avant le début des récoltes.

La circonférence scrotale et la qualité de semence sont suivies deux fois par 6 semaines de chaque photopériode (Figure 2).

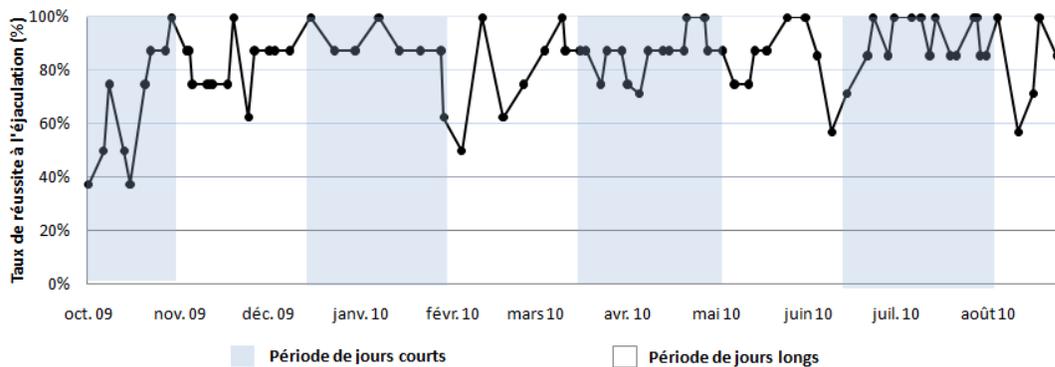


Figure 2 : Taux de réussite à l'éjaculation en fonction des jours courts et longs.

Au total, 102 tests d'éjaculation pour chacun des 7 boucs ont été réalisés de septembre 2009 à août 2010. La moyenne de réussite à l'éjaculation sur une période de 1 an a été de 83,6 % ($\pm 12,4$ %). La réussite aux tests d'éjaculation varie de 63,7 % à 96,1 % selon les boucs.

Au total, 64 mesures de circonférences scrotales ont été prises tout au long de l'année. La circonférence scrotale moyenne des boucs a été de 30,84 cm (± 2.34 cm). La moyenne de circonférence scrotale annuelle pour chaque bouc varie de 28,58 à 32,11 cm. Pendant l'année les mesures de circonférences scrotales ont varié de 24,9 à 35,6 cm selon les boucs (Figure 3).

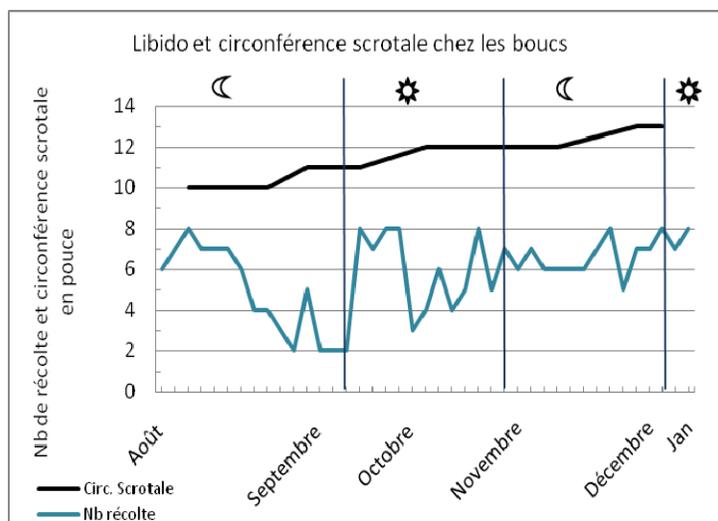


Figure 3 : Libido et circonférence scrotale en fonction de la période.

La qualité de la semence fraîche est présentée dans la Figure 4 et Tableau 1. Aucune différence significative entre les paramètres de qualité de semence et la phase de photopériode n'est observée.

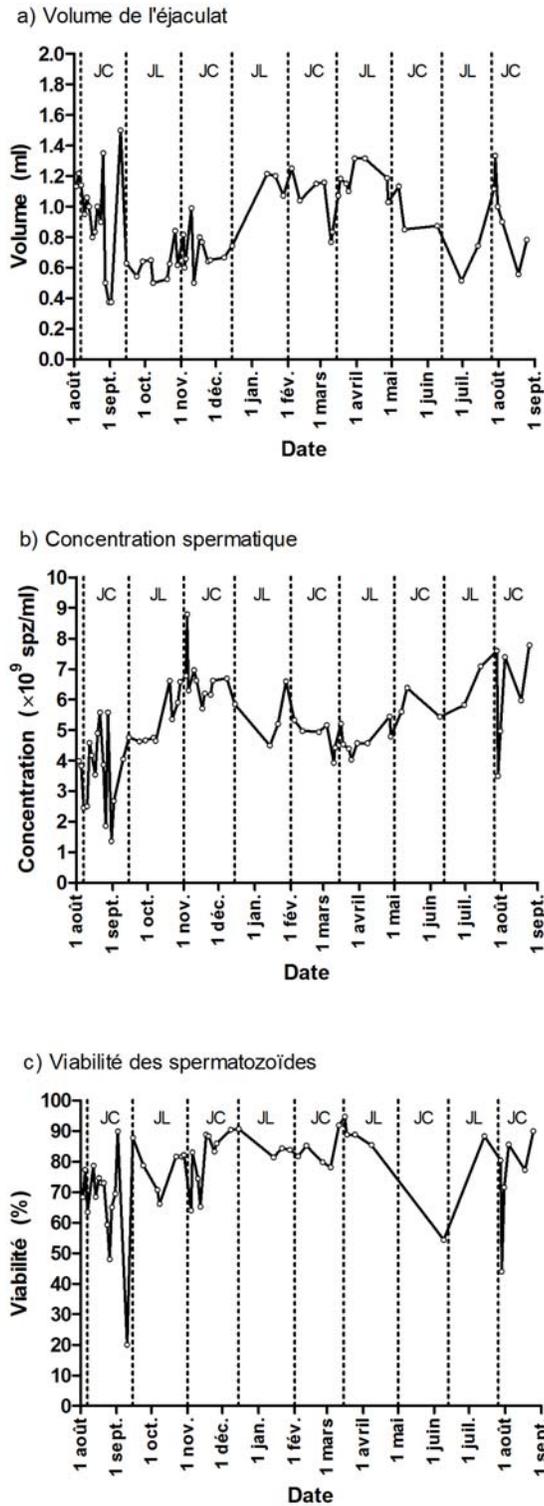


Figure 4 : Variation du volume, de la concentration spermatique et de la viabilité moyenne des spermatozoïdes de la semence fraîche de boucs tout au long de l'année. Les boucs étaient soumis à une photopériode de 6 semaines de JC suivi de 6 semaines de JL.

Tableau 1 : Caractéristiques de la semence fraîche des boucs sous photopériode de 6 semaines de JC et de JL consécutif pendant 1 an (n = 596 éjaculats).

Caractéristique de la semence fraîche	Minimums observés	Maximums observés	Moyennes annuelles tous boucs confondus
Volume (mL)	0,10	2,80	0,89 ± 0,45
Concentration (spz x 10 ⁹)	0,39	11,37	5,7 ± 1,81
Motilité (0 à 5)	3,9/5	0/5	5/5 ± 0,96/5
Viabilité (%)	15,5	99,5	79,41 ± 15,54

La qualité de la semence décongelée a été analysée, mais aucune différence significative n'est détectée entre la qualité de la semence et la phase de photopériode.

Conclusion : Bien que la qualité de semence varie, une photopériode de 6 semaines permet une spermatogénèse relativement stable.

Objectif 3 : Comparer et optimiser les 2 techniques de cryoconservation de la semence et Objectif 4 : Caractériser la qualité de la semence caprine post-dégel selon les critères traditionnels ainsi que des paramètres non traditionnels

Pour tester l'hypothèse que les diluants à base d'œuf ou de lait influencent différemment la qualité spermatique et le pouvoir fécondant de la semence de boucs, les éjaculats ont été divisés en 2 fractions et cryoconservés selon ces deux protocoles. Les paillettes ont été décongelées et les la qualité spermatique a été notée : mobilité (plusieurs paramètres), viabilité cellulaire, fonction mitochondriale et le taux de spermatozoïde ayant une membrane acrosomale intacte). Ces expériences ont été répétées au moins 8 fois pour chacun des 8 boucs.

Nous avons développé des techniques pour bien évaluer la fonction spermatique in vitro selon les essais innovateurs et non-traditionnels.

- Motilité à l'aide de l'ordinateur (système Hamilton-Thorne; sept paramètres);
- Viabilité à la fluorescence (Live/Dead, SYBR14 et iode de propidium par cytométrie en flux);
- Essai de fluorescence à la chlorotétracycline et/ou à la lectine Pisum sativum conjugué à la fluorescein isothiocyanate (PSA-fitc) pour analyser l'état fonctionnel de la membrane spermatique;
- Dosage du calcium intracellulaire des spermatozoïdes (fluorescence de la sonde, indo-1, par cytométrie en flux);
- Analyse de la stabilité de la structure de la chromatine spermatique (acridine orange par cytométrie en flux);
- Établir le profil protéique des spermatozoïdes de la semence (pour voir des marqueurs de fertilité putatif

Les caractéristiques de la semence fraîche se retrouvent dans le Tableau 2 et la Figure 5 et les caractéristiques de la semence décongelée dans les Tableaux 3 et 4.

Tableau 2 : Caractéristiques de la semence fraîche de 7 boucs alpins (n = 28 éjaculats)

Paramètres	Moyenne	SEM
Volume (mL)	0.92	0.07
Concentration ($\times 10^9$ spz/mL)	5.3	0.35
Motilité (0-5)	4.3	0.13
Viabilityé(%)	89.8	1.34
Acrosomes intacts (%)	93.2	0.84

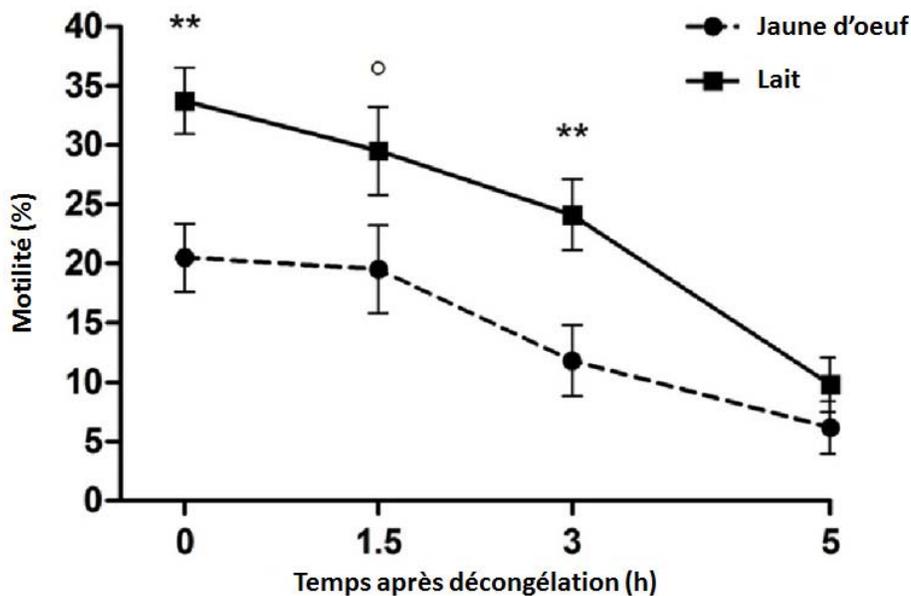


Figure 5 : Motilité des spermatozoïdes après la cryoconservation par le protocole de lait ou le jaune d'oeuf. (P<0.10; **P<0.01).

