

## Maîtrise de la production spermatique des béliers par des traitements associant la lumière et l'utilisation de mélatonine

J.M. ARRANZ (1), G. LAGRIFFOUL (2), Y. GUERIN (3), P. CHEMINEAU (3)

(1) SICA-Créom, Centre Départemental Elevage Ovin, 64 130 Ordiarp

(2) CNBL, SAGA, BP 27, 31 326 Castanet-Tolosan Cedex

(3) INRA, Station de Physiologie de la Reproduction, 37380 Nouzilly

**RÉSUMÉ** – En ovin les inséminations artificielles, réalisées en semence fraîche, ont lieu sur une courte période de l'année en avance de la saison sexuelle des béliers. A la Coopérative d'Insémination Ovine des Pyrénées, des essais associant traitement lumineux ("jours longs") et mélatonine ont été réalisés sur des antenais et des agneaux de la race Manech Tête Rousse. Quatre expériences successives avec des béliers recevant des traitements photopériodiques, en comparaison avec des lots témoins recevant seulement l'éclairage naturel, montrent l'intérêt de l'insertion d'implants de mélatonine après un traitement "jours longs" et permettent de déterminer la dose minimum efficace de mélatonine à employer ainsi que le régime d'insertion des implants. Dans le meilleur des cas (antenais traités avec "jours longs" puis trois implants de mélatonine) l'application du traitement a permis d'accroître de plus de 30 %, par rapport aux béliers témoins, le nombre de doses par éjaculat pendant les mois de juin et juillet. L'utilisation de mélatonine constitue une alternative pour le contrôle de la fonction de reproduction des béliers dans le cas de bergerie ouverte.

## Control of sperm production in rams by treatments associating extra-light and melatonin implants

J.M. ARRANZ (1), G. LAGRIFFOUL (2), Y. GUERIN (3), P. CHEMINEAU (3)

(1) SICA-Créom, Centre Départemental Elevage Ovin, 64 130 Ordiarp

**SUMMARY** – In the ovine species, artificial insemination (AI), with liquid semen, are performed over a short period of time in the year in advance of the male breeding season. In the Cooperative AI centre of the Pyrenees, experiments associating light treatments ("long days") followed by melatonin implantation were performed on yearling and ram lambs of the Manech Tête Rousse breed. Four successive experiments which were performed with different groups of light-treated rams, in comparison with untreated rams, have demonstrated the interest of inserting subcutaneous melatonin implants after a "long day" treatment and have allowed to determine the minimal efficient melatonin dosis to use. For the best treatment (yearling rams treated with two months of "long days" then 3 melatonin implants) a 30% increase in the number of AI doses produced per ejaculate, compared to control rams, was observed in June and July. The use of melatonin is an interesting alternative to light-proof barns, for the control of seasonal sexual activity of rams when maintained in open barns.

## INTRODUCTION

La plupart des centres d'insémination artificielle (IA) ovine font aujourd'hui largement appel au conditionnement lumineux des mâles. Ces traitements, mis au point au début des années 1980, sont rendus nécessaires par le fait que les IA, en semence fraîche, ont lieu en avance de saison sexuelle voire en contre-saison. Outre leur utilisation pour les béliers adultes, ces applications s'avèrent particulièrement intéressantes pour les jeunes béliers puisqu'elles permettent d'avancer la 1ère saison sexuelle. Les modalités de conditionnements lumineux les plus couramment usitées consistent à alterner des phases à durée d'éclairage longue (16 heures de jour et 8 heures de nuit, ou analogues) et des phases à durée d'éclairage courte (8 heures de jour et 16 heures de nuit), ces dernières étant stimulatrices de la fonction de reproduction chez les ovins. Ce type de traitement nécessite néanmoins de disposer de bâtiments complètement étanches, isolés de la lumière naturelle. L'application d'implants de mélatonine constitue une alternative à ce premier type de traitement, puisque l'utilisation de mélatonine provoque la lecture d'une durée d'éclairage courte (Malpaux et al., ce volume). Depuis 1992, la Coopérative d'Insémination Ovine des Pyrénées (CIOP) s'est orientée vers des programmes de traitement photopériodique associant simulation de jours longs ("jours longs") puis application de mélatonine. Nous présentons les résultats obtenus par la CIOP au cours des 3 dernières campagnes (de 1992 à 1994). Ces résultats sont comparés aux résultats acquis, depuis de nombreuses années, par l'INRA (Chemineau et al., 1988, 1992) et d'autres centres d'IA comme Insem-Ovin (à partir de 1981; Colas et al., 1984), la Confédération Générale de Roquefort et la coopérative Ovi-Test (à partir de 1986; Briois, Belloc et al., 1988) faisant plus largement appel au strict conditionnement lumineux.