Tableau 3 : Moyenne des caractéristiques de motilité (\pm erreur standard) de la semence décongelée provenant du même éjaculat de semence congelée, et ce dans le jaune d’œuf (JO) ou le protocole à base de lait (Lait). Le processus impliquant le protocole de lait donne des paramètres de MS et LHD à 0 h après décongélation. (n =28 éjaculats *P<0.05).

Paramètres	Temps après décongélation (h)								SEM	P-value		
	0		1.5		3		5			Trt ^z	Temps	Temps× Trt
	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait				
MS (%)	20.5 ^a	33.7 ^b	19.5	29.5	11.8 ^a	24.1 ^b	6.2	9.8	3.7	0.0140	< 0.0001	0.0019
RPMS (%)	9.5	10.2	7.9	12.0	3.8	7.2	1.5	1.5	1.9	0.1727	< 0.0001	0.0920
LHD (µm)	6.6 ^a	5.5 ^b	6.9	6.2	6.7	6.6	6.7	7.3	0.3	0.2384	0.0050	0.0225
BCF (Hz)	32.4	33.7	32.2	34.3	30.9	30.2	32.6	30.5	1.3	0.9176	0.0116	0.1694
LIN (%)	45.0	49.7	46.4	48.1	43.5	42.1	45.0	42.1	2.1	0.7815	0.0156	0.1787
STR (%)	74.8	78.0	76.2	78.3	74.8	74.3	74.5	74.2	1.7	0.4759	0.1175	0.5643
VAP (µm/s)	93.9	88.5	89.4	84.7	74.4	66.8	63.2	53.9	6.3	0.3048	< 0.0001	0.9427
VCL (µm/s)	157.2	141.1	151.6	141.0	118.8	120.2	115.5	100.8	9.2	0.2615	< 0.0001	0.4630
VSL (µm/s)	74.6	72.7	73.8	70.6	60.2	52.2	48.8	41.5	6.0	0.4195	< 0.0001	0.8910

MS, spermatozoïde mobile; RPMS, rapid et progressif spermatozoïde motile; LHD, amplitude du déplacement latéral de la tête; BCF, Fréquence de battement de la tête; LIN, linéarité; STR, Déplacement en ligne droite; VAP, vitesse tangentielle moyenne VSL, vitesse curviligne; VSL, Vitesse en ligne droite^z Trt: Traitement (protocole de cryoconservation)

^{a,b} quand l’interaction Temps x Trt est significatif, valeurs Trt à l’intérieur de la décongélation diffère significativement (P < 0.05).

Tableau 4 : Les caractéristiques des membranes et des mitochondries de la semence décongelée de la même semence congelée dans les protocoles de lait de JO. Le protocole de lait donnant les meilleurs paramètres après 3 et 5 h (n =28 éjaculats).

Paramètres	Temps après décongélation (h)								SEM	P-value		
	0		1.5		3		5			Trt ^z	Temps	Temps × Trt
	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait				
Vivant avec acrosome intact (% de spz vivants)	50.0	57.9	50.1	57.4	44.7	55.1	36.7	49.4	3.6	0.0383	< 0.0001	0.4816
Total avec acrosome intact (%)	34.5	41.0	34.0	41.1	30.6	38.0	24.1	34.8	2.3	0.0079	< 0.0001	0.5149
Total spz vivant (%)	32.1	35.9	32.9	34.8	30.6	31.8	21.9 ^a	29.0 ^b	2.4	0.1795	< 0.0001	0.0869
Mitochondrie dépolarisée (%)	25.4	24.5	32.4 ^a	25.1 ^b	47.8 ^a	30.1 ^b	52.2 ^a	34.1 ^b	1.9	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Mitochondrie en dépolarisation(%)	14.7	11.8	14.2	11.6	25.3	22.3	22.5	17.1	1.6	< 0.0001	< 0.0001	0.7270
Mitochondrie polarisée (%)	60.4	63.5	49.5 ^a	64.5 ^b	20.4 ^a	44.3 ^b	24.6 ^a	48.2 ^b	2.7	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

^zTrt: Traitement (protocole de cryoconservation)

^{a,b} quand l'interaction Temps x Trt est significatif, valeurs Trt à l'intérieur de la décongélation diffèrent significativement ($P < 0.05$).

Objectif 5 : Comparer les paramètres de la semence postdégel des boucs au CRSAD en saison de

L'utilisation d'une photopériode à cycle court de 6 semaines permet une stabilité tout au long de l'année de la qualité spermatique ainsi que de l'activité sexuelle des boucs. Cette stabilité minimise les effets délétères des JC telles : la perte de libido, la diminution de la circonférence scrotale, la qualité et l'aptitude à la congélation de la semence. Cependant, il ne faut pas oublier que cette stabilité minimise également les effets positifs des JC sur la semence. Cette étude a permis d'observer les caractéristiques de la semence fraîche et congelée des boucs issue de troupeaux québécois. Elle a également démontré l'efficacité d'une photopériode de 6 semaines chez les boucs (Figure 6).

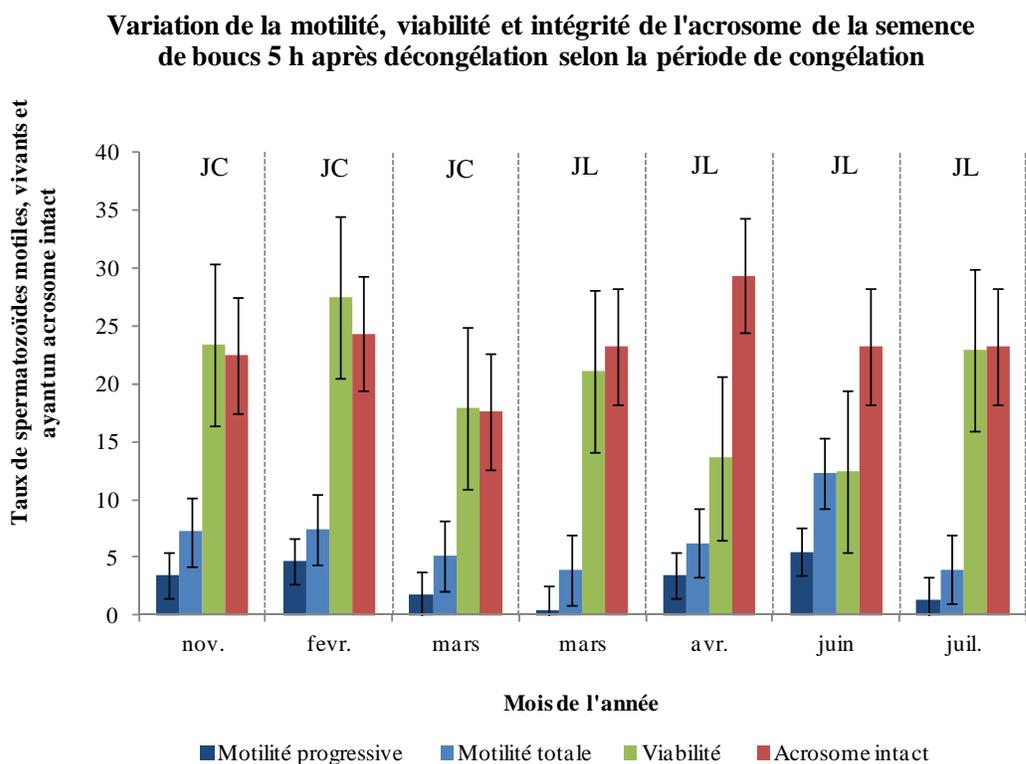


Figure 6 : Variation de la qualité e la semence de bouc 5 h après décongélation selon la période de congélation. Les boucs étaient soumis à une photopériode de 6 semaines de JC suivi de 6 semaines de JL.

Objectif 6 : Mettre à l'essai le pouvoir fécondant de la semence cryoconservée par l'insémination artificielle de chèvres au CRSAD

Pour tester l'hypothèse que les diluants à base d'œuf ou de lait influencent différemment le pouvoir fécondant de la semence de bouc, les éjaculats ont été récoltés et divisés en deux. Chaque partie a été cryoconservée selon le protocole de lait ou de jaune d'œuf. Les paillettes ont été dégelées et les éjaculats démontrant le moins de variabilité entre les deux protocoles de cryoconservation ont été sélectionnés pour inséminer les chèvres du troupeau au CRSAD. Les chaleurs ont été synchronisées à l'aide des CIDR selon notre protocole déjà établi. Deux séries d'inséminations ont été effectuées, dont une en décembre 2009 et une en mai 2010.

En décembre 2009, seulement 1 chèvre (7 %) est devenue gestante avec la semence cryoconservée dans le jaune d'œuf, mais la motilité a été seulement dans l'ordre de 10 %. Quatre chèvres (37 %) ont été gestantes suite de l'insémination avec la semence dans le lait et les motilités ont été 30 et 40 %.

Les caractéristiques moyennes de motilité, de viabilité, d'intégrité de l'acrosome et d'intégrité des mitochondries de la semence décongelée sont présentées dans les Tableaux 5 et 6. Cette semence a été sélectionnée de 4 éjaculats de différents boucs ayant été congelés selon les deux protocoles de congélation (JO et Lait). Notre sélection a été effectuée selon les caractéristiques analysées qui se ressemblaient le plus entre les deux protocoles pour réduire les effets potentiels sur la fertilité.

Les éjaculats utilisés pour les IA avaient les caractéristiques de semence fraîche cuvant : Volume (1.1 mL \pm 0.17), Concentration spz (4.75×10^9 spz/mL \pm 1.54), motilité (4.5/5 \pm 0.41), viabilité (85.63 % \pm 8.44), Acrosome intact (91.50 % \pm 6.65).

La semence congelée sous le protocole de lait avait une motilité significativement plus élevée (37.1 %) en comparaison avec le JO (23.4 %). De plus, le protocole de lait démontre une tendance à avoir une meilleure rapidité de motilité progressive à 5 heures après décongélation (P = 0.10).

ÉTUDE 1 : Insémination avec semence congelée dans le lait et le Jaune d’œuf.

Voici les paramètres de la semence utilisée pour les IA.

Tableau 5 : Paramètres de motilité de la semence décongelé des 4 éjaculats utilisés pour les IA, chacun congelé dans le JO ou le lait.

Paramètres	Temps après décongélation (h)								SEM	P-value		
	0		1.5		3		5			Trt ^z	Temps	Temps × Trt
	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait				
MS (%)	36.0	46.0	34.3	46.5	19.3	40.5	4.3	15.5	6.8	0.0219	<0.0001	0.7025
RPMS (%)	20.3	13.0	14.0	22.4	9.3	13.8	0.0	4.5	4.3	0.3727	<0.0001	0.1061
LHD (µm)	7.3	6.2	8.2	6.6	7.0	6.8	0.6 ^a	7.4 ^b	0.4	0.0228	<0.0001	<0.0001
BCF (Hz)	32.2	29.4	28.5	33.6	28.2	29.9	25.5	31.1	2.2	0.2423	0.4890	0.1029
LIN (%)	47.5	44.8	42.3	50.8	39.0	49.0	34.4	42.4	3.3	0.0785	0.1150	0.1030
STR (%)	79.3	78.0	74.8	83.3	72.3	79.3	61.4	72.0	2.7	0.0352	0.0007	0.1051
VAP (µm/s)	95.5	67.3	91.2	88.1	64.4	66.8	32.2	45.5	8.3	0.5409	<0.0001	0.0710
VCL (µm/s)	167.3	119.3	167.9	148.4	123.7	115.2	56.2	88.4	13.0	0.2584	<0.0001	0.0290
VSL (µm/s)	80.1	53.9	72.1	75.9	48.7	54.3	20.9	34.0	8.1	0.8799	<0.0001	0.0594

MS, spermatozoïde mobile; RPMS, rapid et progressif spermatozoïde motile; LHD, amplitude du déplacement latéral de la tête; BCF, Fréquence de battement de la tête; LIN, linéarité; STR, Déplacement en ligne droite; VAP, vitesse tangentielle moyenne VSL, vitesse curviligne; VSL, Vitesse en ligne droite

^zTrt: Traitement (protocole de cryoconservation)

^{a,b} quand l’interaction Temps x Trt est significatif, valeurs Trt à l’intérieur de la décongélation diffèrent significativement ($P < 0.05$).

Tableau 6 : Paramètres de membrane et des mitochondries de la semence décongelée des 4 éjaculats utilisés pour les IA, chacun congelé dans le JO ou le lait.

Paramètres	Temps après décongélation (h)								SEM	P-value		
	0		1.5		3		5			Trt ^z	Temps	Temps × Trt
	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait	JO	Lait				
Vivant avec acrosome intact (% de spz vivants)	70.6	73.6	70.1	73.9	70.4	73.7	50.1	69.5	5.5	0.0558	0.0409	0.1901
Total avec acrosome intact (%)	45.3	45.5	45.2	47.4	44.7	45.1	25.9 ^a	43.5 ^b	3.0	0.0432	0.0001	0.0198
Total spz vivant (%)	36.5	42.5	36.8	43.9	36.2	35.5	18.4 ^a	36.3 ^b	4.0	0.0797	0.0002	0.0072
Mitochondrie dépolarisée (%)	26.8	26.3	36.9	28.3	54.0 ^a	30.9 ^b	53.3 ^a	34.1 ^b	3.0	0.0083	0.0020	0.0079
Mitochondrie en dépolarisation(%)	15.4	14.9	17.3	19.0	32.6	29.9	34.3 ^a	17.3 ^b	2.1	0.0691	<0.0001	<0.0001
Mitochondrie polarisée (%)	57.8	58.8	48.4	55.1	18.1 ^a	43.6 ^b	23.2 ^a	54.4 ^b	4.3	0.0022	0.0015	0.0362

^z Trt: Traitement (protocole de cryoconservation)

^{a,b} quand l'interaction Temps x Trt est significatif, valeurs Trt à l'intérieur de la décongélation diffère significativement ($P < 0.05$)

FERTILITÉ :

Les Tableaux 7, 8 et 9 résument les caractéristiques de chaque chèvre pour chacun des groupes d'IA ainsi que les résultats des IA en fonction des deux protocoles. Il n'y a pas de différences significatives.

Tableau 7 : Facteurs de variations de la gestation pour les taux d'IA avec la semence congelée.

Paramètres	Traitements		SEM	P-value
	JO	Lait		
Femelles synchronisées (n)	18	17		
Poids net (kg)	59.8	62.2	2.0	0.3805
Pointage de la condition	3.1	3.3	0.2	0.5029
Âge à l'IA (an)	2.9	3.1	0.3	0.6318
Nombre de lactation	2.2	2.2	0.2	
Prolifération antérieure	1.8	1.9	0.1	0.3152
Jour en lait en IA (DIM)	229	226	16	0.9067
Production de lait en 305j (kg)	814.2	843.4	35.0	0.5544

Tableau 8 : Performance de reproduction après IA avec le protocole de JO et de lait.

Paramètres	Traitements		SEM	P-value
	JO	Lait		
Femelles inséminées (n)	15	17		
% taux de gestation (n)	40.0 (6/15)	70.6 (12/17)		0.0766
% de taux de mise bas (n)	42.9 (6/14)	70.6 (12/17)		0.1042
Enfants par femelles	2.5	2.0	0.4	0.3555

Tableau 9 : Gestation moyenne et nombre de chevreaux/chevrettes selon le protocole.

Ejaculats	Femelles inséminées (n)	JO		Lait	
		Taux de gestation (n)	Taux de mise bas % (n)	Taux de gestation (n)	Taux de mise bas % (n)
1	4	50 (2/2)	100 (1/1)	0 (0/2)	0 (1/2)
2	8	0 (0/3)	0 (0/3)	60 (3/5)	60 (3/6)
3	10	20 (1/5)	20 (1/5)	100 (5/5)	100 (5/5)
4	10	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)	80 (4/5)

Les échographies ont été effectuées avant le traitement de synchronisation pour détecter les cas de pseudogestations. Aucune femelle n'ayant démontré de pseudogestation. Avant les inséminations, les femelles étaient soumises à une synchronisation de l'oestrus par utilisation des CIDR (n=35) et 94.31 % (n = 33) ont répondu en démontrant un oestrus. Les échographies après 40 jours suivants les IA ont révélé qu'une chèvre a donné une pseudogestation. Cette chèvre a par la suite été éliminée de la recherche. Les échographies ont aussi démontré un taux de gestation de 42.9 % avec la semence congelée dans le protocole de JO (n = 15) et 70.6 % avec le protocole de lait (Tableau 8; P = 0.1042). Durant la gestation une chèvre ayant été inséminé avec la semence congelée dans le JO, a été perdue avant la mise bas. Cet animal a été exclu du protocole de JO abaissant l'échantillonnage à 14.

Le protocole de lait démontre une tendance à donner un taux de mise bas plus élevé en comparaison avec le JO (Table 8; P = 0.0766). Le nombre de bébés par femelle n'est pas différent entre les deux protocoles. Le Tableau 9 révèle des variations considérables entre les éjaculats (chacun de boucs différents) en respect aux taux de fertilité.

ÉTUDE 2 : Insémination avec semence congelée dans le lait

Les caractéristiques de la semence utilisée dans cette étude sont dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Caractéristiques moyennes de la semence décongelée utilisée pour les inséminations artificielles.

Caractéristiques	Temps d'incubation après décongélation			
	0 h	1,5 h	3 h	5 h
MS (%)	38,8 ± 4,9	29,5 ± 4,5	29,0 ± 6,1	22,3 ± 4,5
RPMS (%)	20,3 ± 4,6	17,3 ± 7,4	7,5 ± 1,9	2,8 ± 0,9
VAP (µm/s)	99,1 ± 1,1	108,1 ± 18,3	70,23 ± 4,7	57,4 ± 2,5
VSL (µm/s)	79,8 ± 13,3	87,4 ± 24,9	51,3 ± 3,0	41,8 ± 2,7
VCL (µm/s)	160,2 ± 12,5	173,8 ± 22,3	127,6 ± 7,3	110,2 ± 4,3
ALH (µm)	6,1 ± 0,7	7,0 ± 0,9	6,8 ± 0,2	5,9 ± 0,3
BCF (Hz)	34,7 ± 2,3	29,1 ± 3,3	26,4 ± 0,9	26,6 ± 2,4
STR (%)	77,0 ± 6,4	73,8 ± 9,8	71,5 ± 3,9	71,0 ± 1,5
LIN (%)	49,5 ± 6,1	48,0 ± 8,7	39,8 ± 1,8	38,3 ± 1,3
Intégrité acrosomale (%)	42,2 ± 2,1	48,8 ± 1,9	38,0 ± 1,9	35,7 ± 1,9
Viabilité (%)	57,8 ± 1,4	58,3 ± 0,9	53,3 ± 2,1	51,4 ± 2,5
% des vivants avec acrosome intact	21,0 ± 1,7	21,1 ± 1,9	21,8 ± 2,0	22,1 ± 2,6
Mitochondries polarisées (%)	15,4 ± 1,5	8,6 ± 1,8	6,4 ± 1,7	6,2 ± 0,4
Mitochondries en polarisation (%)	21,8 ± 0,6	19,9 ± 2,1	16,5 ± 3,4	23,1 ± 2,2
Mitochondries dépolarisées (%)	62,7 ± 1,9	71,5 ± 3,7	78,9 ± 4,8	70,7 ± 2,4

Les Tableaux 11 et 12 présentent les critères de répartition des femelles en deux groupes d'inséminations synchronisées et naturelles et la similitude entre les deux groupes. Neuf chèvres diagnostiquées pseudogestantes ont été traitées avant le commencement du projet. Suite au traitement de synchronisation des chaleurs, 15 chèvres du groupe synchronisé (n = 18) ont démontré des signes d'œstrus moins de 32 h après le retrait du CIDR et ont été inséminées 43 h après le retrait du CIDR. De ce groupe, 3 chèvres sont entrées en œstrus 42 h après le retrait du CIDR et ont été inséminées 66 h après le retrait du CIDR.

Dix-sept jours suivant le début de la détection des chaleurs, toutes les chèvres du groupe naturel (n = 19) avaient démontré des signes d'œstrus. Une tempête de neige a rendu impossible un déplacement au CRSAD, c'est pourquoi les inséminations ont été réalisées sur 18 des 19 chèvres du groupe naturel 12 h après la détection des chaleurs.

Suite aux échographies abdominales, 67 % des chèvres du groupe synchronisé et 61 % des chèvres du groupe naturel ont été diagnostiquées gestantes par échographies abdominales (Tableau 12; P=0.62). Les taux de mises bas ont permis de confirmer 72 % de fertilité chez les chèvres en chaleurs synchronisées et 67 % de fertilité chez les chèvres en chaleurs naturelles (P=0.19).

Tableau 11 : Caractéristiques de chacun des groupes d'IA

Paramètres	Traitements		SEM	Valeur P
	NAT	SYN		
Femelles synchronisées (n)	19	18		
Poids (kg)	59.3	59.6	2.0	0.8058
État de chair	3.2	3.2	0.1	0.9463
Nombre de lactations	2.1	2.7	0.3	0.1056
Prolificité antérieure	1.8	1.8	0.1	0.9094
Nombre de jours en lactation à l'IA	221	213	3.3	0.1043
Production laitière à 305j (kg)	930.6	1018.9	40.2	0.1249

Tableau 12 : Relation entre la méthode d'induction des chaleurs et les taux de gestations, de mises bas ainsi que de la taille des portées des chèvres laitières suite aux inséminations artificielles

Paramètres	Traitements		SEM	Valeur <i>P</i>
	NAT	SYN		
Femelles inséminées (n)	18	18		
Taux de gestations (%)	61.1 (11/18)	66.7 (12/18)		0.6204
Taux de mise bas % (n)	66.7 (12/18)	72.2 (13/18)		0.6655
Taille des portées (n)	1.9	2.5	0.3	0.1875

La présente étude démontre l'efficacité des IA à la suite de la détection des chaleurs naturelles au même titre que les IA réalisées sur des chèvres en chaleurs synchronisées. Cette étude a également permis de confirmer l'efficacité du protocole de cryoconservation à base de lait, précédemment étudié.

La pratique des IA chez la chèvre en œstrus naturel permet l'amélioration génétique des troupeaux sans contre-indication comme il est observé lors de la synchronisation des œstrus. La présente étude a également permis de confirmer l'efficacité des IA sur les chèvres en chaleur naturelle, issues d'élevage québécois. De plus, cette technique d'insémination sans utilisation d'hormones serait applicable aux productions caprines biologiques dont les cahiers de charges interdisent la synchronisation des chaleurs par l'utilisation d'hormones exogènes.

Bien que les IA réalisées suite aux chaleurs naturelles soient moins coûteuses pour l'éleveur puisqu'elle ne requiert pas l'achat de matériels spécialisés pour la synchronisation, elle nécessite sommes toutes plus de temps et d'observations des animaux. De plus, cette pratique ne permet pas la reproduction des femelles en contre-saison (période d'anœstrus).

D'autre part, cette étude a certifié l'efficacité du protocole de congélation de la semence dans le lait. Lors de la synchronisation des chaleurs, on estime assez précisément le moment de l'ovulation de la chèvre, ce qui maximise les chances de fécondation. Sachant que la semence décongelée a une viabilité plus faible et plus rapidement périssable que la semence fraîche, il importe de faire coïncider le moment de l'insémination le plus près du moment de l'ovulation. Les chèvres en chaleurs naturelles ont été inséminées 12 h après le début de l'œstrus alors que les chèvres en chaleurs synchronisées ont été inséminées 24 h après le début des signes d'œstrus puisque leur cycle ovarien était contrôlé. Généralement, l'ovulation apparaît 28 h après

le début des signes d'œstrus. Ainsi, il serait intéressant de connaître la qualité de la semence 14 h après décongélation, soit le temps approximatif passé dans le tractus femelle avant fécondation pour les chèvres en chaleur naturelle.