## 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1.1. ANIMAUX ET PROTOCOLES

Quatre essais ont été réalisés comprenant de 2 à 4 lots de 10 à 20 béliers de race Manech Tête Rousse d'âge au testage (19 mois pour les antenais et 7 mois pour les agneaux) et de poids corporels comparables (tableau 1).

La totalité des animaux, sauf les agneaux du lot 1 de 1993 (élevés dans une bergerie annexe où l'éclairage est contrôlé totalement), sont maintenus dans des bâtiments ouverts et perçoivent donc l'éclairage naturel, auquel s'ajoute (lots traités) ou non (lots témoins) un éclairage artificiel supplémentaire. Ce dernier est fourni par des tubes "néons-lumière du jour" fournissant un minimum de 200 lux au niveau des yeux des animaux. Le traitement de type jours longs ("jours longs") a duré 58 jours, du 01/02 au 31/03 avec un éclairage artificiel le matin (de 6h30 à 8h30) et le soir ("flash" lumineux de 22 à 23 heures). La pose des implants de mélatonine a eu lieu le 01/04 : insertion sous-cutanée, à la base de l'oreille, d'implants "Mélovine®1" contenant 18 mg de mélatonine. En 1994, la pose des implants du lot 2 a été fractionnée en 2 interventions les 01/04 et 25/04. Pour le lot 1 de l'expérimentation sur les agneaux de 1993, cette phase d'éclairage est suivie d'une phase de durées d'éclairage décroissantes du 01/04 au 01/07 (raccourcissement d'un quart d'heure tous les 3 jours). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS.

### 1.2. MESURES

De janvier à juillet, les béliers sont pesés tous les mois. Les mesures des volumes testiculaires sont réalisées à l'aide d'un chapelet de boules de volumes croissants (STAB, 37000 Tours), toutes les 3 semaines, sauf durant la période d'insémination. La densité du testicule étant très proche de 1, les résultats sont exprimés en gramme de poids testiculaire. Durant cette période, qui s'étale du 1/06 au 15/07, les enregistrements concernant les caractéristiques des éjaculats sont effectués : nombre de sauts, volume, motilité et concentration de la semence, nombre de doses par éjaculat. Un suivi des mises-bas a été réalisé pour 78 % des IA.

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. EVOLUTION DES POIDS TESTICULAIRES

En l'absence de traitement, les poids testiculaires des antenais s'accroissent régulièrement (figure 1). La pose des implants de mélatonine induit une augmentation très significative et rapide de la taille des testicules qui passe, pour le lot 3 implants, de  $188 \pm 48$  ml à la pose, à  $288 \pm 52$  ml, deux

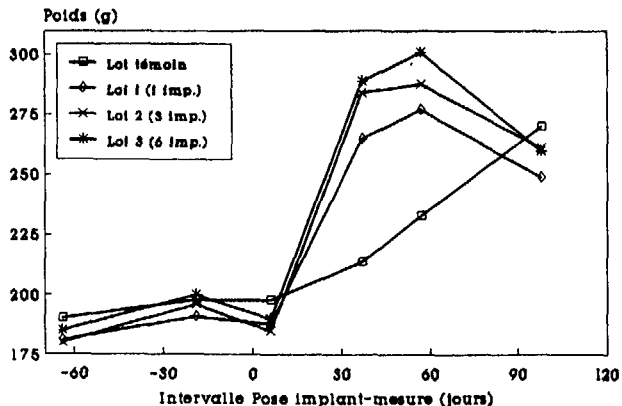
Tableau 1  
Présentation des différentes expérimentations menées à la CIOP depuis 1992.