Objectif 7 : Tester le protocole de récolte et de cryoconservation de semence en milieu commercial chez les producteurs québécois

- En collaboration avec le docteur Carl Lessard de l'Agriculture et agroalimentaire Canada, nous avons travaillé sur le terrain pour récolter la semence des boucs chez plusieurs producteurs (électroéjaculation) (G Maher, Christian Lessard) en 2010 et en 2011 (CEPOQ) ;
- Geneviève Maher est aussi allée seule chez un producteur pour effectuer la collecte par vagin artificiel et faire la congélation de la semence ;
- De plus, un étudiant de 3^e cycle avec nous pour un nouveau projet chez la chèvre, a aussi été en 2011 avec le Dr Carl Lessard.

Objectif 8 : Développer une expertise québécoise sur la semence et l'insémination caprine afin de bien positionner le secteur et lui permettre de saisir de nouvelles opportunités

Dans le contexte de transfert technologique, nous avons acquis des connaissances sur la gestion et la cryoconservation des boucs à l'université Laval et au CRSAD, nous avons formé des étudiants qui pourraient travailler dans le milieu (G Maher qui est en 2^e cycle et J Bernier, maintenant en médecine vétérinaire – espérons qu'elle continuera travailler chez la chèvre). Nous avons effectué certaines formations destinées aux producteurs. Nos connaissances sont importantes à l'industrie, car il n'existe pas de service pour aider les producteurs avec les technologies de reproduction, telles que la sélection de boucs, l'insémination, la synchronisation des chaleurs, la collecte de semence, l'évaluation du mâle, etc.

Nous avons soumis au MAPAQ en septembre 2010 un projet (accepté) de transfert technologique en partenariat avec Valacta pour mettre sur place un service de conseil en insémination et en cryoconservation de la semence destiné aux producteurs québécois afin d'assurer l'utilisation réelle des connaissances obtenues durant ce projet.

Conclusion : Il n'existe pas un moyen au Québec pour efficacement transmettre nos connaissances obtenues lors du projet CDAQ-AAC. Les journées de démonstration et documents écrits sont intéressants, mais le secteur a besoin un service-conseil en reproduction, tel qu'existe pour l'alimentation des chèvres laitières.

2.2 Diffusion des résultats

Remplir le tableau de la page suivante.

Décrire :

- les activités prévues telles que planifiées à l'*Annexe A* de la convention de contribution financière;
- les activités réalisées;
- les dates des activités;
- nombre de personnes rejointes.

De plus,

- annexer les communiqués de presse ou autres documents remis lors de conférences de presse ou autres événements officiels;
- ajouter des copies des articles de journaux ou de revues qui ont été publiés;
- inclure une copie des programmes des activités où les résultats ont été diffusés (ex. : colloques ou conférences) ou tout autre document de diffusion

DIFFUSION DES RÉSULTATS

Supprimer ou ajouter les activités qui s'appliquent à **votre projet** et remplir les colonnes suivantes.
Annexer au rapport les documents de diffusion produits.

Activités prévues de L'ANNEXE A	Activités réalisées	Description (Thème, titre, endroit, etc.)	Date de réalisation	Nombre de personnes rejointes	Visibilité accordée au CDAQ et à AAC (logo, mention)
Sites web : - SECLRQ - Centre de recherche en biologie de la reproduction (U Laval) - Réseau québécois en reproduction à l'Université de Montréal	Articles d'information sur le site SECLRQ Liste de projets sur le site de l'Université Laval et de Montréal	Descriptions du projet en cours	Été 2009	1000 (producteurs et chercheurs)	Logo Mention
Colloques provinciaux - Journée INPACQ - Journée de recherche du Réseau québécois en reproduction	Exposés oraux Affiche scientifique et résumé	Sommaire des objectifs et des résultats; les colloques auront lieu au centre du Québec	Février 2010 (invitation acceptée à l'INPACQ 2011) Novembre 2010 (résumé est soumis)	150 (producteurs et chercheurs)	Logo et mention
Journées de démonstration	Démonstration de l'insémination artificielle et comment manipuler la semence cryoconservée	Formation sur la manipulation de la semence et l'insémination artificielle à Victoriaville, à l'Université Laval et au CEPOQ	Été - automne 2010 – Automne 2011	25	Mention

3. CONCLUSIONS

Nouvelles découvertes issues de ce travail

Les objectifs du projet de cryoconservation de la semence de boucs sont atteints. Nous avons évalué la qualité de la semence décongelée et son pouvoir fécondant selon les deux protocoles de congélation. Toutefois, la comparaison directe des deux diluants de semence (jaune d'œuf et lait) est délicate puisque chaque protocole utilise des ingrédients et des procédés différents. Les résultats confirment que le protocole à base de lait permet une meilleure qualité de la semence décongelée que le protocole à base de jaune d'œuf. La revue des études antérieures démontre l'importance de retirer le plasma séminal lorsque le diluant contient plus de 1,5 % de jaune d'œuf. Or le protocole étudié contient 15 % de jaune d'œuf. La faible qualité de la semence après décongélation dans le jaune d'œuf pourrait s'expliquer ainsi.

Bien que les taux de fertilité obtenus suite aux IA soient semblables à ceux observés dans l'industrie caprine, la pratique des IA sur un plus grand nombre de femelles aurait sans doute permis de raffiner les résultats de fertilité liés aux techniques de congélation de la semence.

D'autre part, les objectifs du projet de détection des chaleurs synchronisées et naturelles ont été atteints. Nous avons su démontrer l'efficacité des IA chez les chèvres en chaleurs naturelles au même titre que les chèvres en chaleurs synchronisées. Par le fait même, nous avons pu confirmer, de façon indirecte, le pouvoir fécondant de la semence congelée selon le protocole à base de lait.

En ce qui a trait aux traitements photopériodiques de cycles courts, cette étude se limite à décrire les observations faites sur la qualité de la semence et le comportement des boucs soumis à une photopériode de 6 semaines. Sans comparaison à un groupe témoin en conditions de luminosité NAT, l'interprétation des données reste limitée. Puisque très peu d'informations sont disponibles au sujet de la qualité de la semence des boucs issus d'élevages québécois, les observations de ce projet contribuent à l'avancement des connaissances à ce sujet.

Recommandations à l'industrie québécoise

Le transfert des connaissances accumulées lors de la réalisation de ce travail est souhaitable afin de promouvoir les techniques de reproduction étudiées. Les techniques de cryoconservation de la semence de boucs devraient privilégier autant que possible

l'utilisation du protocole à base de lait pour maximiser la qualité de la semence et la fertilité. Lors de congélation de semences à la ferme, l'utilisation du protocole à base de jaune d'œuf serait plus facilement applicable, mais l'utilisation du protocole à base de lait, bien qu'un peu plus complexe, serait plus profitable. La congélation à la ferme donnerait l'opportunité aux éleveurs de conserver la génétique d'un animal de valeur ou d'un animal en copropriété.

D'un autre côté, l'application d'une régie de photopériodes de 2 ou 4 mois de JC et de JL successifs est destinée aux mâles reproducteurs dont la libido et la semence de bonne qualité sont sollicitées toute l'année. L'utilisation d'une telle photopériode pourrait, par exemple, être jumelée aux techniques de synchronisation des chaleurs chez la chèvre. La mise en reproduction par saillies naturelles des femelles synchronisées en période de JL serait optimisée si elle était jumelée avec des mâles reproducteurs soumis à une courte photopériode.

Directions futures

L'influence du plasma séminal, de la glycérolisation et de la concentration des cryoprotectants (jaune d'œuf, lait, glycérol) sur la qualité de la semence décongelée ne sont pas négligeables. Il serait utile de comparer chaque étape de ces deux protocoles. Dans le même ordre d'idée, des études vouées à l'amélioration des protocoles de congélation de la semence pourront être réalisées notamment, l'optimisation du protocole à base de lait par l'addition de cholestérol.

En ce qui concerne les caractères saisonniers des boucs, il serait intéressant, dans un premier temps, de documenter la qualité de la semence et les comportements sexuels en conditions naturelles au Québec. Dans un deuxième temps, la comparaison entre la régie de photopériode de 6 semaines et les conditions naturelles permettrait d'approfondir les hypothèses de recherche soulevées dans la présente étude.

Puisque la fertilité des techniques d'IA en chaleurs naturelles ou synchronisées permet des taux de fertilité équivalents, l'alternance de ces pratiques pourra être incorporée dans la régie de reproduction des chèvres afin de minimiser le développement d'anticorps anti-eCG tout en valorisant la pratique des IA.

Au niveau de l'efficacité de la production laitière, il serait intéressant de mettre sur pied un canevas de reproduction qui jumellerait les techniques de photopériode, de détection des chaleurs synchronisées et des chaleurs naturelle afin d'optimiser la pratique des accouplements et des IA tout au long de l'année.

Enfin, l'efficacité des techniques apprises dans ce mémoire devrait être validée par des études en milieux commerciaux. La présente étude s'est attardée exclusivement à la race Alpine. L'adaptation des techniques de congélation de la semence et de synchronisation des chaleurs sur différentes races caprine pourrait également faire l'objet d'une étude terrain.

Ouvrages utilisés lors de la rédaction :

- Baril, G., P. Chemineau, Y. Cognie, Y. Guérin, B. Leboeuf, P. Orgeur et J.C. Vallet. 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins, Nouzilly.
- Brice, G., B. Leboeuf et G. Perret. 2002. Reproduction ovine et caprine sans hormones: Utopie ou perspective réaliste? Renc. Rech. Ruminants 9: 135-141.
- Capgenes. 2004. Les 10 bonnes raisons de choisir les semences de boucs améliorateurs. In: <http://www.capgenes.com/spip.php?article58> (ed.) No. 2010, France.
- Chemineau, P., E. Normant, J.P. Ravault et J. Thimonier. 1986. Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out-of-season lactating dairy goat after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. J Reprod Fertil 78: 497-504.
- Chemineau, P., G. Baril, B. Leboeuf, M.C. Maurel, F. Roy, M.T. Pellecer-Rubio, B. Malpaux et Y. Cognie. 1999. Implications des progrès récents en physiologie de la reproduction pour la conduite de la reproduction dans l'espèce caprine. INRA Prod. Anim. 12: 135-146.
- CRAAQ. 2009. L'élevage de la chèvre, 439 pp.
- Delgadillo, J.A., M.T. Hochereau-de Reviers, A. Daveau et P. Chemineau. 1995. Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). Reprod. Nutr. Dev. 35: 58.
- Delgadillo, J.A., B. Leboeuf et P. Chemineau. 1991. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. Theriogenology 36: 755-770.
- Delgadillo, J.A., B. Leboeuf et P. Chemineau. 1993. Maintenance of sperm production in bucks during a third year of short photoperiodic cycles. Reprod. Nutr. Dev. 33: 17.
- Delgadillo, J.A., M.T. Hochereau-de Reviers, A. Daveau et P. Chemineau. 1995. Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). Reprod. Nutr. Dev. 35: 58.

- Karagiannidis, A., S. Varsakeli et G. Karatzas. 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology* 53: 1285-1293.
- Leboeuf, B., E. Manfredi, P. Boue, A. Piacère, G. Brice, G. Baril, C. Broqua, P. Humblot et M. Terqui. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livestock Production Science* 55: 193-203.
- Leboeuf, B., V. Furstoss, P. Guillouet et P. Boué. 2004. Production on semen for artificial insemination from Alpine and Saanen bucks under different photoperiodic cycles. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34: 230-232.
- Leboeuf, B., B. Restall et S. Salamon. 2003. Production et conservation de la semence de bouc pour l'insémination artificielle. *INRA Prod. Anim.* 16: 91-99.
- Lybaert, P., A. Danguy, F. Leleux, S. Meuris et P. Lebrun. 2009. Improved methodology for the detection and quantification of the acrosome reaction in mouse spermatozoa. *Histol. Histopathol.* 24: 999-1007.
- Ponsart, C., O. Gérard et S. Caplin. 2004. L'insémination : historique, état des lieux chez l'animal. *Gynécol. Obst. Fertil.* 32: 880-886.
- Purdy, P.H. 2006a. The post-thaw quality of ram sperm held for 0 to 48h at 5°C prior to cryopreservation. *Anim. Reprod. Sci.* 93: 114-123.
- Purdy, P.H. 2006b. A review on goat sperm cryopreservation. *Small. Ruminant. Res.* 63: 215-225.
- Sanchez-Partida, L.G., B.P. Setchell et W.M.C. Maxwell. 1998. Effect of compatible solutes and diluent composition on the post-thaw motility of ram sperm. *Reprod. Fertil. Develop.* 10: 347-357.
- Thibault, C. et M.C. Levasseur. 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses éd, Paris, 928 pp.
- Tuli, R.K. et W. Holtz. 1995. Effect of season on the freezability of Boer goat semen in the northern temperate zone. *Theriogenology* 43: 1359-1363.

4. HISTOIRE D'UNE RÉUSSITE

(POUR LES PROJETS SOUMIS DANS LE CADRE DE DÉFI-SOLUTION SEULEMENT)

Décrire l'histoire de la réussite (« *success story* ») du projet. Pour rédiger le texte, répondre aux sept questions sous forme d'un texte suivi de moins de 2000 caractères.

- En quoi ce projet est-il important?
 - 1 phrase expliquant dans quel contexte le projet s'inscrit.
- Pourquoi avez-vous mis ce projet en branle?
 - Une phrase décrivant le but du projet
- Quels étaient les principales activités ou les principaux résultats attendus?
 - 1 ou 4 phrases explicatives
- Quelles sont vos réalisations?
 - Une phrase décrivant les résultats au moyen d'indicateurs mesurables. Inclure les bénéficiaires.
- Selon vous, pourquoi ce projet a-t-il porté fruit?
 - 2 ou 3 phrases expliquant les succès prévus et inattendus du projet.
- Y a-t-il des aspects qui n'ont pas été terminés?
 - 1 ligne sur les travaux qui n'ont pas été exécutés
- Quelles sont les prochaines étapes?
 - 1 ou 2 phrases décrivant les prochaines étapes du projet, s'il y a lieu.

Insérez le texte ici.

Le projet permettait de développer une expertise en cryoconservation de la semence de boucs afin de définir un protocole adapté aux besoins de l'industrie caprine du Québec et d'encourager l'utilisation de l'insémination artificielle au Québec. L'importance éventuelle du projet est que l'insémination artificielle avec la semence des boucs de qualité génétique importante favorisera l'amélioration génétique et augmentera la productivité du secteur de chèvre de lait. Ce projet était donc innovateur puisqu'il ciblait le protocole de cryoconservation de la semence et testait le pouvoir fécondant de la semence des boucs québécois en insémination artificielle avec les chèvres au CRSAD. Au meilleur de nos connaissances, aucun projet semblable n'a jamais été effectué au Canada. Au Québec, l'insémination artificielle avec la semence de boucs du Québec ne se fait pas. Actuellement, certains producteurs achètent de la semence de France à un prix exorbitant et ils n'ont aucun service technique pour effectuer l'insémination. De plus, il existe beaucoup de questionnement sur la capacité de la semence caprine de se faire cryoconserver. Malgré les problèmes rencontrés lors de la première phase d'insémination, notre équipe a procédé aux ajustements requis pour la deuxième phase d'insémination artificielle qui s'est bien déroulée. À notre avis tous les travaux mentionnés dans la demande de subvention ont été réalisés. Les prochaines étapes découlant de ce projet se feront par deux projets subventionnés par le MAPAQ : Volet 1 : Amélioration de la cryoconservation de la semence de boucs québécois et Volet 2 : Techniques de reproduction avancées pour améliorer la qualité génétique du cheptel caprin du Québec. Ce seront de beaux projets suivant celui du CDAQ.

5. PLAN DE FINANCEMENT ET CONCILIATION DES DÉPENSES

Remplir et transmettre le Plan de financement et conciliation des dépenses (relié à l'Annexe B de la convention de contribution financière) dont vous avez reçu une copie électronique en format MS Excel.

Vous devez y joindre toutes les **copies** de factures relatives aux postes budgétaires. Les contributions du demandeur et des partenaires doivent également être justifiées. **Aucun versement ne sera effectué sans que les pièces justificatives acquittées ne soient déposées.**

Référez-vous aux instructions disponibles dans la première feuille du chiffrier Excel intitulé **Plan de financement et conciliation des dépenses.**

Tout projet peut faire l'objet d'un audit.

Conformément à l'entente de contribution, vous êtes tenu de tenir le CDAQ informé des modifications effectuées au projet et au plan de financement.

Dernière mise à jour du formulaire par le CDAQ : 15 mars 2010

ANNEXES



EGG YOLK OR MILK? WHICH IS PREFERRED BY BUCK SPERMATOZOA?

G Maher, C Maurice, C Lessard, M Thériault, F Castonguay, D Cinq-Mars, J Bernier, JL Bailey
 Centre de recherche en biologie de la reproduction, Département des sciences animales, Université Laval, Québec, Québec, Canada G1V 0A6



Introduction

Consumer demand for goat dairy products in North America has dramatically increased in the past decade. However, Quebec goat producers are unable to meet the current needs of the transformation industry and 30-40% goat milk must be imported. Developing AI and semen conservation protocols applied to the goat industry can improve herd productivity.

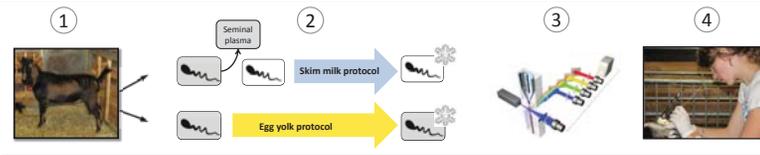
Objective of the study

To compare two cryopreservation techniques based on either egg yolk- (Sanchez et al., 1998. *Reprod. Fertil. Dev.* 10: 347-357) or skim milk-based extender (commercially used in France), on post-thaw sperm parameters and *in vivo* fertility following AI as the endpoints.

Particularity of buck seminal plasma

- **Bus PG60** is a glycoprotein that hydrolyses milk triglycerides into fatty acids, in particular oleic acid (Leboeuf et al. 2003. *INRA Productions Animales* 16 (2): 91-99)
- **Egg Yolk Coagulated Enzyme (EYCE)** is a phospholipase A that hydrolyses egg yolk lecithin into fatty acid and lysolecithin (Iritani et al. 1961. In: *Proceedings of Silver Jubilee Laboratory of Animal Husbandry, Kyoto University.* 97-104)
- Oleic acid and lysolecithin are harmful to sperm and can be responsible for 95% of spontaneous acrosome reactions after thawing (Freming et al. 1981. *Gamete Research* 4: 253-273)

Materials and methods



1 Animals

- ♂ 8 Alpine bucks
- ♂ Photoperiod cycle: 6 weeks of long days (16h L: 8h D) and short days (8h L: 8h D)
- ♂ Semen collected 1- 3 times weekly using an artificial vagina
- ♀ 37 Alpine goat
- ♀ Photoperiod cycle: 15 weeks of long days and 10.7 weeks of short days

2 Semen processing

Ejaculates were divided in two aliquots that were cryopreserved according to either the skim milk or egg yolk technique

Milk technique

- 2 centrifugations in a PBS buffer to remove seminal plasma (Ritar et al. 1982. *Aust. J. Biol. Sci.* 35 (3): 305-317)
- Gradual dilution in skim milk-based diluent with 7% glycerol as cryoprotectant

Egg yolk technique

- Semen directly extended in a Tris-1.5% egg yolk solution with 2% glycerol as cryoprotectant (Sanchez et al., 1998. *Reprod. Fertil. Dev.* 10:347-357)
- No removal of seminal plasma

3 Semen analyses

Fresh: Motility, viability, acrosome integrity

Post-thaw: 0 to 5 h after thawing using Computer Assisted Sperm Motility and Flow Cytometry systems to analysis motility, viability, acrosome and mitochondrial integrity

4 Fertility assessment

Synchronised oestrus: Using CIDR "Controlled Internal Drug Releasing progesterone devices" combined with equine chorionic gonadotrophin + cloprostenol injections

Artificial Insemination: Using the transcervical protocol from France (Capri-IA).

Results

Semen analyses

- 28 ejaculates were split and frozen using each protocol
- Semen cryopreserved according to the milk-based technique demonstrated higher rates of viable sperm, viable sperm with intact acrosomes and total sperm with intact acrosomes after incubation *in vitro* for 5 h (Fig. 1 and 2)

Table 1. Post-thawing quality of 28 ejaculates each frozen with milk and egg yolk protocol.

Characteristics (%)	Time post thawing (h)							
	0		1,5		3		5	
	Egg Yolk	Milk	Egg Yolk	Milk	Egg Yolk	Milk	Egg Yolk	Milk
Motile sperm	20,54	33,73*	19,53	29,45	11,76	24,06**	6,24	9,79
Rapide progressive motile sperm	10,01	10,71	8,43	12,43	4,41	7,62		
Viable sperm intact acrosome	49,96	57,93	50,12	57,93	44,72	55,07*	36,67	49,36**
Total sperm intact acrosome	34,49	40,98	33,97	41,10*	30,55	38,03*	24,08	34,84**
Viable sperm	32,11	35,94	32,90	34,80	30,55	31,83	21,90	28,99*
Depolarised mitochondria	25,38	24,46	32,42	25,06**	47,77	30,15**	52,19	34,08**
Mitochondria in depolarisation	14,70	11,78	17,20	11,59	25,30	22,25	22,53	17,07**
Polarised mitochondria	60,42	63,52	49,46	64,45**	20,39	44,32**	24,63	48,17**

For each sperm characteristics, significant difference between egg yolk and milk protocol during incubation time are shown. *P<0.05; **P<0.001

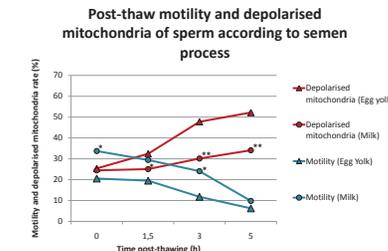


Figure 1 Motility and depolarised mitochondria of sperm after milk- or egg yolk-based cryopreservation protocol *P<0.05; **P<0.001

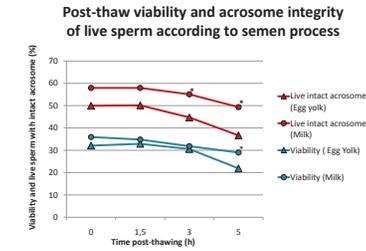


Figure 2 Viability and acrosome integrity of sperm after milk- or egg yolk-based cryopreservation protocol. *P<0.05; **P<0.001

Fertility

- AI using 4 selected ejaculates each frozen with milk and egg yolk protocol.
- Pregnancy rate was detected 40 days after AI by ultrasonography.
- Milk technique resulted closely to superior conception rates (71% vs 40%; Fig. 3)
- Strong variability among bucks was apparent (Fig. 4)

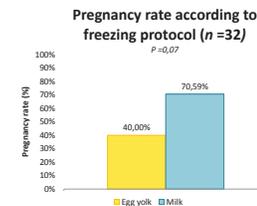


Figure 3 Pregnancy rates strongly tended to be higher for semen cryopreserved using the milk-based technique.