An	Animaux	Lot témoin	Lot 1	Lot 2	Lot 3
1992	Antenais (poids = 51 kg)	Témoin (lumière naturelle) (n = 12)	jours longs puis lumière naturelle (n = 12)	jours longs + 1 implant de mélatonine (n = 11)	-
1993	Antenais (poids = 58 kg)	Témoin (n = 19)	jours longs + 1 implants de mélatonine (n = 18)	jours longs + 3 implants de mélatonine (n = 18)	jours longs + 6 implants de mélatonine en 1 intervention (n = 19)
1993	Agneaux (poids = 29 kg)	Témoin (n = 19)	jours longs + jours décroissants (n = 19)	jours longs + 2 implants de mélatonine (= 20)	-
1994	Antenais (poids = 58 kg)	-	jours longs + 3 implants de mélatonine (n = 20)	jours longs + 6 implants de mélatonine en 2 interventions (n = 20)	-

1 Mélovine ® est enregistré (AMM n° 675 525-4) et distribué en France par SANOFI Santé Nutrition Animale (BP 126 33501 Libourne Cédex. Mélovine ® est aussi connu comme Regulin ® dans d'autres pays.

mois après la pose. L'augmentation la plus marquée a été obtenue pour les béliers ayant reçu 3 implants. Les béliers ayant reçu 6 implants (directement ou en 2 implantations) n'ont pas présenté de différence avec ceux n'ayant reçu que 3 implants.

Figure 1 : Evolution des poids testiculaires des antenais de race Manech Tete Rousse au cours des essais réalisés en 1993.

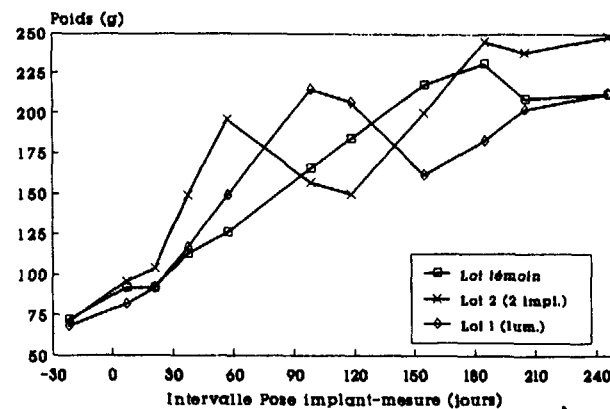


En ce qui concerne les agneaux (figure 2), l'utilisation de mélatonine entraîne un accroissement très significatif rapide de la taille testiculaire comparativement aux agneaux soumis aux seuls traitements lumineux. Après une diminution, durant l'été, la croissance testiculaire reprend à J+150. Le lot ayant subi le traitement lumineux seul présente une évolution comparable mais avec un décalage de temps de l'ordre de 1 à 2 mois. Si les effets des 2 traitements sont assez proches en intensité la mélatonine provoque un accroissement de la taille des testicules plus rapide, mais aussi moins persistant.

## 2.2. EVOLUTION DES POIDS CORPORELS

L'utilisation de traitements mélatonine ralentit la croissance des mâles, mais l'effet se limite aux deux mois qui suivent la pose. Le ralentissement de croissance est d'autant plus marqué que les apports en mélatonine sont élevés. En ce qui concerne les agneaux, le ralentissement de croissance est compensée par des gains de poids corporel plus rapides par la suite. Globalement, 240 jours après le début des traitements, il n'y a pas de différence de poids corporel entre les différents lots. De plus, dans tous les cas, les différences de poids observées ne sont pas significatives.

Figure 2 : Evolution des poids testiculaires des agneaux de race Manech Tete Rousse au cours des essais réalisés en 1993.