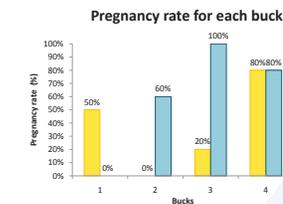


Figure 4 Mean fertility rate for each buck

Conclusion

Sperm quality post-thaw is similar for both cryopreservation protocols until 5 h, at which time the milk protocol maintains the best sperm function parameters. These data suggest that the link between loss of sperm quality and fertility rate is detectable 5 h post-thaw. Although the milk technique favors fertility in comparison to the egg technique, the variability of fertility rates among bucks has to be considered. Despite the slight superiority of the milk protocol, we can nevertheless state that the simpler egg yolk approach can be recommended as an easy on-farm protocol to promote the use of semen cryopreservation and artificial insemination.

Abstract RQR

EGG YOLK OR MILK? WHICH IS PREFERRED BY GOAT SPERMATOZOA? G
Maher, C Maurice, C Lessard, F Castonguay, D Cinq-Mars, J Bernier, JL Bailey

The demand for goat milk in Québec has dramatically increased in the past decade, however, producers are unable to meet industry requirements. As demonstrated in dairy cattle, implementing artificial insemination (AI) regimes with semen from genetically superior bucks will improve the productivity of the Quebec goat herd, however, semen cryopreservation and AI are not routine. Curiously, caprine seminal plasma contains proteins known to damage sperm during cryopreservation: “Egg yolk coagulating enzyme” interacts with egg yolk triglycerides to produce lysolecithin, whereas the glycoprotein “BUS PG60” produces free fatty acids in the presence of milk; each of these products are fusogenic and may facilitate spontaneous acrosome reactions. The aim of this study, therefore, was to compare two semen cryopreservation techniques based on either egg yolk or milk extenders, with post-thaw sperm parameters (computer assisted motility, acrosomal integrity, viability, mitochondrial function and DNA stability) and in vivo fertility following AI as the endpoints. Alpine bucks were subjected to an alternating 6 week photoperiod regime of long days (8 h dark: 16 h light) and short days (16 h dark: 8 h light) to maintain sexual activity. Ejaculates were collected using an artificial vagina, divided in two and cryopreserved according to the milk or egg yolk technique. Oestrus was synchronised in 37 female goats that were then artificially inseminated with semen from one of the two techniques (n = 4 ejaculates from different bucks). Preliminary observations suggest that the milk-technique is more effective, however, statistical analyses have yet to be completed. *Financed by CDAQ-AAC.*



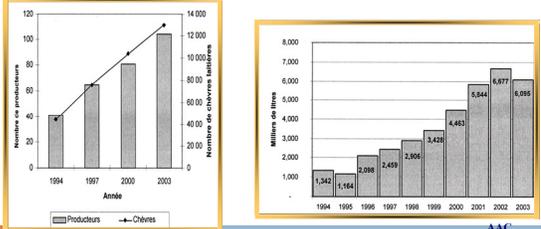
Marie-Ève Marier
F. Castonguay, M. Thériault, D. Cinq-Mars,
C. Lessard, R. Gervais et J.L. Bailey

Projet de recherche sur la synchronisation des chaleurs et l'insémination artificielle chez la chèvre laitière

Centre de Recherche en Biologie de la Reproduction



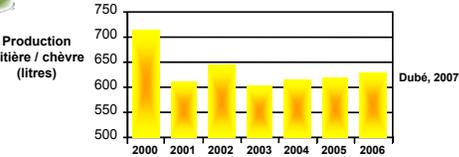
Une forte expansion du secteur laitier au courant des dernières années



AAC, 2006



Compilation des données du contrôle laitier caprin de Valacta au Québec, 2000-2006



Dubé, 2007

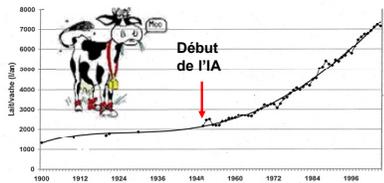
En France: En 2002, la production moyenne de lait / chèvre était de 750 litres

Problématique : Une pénurie de lait de transformation !

Hypothèse générale :

L'établissement d'un programme de synchronisation de chaleurs et d'insémination artificielle avec de la semence congelée provenant de boucs élites va améliorer la productivité des troupeaux québécois.

Évolution de la production laitière par vache au Québec au cours du XXe siècle



Défis des producteurs des chèvre laitières :

- Pas de centre d'IA
- Semence importée du France
 - Données sur le génétique des boucs
 - Dispendieux >60 \$ par dose
 - Aucune soutien technique
- Reproduction saisonnière
 - Synchronisation des chaleurs
 - Éponges ne sont plus disponibles
- Le projet a été effectué pour apprendre et tester des protocoles de synchronisation et de l'IA à l'aide des CIDR avec la semence du France sur un troupeau au CRSAD





LABORATOIRE DE FONCTION SPERMATIQUE ET DE TOXICOLOGIE: RECHERCHE APPLIQUÉE ET FONDAMENTALE

CRYOCONSERVATION DE LA SEMENCE DE BOUC

UNIVERSITÉ LAVAL | LabOratoire de génétique spermatique | CRSAD

Projet de maîtrise présenté par Geneviève Maher

Plan de la présentation

- Mise en situation
- Hypothèses et objectifs de recherche
- Comparaisons des deux protocoles
- Manipulations à la ferme
- Conclusion



Mise en situation



- Production marginale en croissance
- Augmentation consommation produits chèvres laitières au Québec
 - 1 million de litre en 1997
 - 7 millions de litre en 2007 (L'élevage de la chèvre, CRAAQ 2009)
- Demande comblée à 70,4% (MAFAQ 2008)
 - Amélioration génétique par l'I.A.

Mise en situation

	<u>France</u>	<u>Québec</u>
Génétique:	Composantes du lait	Conformation des animaux
I.A. :	Pratique courante	Pratique rarissime Importation de semences France
		

Hypothèses et Objectifs de recherche

«Les diluants à base d'œuf ou de lait influencent différemment la qualité spermatique et le pouvoir fécondant de la semence de boucs»

- Comparer et optimiser les techniques de cryoconservation de la semence de bouc
- Mettre à l'essai le pouvoir fécondant de la semence cryoconservée par l'I.A.

Comparaison entre les 2 protocoles




Diluant - Lait



Tampon + 

1^{er} Centrifugation 15min

2^{em} Centrifugation 15min

Ajout diluant lait sans glycérol

Ajout diluant lait avec glycérol

Conservation 1h30 à 4 °C → Congélation



Diluant - Lait

BUSpg60

- BUSpg60 provient de protéine BUSIII
- 95% réactions acrosomales spontanées (Leboeuf et al. 2000)

Diluant - Jaune d'œuf

Tris, acide citrique, glycérol, jaune d'œuf

Conservation à 4 °C

Semence → Congélation

«La qualité de la semence diluée dans le jaune d'œuf avec ou sans lavage est similaire après congélation »
Salamon et Ritar 1982

Diluant- Jaune d'œuf

EYCE

- Phospholipase
- Hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf en acides gras et lysolécithine (toxique)
- Varie selon T⁰, concentration plasma séminal, saison de reproduction (Leboeuf et al. 2000)

Manipulation à la ferme

- Installations
- Manipulations
- Analyses
- Inséminations artificielles

Manipulations- Installations

- Centre de Recherche en Sciences Animales de Deschambault (CRSAD)
- 8 boucs
- 10 chèvres mannequins
- Photopériode de 6 semaines

La photopériode

Motilité de la semence selon la photopériode

On vise une stabilité

Date	Août			Septembre			Octobre			Novembre			Déc.																			
Photo-période	Jours courts						Jours longs			Jours courts			JL																			
Nb récoltes	6	7	7	7	6	4	4	2	2	2	3	7	8	3	4	6	4	5	8	5	7	6	6	6	7	8	5	7	7	8	7	8
Circ. Scrotale	10				10			11			11			12	12	12			12			12			13			13				
Évènement	Oestradiol						Oestradiol			G	Oestradiol																					

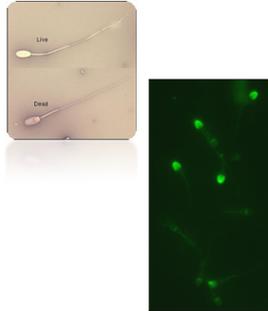
Manipulations

- Récolte des boucs
- Analyses semence fraîche
- Congélation de la semence selon les deux protocoles
- Analyse semence décongelée
- I.A.



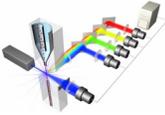
Manipulations — Analyse semence fraîche

- Volume
- pH
- Motilité
 - Subjectif
- Viabilité
 - Lame E/N
- Réaction acrosomale
 - Lame PSA
- Capacitation
 - Lames CTC



Manipulations- Analyses semence décongelée

- Motilité
 - Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)
- Cytométrie en flux
 - Intégrité de la membrane et acrosomique
 - Intégrité des mitochondries
 - Stabilité structurale de la chromatine
 - Taux de calcium intracellulaire



Manipulations — Analyse semence décongelée

Cytomètre en Flux

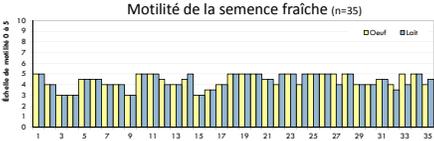
Date de congélation	5	46	49
	26-nov	26-nov	24-nov
ŒUF			
% mort	51	65	59
% néant	74	70	40
ADN	0,8	0,9	1,55
Mitochondries (% en déposition)	5	2	6
Mitochondries (% déposition)	47	84	59
% Calcium intracellulaire	73	66	81
Lait			
% mort	41	48	48
% néant	53	60	68
ADN	0,9	1,2	1,4
Mitochondries (% en déposition)	8	16	3
Mitochondries (% déposition)	71	57	45
% Calcium intracellulaire	70	67	57

Motilités après décongélation avec CASA (% motiles)

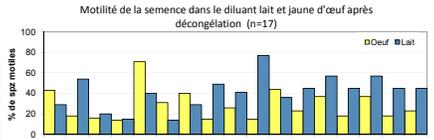
Date de récolte	# bouc	Après décongélation	
26-nov	5	37	57
17-nov	24	44	36
26-nov	46	18	45
24-nov	49	23	45

Manipulations — Comparaison des motilités

Motilité de la semence fraîche (n=35)



Motilité de la semence dans le diluant lait et jaune d'œuf après décongélation (n=17)



Motilité

- ✓ Œuf: 28,76%
- ✓ Lait: 40,06%

Manipulations — I.A.

Phase 1: Vérifier l'action des diluants sur le pouvoir fécondant de la semence chez les chèvres en chaleurs synchronisées artificiellement

Phase 2: Vérifier l'action du diluant le plus performant sur le pouvoir fécondant de la semence chez les chèvres en chaleurs naturelles



Manipulations – I.A. Phase 1

- Décembre 2009
- Synchronisation des chaleurs avec CIDR
- Détection des chaleurs
- 4 boucs
- Observation motilité



Résultats des I.A.



ŒUF
7% gestation
▪ Motilité de 10%

LAIT
36% gestation
▪ Motilité de 40%
et 30%

Chaleurs Semence et Technique

Conclusion

Hypothèse: Impact de l'EYCE sur la semence à long terme

- Reprise de l'IA phase 1 en mai 2010
 - Récolte et congélation en jours courts
- Analyse de la qualité de la semence décongelée au cytomètre en flux à différent temps d'incubation.



Merci



Lors de la congélation, que préfère les spermatozoïdes de boucs : le jaune d'œuf ou le lait?

**Présenté par
Geneviève Maher, agr.**



La congélation...

- ✓ Conserve génétique d'un animal reproducteur de valeur
- ✓ Facilite pratique IA avec génétique nouvelle
- ✓ Permet sélection génétique des sujets reproducteurs

Amélioration génétique ➔ Approvisionnement régulier des marchés



Hypothèse de recherche

« Lors de la cryoconservation, les diluants à base d'œuf ou de lait influence la qualité spermatique et le pouvoir fécondant de la semence de boucs. »

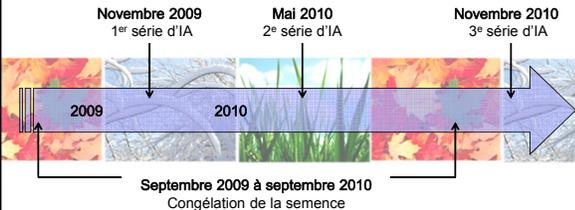


Objectifs de recherche

1. Comparer les techniques de cryoconservation de la semence de bouc
2. Mettre à l'essai le pouvoir fécondant de la semence cryoconservée par l'I.A.



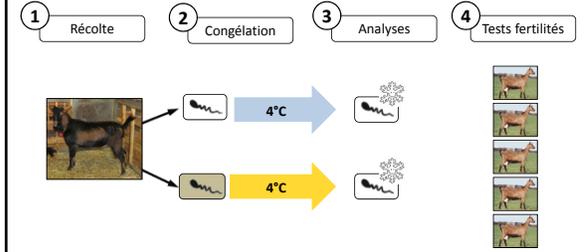
Historique du projet



Septembre 2009 à septembre 2010
Congélation de la semence

Matériels et méthodes

- 1 Récolte
- 2 Congélation
- 3 Analyses
- 4 Tests fertilités



*N = 4 éjaculats et
37 femelles*



Récolte de la semence

- 8 boucs Alpins
- 2-3 récoltes/semaine
- Photopériode 6 semaines






Congélation

Lait écrémé	Jaune d'œuf
Plasma séminal + Triglycérides lait	Plasma séminal + ECJO
= ↑ Réaction acrosome spontanée	= Toxicité

Protocole	Protocole
<ul style="list-style-type: none"> • Retrait plasma séminal • Centrifugation • Dilution semence • Glycérolisation 	<ul style="list-style-type: none"> • Dilution semence



Congélation

Mise en paillettes

- Identification (bouc, date, traitement)
- 4°C
- Paillettes de 250 µl
- 500 millions spz/ml
- De 20 à 40 paillettes par bouc selon le volume et la concentration



Congélation

- 4°C à -150°C progressif
- - 150°C plongée dans l'azote liquide
- Entreposage dans l'azote liquide minimum 14 jours avant analyse



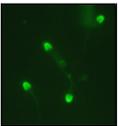

Analyses

- Viabilité
- Motilité
- Intégrité de l'acrosome
- Intégrité des mitochondries

Coloration E/N



Coloration PSA




Tests de fertilité

1. Novembre 2009

- 30 chèvres chaleurs synchronisées
- 4 boucs, 4 éjaculats
- 2 traitements

2. Mai 2010

- 37 chèvres chaleurs synchronisées
- 4 boucs, 4 éjaculats
- 2 traitements

3. Novembre 2010

- 18 chèvres chaleurs synchronisées
- 19 chèvres en chaleurs naturelles
- 2 boucs, 4 éjaculats
- 1 traitement (lait)





Tests de fertilité

Chaleurs synchronisées

Jr 0 → Jr 9 → Jr 11 → Jr 12 → Jr 13

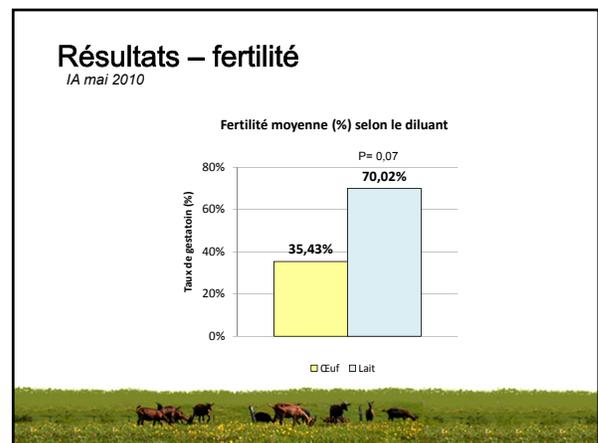
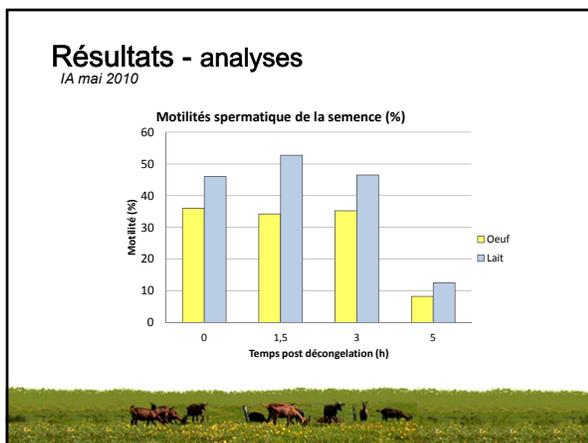
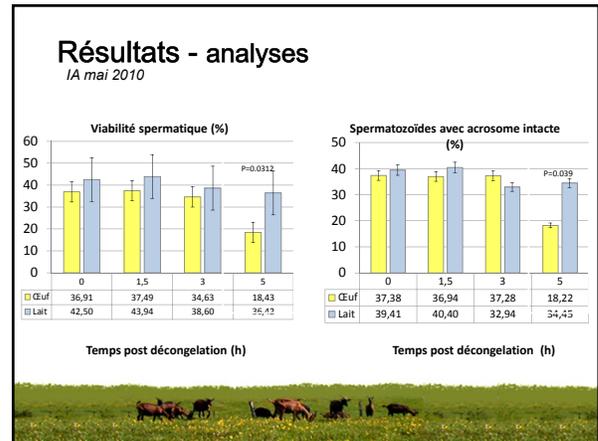
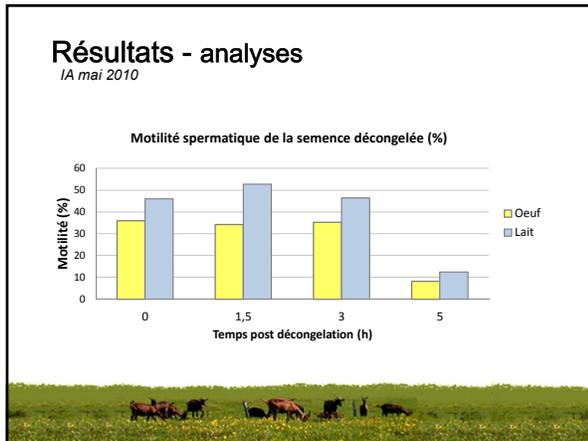
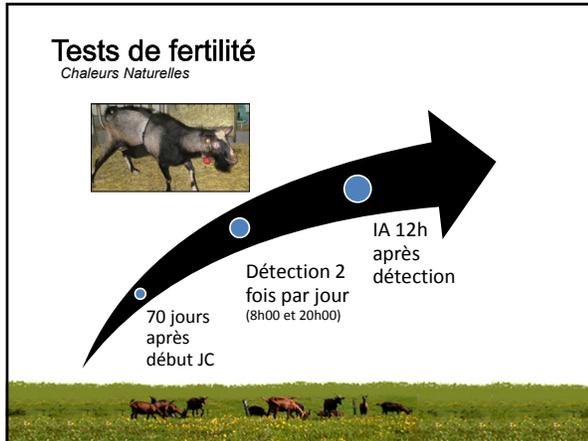
Pose CIDR → Injections → Retrait CIDR → Détection chaleurs → IA

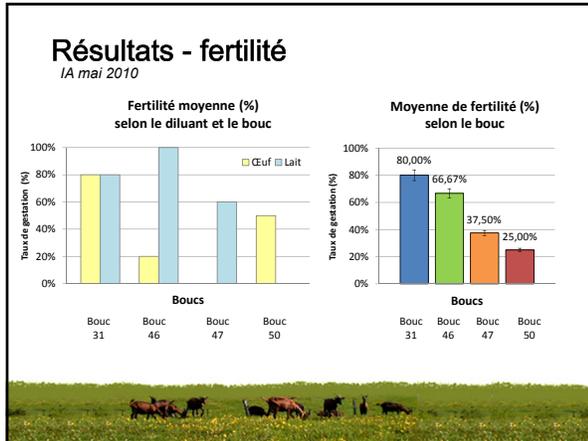
1. PMSG induit croissance des follicules
 43 h après retrait du CIDR, progestérone tend à provoquer une phase lutéale fonctionnelle même avec CIDR

Intramusculaire









Résultats - à venir

- ✓ IA chaleur synchronisées 23 novembre 2010
- ✓ IA chaleur naturelle du 23 novembre au 12 décembre 2010
- ✓ Échographie fin janvier 2011

Conclusion

OU

Références

Aamdal, J., Lyngset, O., Fossum, K. 1965. Toxic effect of lysolecithin on sperm. Nordisk Veterinary Medicine; 17:633-639

Cortee, J.M. 1974. Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal : effet du glucose. Annales de Biologie, Animale, Biophysique 14 (4-8)741-745

Leboeuf, B., Restall, B., Salamon, S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. Animal Reproduction Science 62 :113-141

Ritar, A.J., Salamon, S. 1982. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the angora goat. Australian Journal of Biological Sciences. 35 :305-312

Merci

Janice Bailey, François Castonguay,
Mireille Thériault, Dany Cinq Mars, Christian Lessard,

EGG YOLK OR MILK? WHICH IS PREFERRED BY BUCK SPERMATOZOA?

G Maher, C Maurice, C Lessard, M Thériault, F Castonguay, D Cinq Mars, J Bernier, JL Bailey

Centre de recherche en biologie de la reproduction, Département des sciences animales, Université Laval, Québec, Québec, Canada G1V 0A6

Introduction

The demand for goat milk in North America has dramatically increased in the past decade. However, Quebec goat producers are unable to meet the requirements of the transformation industry and 30-40% goat milk must be imported. Developing AI and semen conservation protocols applied to the goat industry can maximize the use of the best genetics and, ultimately, improve the productivity of the herd.

Objective of the study

To compare two cryopreservation techniques based on either egg yolk (Purdy 2006) or skim milk extenders (commercially used in France), on post-thaw sperm parameters and *in vivo* fertility following AI as the endpoints.

Particularity of buck seminal plasma

- **Bus PG60** is a glycoprotein that hydrolyses milk triglycerides into fatty acids, in particular oleic acid.
- **Egg Yolk Coagulated Enzyme (EYCE)** a phospholipase A that hydrolyse egg yolk lecithin in fatty acid and lysolecithin.
- Oleic acid and lysolecithin are harmful for sperms and can be responsible of 95% of spontaneous acrosome reaction s.

Materials and methods

1 Animals

- ♂ 8 alpine bucks.
- ♂ Photoperiod cycle: 6 weeks long days (16h L: 8h D) and short days (8h L: 8h D) to encourage male sexual activity.
- ♂ Semen collected 1- 3 times weekly using artificial vagina.
- ♀ 37 alpine goats.
- ♀ Photoperiod cycle: 15 weeks of long days and 10.7 weeks of short days.

2 Semen processing

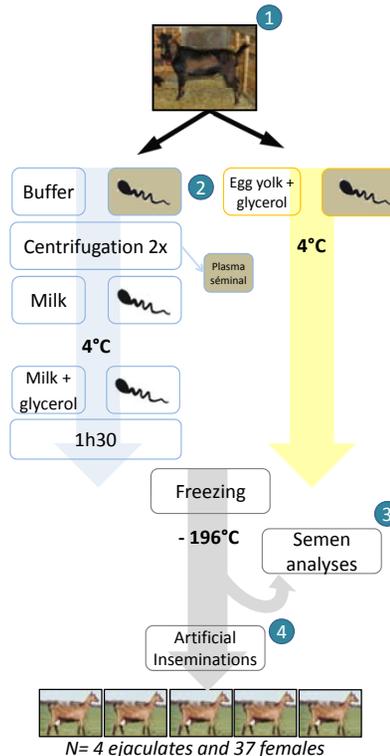
Ejaculates were divided in two aliquots that were cryopreserved according to either the skim milk or egg yolk technique.

Milk technique

- 2 centrifugations in a PBS buffer to remove seminal plasma.
- Gradual dilution in skim milk diluents with 7% glycerol as cryoprotectant.

Egg yolk technique

- Semen directly extended in a Tris-1.5% egg yolk solution with 2% glycerol as cryoprotectant.
- In theory, no removal of seminal plasma is required since the low concentration of egg yolk minimises the incidence of lysolecithin on sperm (Ritar et al. 1982).



3 Semen analyses

Fresh: Motility, viability, acrosome integrity.

Post-thaw: Motility, acrosome integrity, viability, mitochondrial function
 Post-thawing analysis were made 0, 1.5, 3, 5 hours after thawing using Computer Assisted Sperm Motility and Flow Cytometry systems.

4 Fertility test

Synchronised oestrus: using CIDR "Controlled Internal Drug Releasing progesterone device" combined with equine chorionic gonadotrophin + cloprostenol injections.

Artificial Insemination: using the protocol from France (CapRIA).

Results

Semen analyses

- After extending in the milk or egg yolk, motility did not differ prior to freezing.
- After freezing and thawing, there was high variability among ejaculates.
- Sperm cryopreserved according to the milk-based technique demonstrated a higher rate of live spermatozoa, of live spermatozoa with intact acrosomes and of total spermatozoa with intact acrosomes after incubation *in vitro* for 5 h (Fig. 1 and 2).

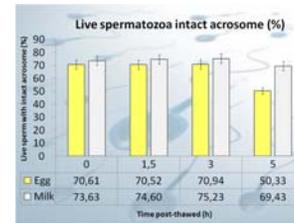


Figure 1 Total live sperm with intact acrosomes for each diluent. Differences appear 5 h after thawing.

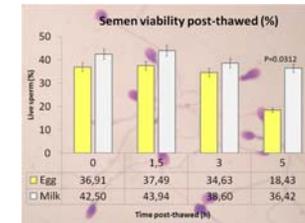


Figure 2 Viability of sperm for each diluent. Differences appear 5 h after thawing.

Fertility

- Pregnancy rate was detected 40 days after AI by ultrasonography.
- Milk technique resulted closely to superior conception rates (71% vs 40%; Fig. 3).
- Strong variability among bucks was apparent (Fig. 4).

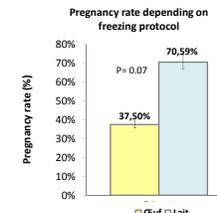


Figure 3 Pregnancy rates for the two freezing diluents strongly tended to be higher for semen cryopreserved using the milk technique.

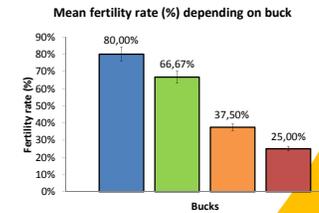


Figure 4 Mean fertility rate for each buck (egg yolk and milk techniques combined).

Conclusion

Sperm quality post-thaw is similar for both treatment until 5 h, at which time the milk treatment maintains the best quality. These data suggest that the link between loss of sperm quality and fertility rate could be seen after 5 hours post thaw. Although the that milk technique favors fertility in comparison to the egg technique, the variability of fertility rates among bucks has to be considered. Further fertility tests including more females will confirm these data. Therefore, we can nevertheless state that the simpler egg yolk approach can be recommended as an easy on-farm protocol to promote the use of semen cryopreservation and artificial insemination.

Comparaison des techniques de cryoconservation de la semence de bouc et d'inséminations artificielles chez la chèvre

Présenté par
Geneviève Maher

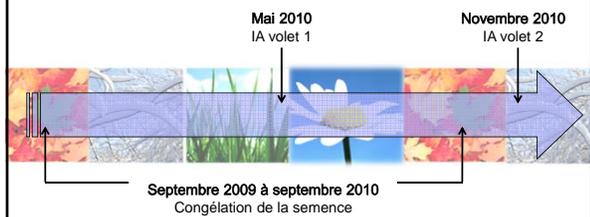


Plan de présentation

- 1- Projet cryoconservation semence
- 2- Projet synchronisation des chaleurs



Historique du projet



- Projwt#



Mise en contexte



Projet 1

Cryoconservation de la semence



La congélation de la semence ...

- ✓ Conserve génétique d'un animal reproducteur
- ✓ Amélioration génétique
- ✓ Insémination artificielle
- ✓ Augmentation production laitière



Objectifs

- Comparer 2 techniques de cryoconservation de la semence de bouc
- Mettre à l'essai le pouvoir fécondant de la semence cryoconservée par l'I.A.



Hypothèse

« Lors de la cryoconservation, les diluants à base d'œuf ou de lait influencent la qualité spermatique et le pouvoir fécondant de la semence de boucs »

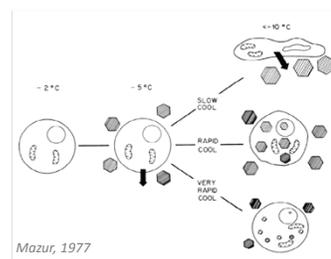


Congélation cellulaire

Chocs thermiques

Cristallisation

Stress osmotique



Particularités chez le bouc

Interaction entre composés du plasma séminal - composés des diluants de semence

BUS PG60

Glycoprotéine
Hydrolyse triglycérides du lait
Produit acides gras + acide oléique
Réactions acrosome spontanées

Leboeuf et al. 2003

ECJO

Phospholipase A
Hydrolyse lécithine du J.O.
Produit acides gras + acide oléique
Réactions acrosome spontanées

Iritani et al. 1961



Comparaison de 2 protocoles

Lait

Retrait plasma séminal
Centrifugations
Lait écrémé
14 % (v/v) glycérol
Glycerolisation
Capri-IA

Jaune d'œuf

Avec plasma séminal
15% jaune d'œuf
2% (v/v) glycérol

Sanchez 1998



Matériels et méthodes

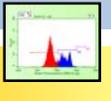
Récolte et analyses



Dilution et congélation



Analyses n=28



IA



- Volume
- 0 à 5 h incubation
- 4 éjaculats
- Concentration
- Mobilité
- 37 femelles
- Mobilité
- Viabilité
- Intégrité de l'acrosome
- Intégrité des mitochondries

Résultats

Semence fraîche

Caractéristiques de la semence fraîche (n=28 éjaculats)

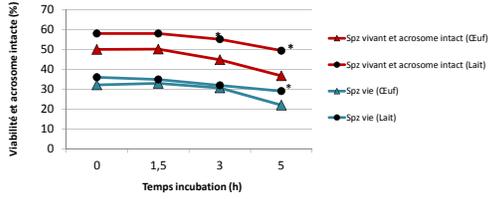
Paramètres	Analyses	S.E.
Volume	0.99 ml	0.71
Concentration	5.27 (10 ⁶ spz/ml)	1.37
Motilité	4.27/5	0.82
Viabilité	89.79%	2.47
Acrosome intacte	93.16%	1.91




Résultats

Semence décongelée

Viabilité et intégrité de l'acrosome 0 à 5h après décongélation selon le protocole de congélation (n=28 éjaculats) *P<0.05



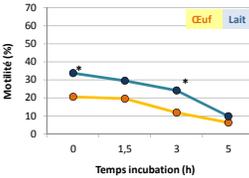
Temps incubation (h)	Spz vivant et acrosome intact (Œuf)	Spz vivant et acrosome intact (Lait)	Spz vie (Œuf)	Spz vie (Lait)
0	60	50	35	30
1.5	55	45	32	28
3	50	40	30	25
5	45	35	25	20



Résultats

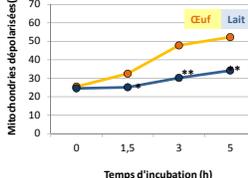
Semence décongelée

Mobilité des spermatozoïdes 0 à 5 h après décongélation (n=28 éjaculats) * P<0.05 ** P<0.01



Temps incubation (h)	Œuf	Lait
0	35	20
1.5	30	18
3	25	15
5	15	10

Activité des mitochondries 0 à 5 h après décongélation (n=28 éjaculats) * P<0.05 ** P<0.01



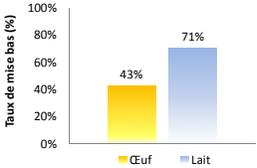
Temps d'incubation (h)	Œuf	Lait
0	25	20
1.5	35	25
3	45	30
5	50	35



Résultats

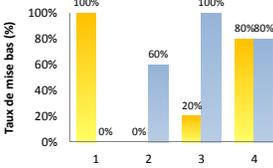
Fertilité

Taux de mise bas selon le protocole de congélation (n=31 femelles)



Protocole	Taux de mise bas (%)
Œuf	43%
Lait	71%

Taux de mise bas selon le bouc (n=31 femelles)



Bouc	Œuf (%)	Lait (%)
1	100%	0%
2	0%	60%
3	20%	100%
4	80%	80%



Conclusions et perspectives

- ✓ Motilité
- ✓ Réaction acrosome
- ✓ Viabilité
- ✓ Intégrité mitochondries



- ✓ Fertilité ...
- ✓ Variabilité entre individus



Projet 2

I.A.

Estrus naturels ou synchronisés



Synchronisation des chaleurs...

- Désaisonnement
- Facilite IA




Progestagène Analogue PGF 2α
 (Hormone progestatif eCG)

Anticorps anti-eCG après 3 traitements = Diminution de la fertilité



Objectif

- Mettre à l'essai une technique d'IA suite aux chaleurs naturelles chez les chèvres en saison de reproduction
- Certifier l'efficacité du protocole de congélation de la semence à base de lait



Hypothèse

« L'IA chez la chèvre en chaleur naturelle permet une fertilité similaire à l'IA chez la chèvre en chaleur synchronisée »



Matériels et méthodes

Novembre 2010

- 18 chèvres chaleurs synchronisées
- 19 chèvres en chaleurs naturelles
 - 2 boucs, 4 éjaculats
- Semence congelée dans le lait
- Chèvre ayant subi moins de 3 IA



Matériels et méthodes

Chaleur synchronisée

Jr 0
Pose CIDR

Jr 9
Injections

Jr 11
Retrait CIDR

Jr 12
Détection chaleurs

Jr 13
IA

• Chute progestatif
 • Induction

1. eCG induit croissance des follicules
 43 h ou 66 h après retrait du CIDR
 Intramusculaire

progestatif
 tendril provoquant l'ovulation
 même avec l'eCG



Matériels et méthodes

Chaleur naturelle

70 jours après début JC

Détection 2 fois par jour (8h00 et 20h00)

IA 12h après détection

Résultats

Échographie 50 jours

Chaleurs synchronisées

100% chèvres signes chaleurs 42h après le retrait du CIDR

Chaleurs naturelles

Détection des chaleurs et IA en 17 jours

Impact de la synchronisation des chaleurs sur la fertilité des chèvres n=34

Type de chaleur	Gestation échographique (%)
Chaleur synchronisée	66,67%
Chaleur naturelle	61,00%

Conclusion et perspectives

- ✓ Mises bas 25 avril- 10 mai
- ✓ IA chaleur naturelle possible
- ✓ Désavantages

✓ Efficacité du protocole de congélation à base de lait

Merci

Janice Bailey, François Castonguay, Mireille Thériault, Dany Cinq Mars, Christian Lessard

Impact eCG

Relation intervalle retrait éponge-début œstrus et nombre de traitement eCG

Relation intervalle retrait éponge-début œstrus et fertilité

Retardement de l'œstrus

↓ Fertilité

Chemineau et col. 1999

réussite à l'éjaculation