## 2.3. PRODUCTION DE SEMENCE

Pour les antenais, les volumes de semence les plus importants correspondent aux béliers ayant reçu 3 implants de mélatonine : +17 % à +18 % en comparaison au lot témoin. Chez les agneaux, les volumes ne sont pas significativement différents entre les lots (tableau 2).

Globalement, la concentration de la semence est légèrement plus faible pour les lots témoins :  $3,6 \cdot 10^9$  contre  $3,8$  à  $4,2 \cdot 10^9$  spermatozoïdes (sp.) par ml pour les antenais et  $3,4 \cdot 10^9$  contre  $3,6 \cdot 10^9$  à  $4,0 \cdot 10^9$  sp. par ml pour les agneaux. Mais cette différences n'est pas significative. En ce qui concerne la motilité, aucune différence significative n'existe entre les différents lots.

Par contre, en ce qui concerne le nombre de doses par éjaculat, pour les antenais, l'effet des traitements photopériodiques est hautement significatif ( $p < 0,001$ ). Les valeurs les plus élevées sont celles du lot ayant reçu 3 implants de mélatonine (lot 2/93 et lot 1/94) : 10,5 doses contre 7,9 pour les lots témoins soit un gain significatif de +32 %. Comparativement aux autres lots, le traitement "3 implants" permet d'accroître de façon significative le nombre de doses par éjaculat. Le gain pour les autres traitements (lumineux, mélatonine 1 ou 6 implants) est comparable et de l'ordre de +20 % (significatif) par rapport aux lots témoins.

Tableau 2  
Principales caractéristiques de la semence récoltée entre le 1/06 et le 15/07.  
Moyennes et écart-types entre parenthèses.

An/ catégorie de béliers		Nb. de béliers collectés	Nb. saut / béliers	Nb. doses / béliers	Volume / saut (ml)	Concen- tration ( $10^9$ sp / ml)	Nb. de doses par éjaculat
1992 Antenais	Témoin	12	29,7	234	0,88 (0,27)	3 626 (544)	7,86 (2,36)
	Lot 1	11	27,2	256	1,00 (0,20)	3 810 (305)	9,42 (1,70)
	Lot 2	13	21,4	209	1,03 (0,21)	3 882 (776)	9,79 (2,25)
1993 Antenais	Témoin	18	23,4	186	0,89 (0,22)	3 664 (550)	7,92 (2,22)
	Lot 1	18	21,1	200	0,91 (0,19)	4 233 (635)	9,48 (2,46)
	Lot 2	16	20,9	219	1,06 (0,29)	4 018 (402)	10,47 (2,41)
	Lot 3	19	21,4	217	0,96 (0,22)	4 255 (426)	10,14 (2,64)
1994 Antenais	Lot 1	18	21,9	236	1,05 (0,18)	4 160 (374)	10,80 (2,05)
	Lot 2	19	23,7	229	0,93 (0,12)	4 234 (381)	9,69 (1,36)
1993 Agneaux	Témoin	4	16,5	80	0,61 (0,12)	3 371 (910)	4,84 (1,55)
	Lot 1	4	13,0	67	0,62 (0,18)	3 529 (529)	5,13 (1,33)
	Lot 2	9	17,2	93	0,57 (0,12)	3 989 (479)	5,36 (0,91)

En ce qui concerne les agneaux, la collecte a été possible pour un nombre plus faible d'animaux pour les lots témoins et soumis au photopériodisme strict que pour le lot ayant reçu de la mélatonine : 21 % et 21 % contre 45 %, respectivement. En ce qui concerne le nombre de doses par saut, le gain est de +6 % pour le lot lumière et de +11 % pour le lot mélatonine, par rapport au lot témoin. Mais compte tenu du faible nombre d'animaux, ces différences ne sont pas significatives.

#### 2.4. SUIVI ET RÉSULTATS DES TAUX DE MISES BAS

Il n'y a aucune différence significative du taux de mise bas après IA, ni de la taille de portée entre les lots. Le suivi (de 2 000 à 3 400 brebis suivant les lots) montre un taux de fertilité (en % des mise bas) variable avec les années (55 % en 1992, 58 % en 1993 et 63 % en 1994). Les taux de prolificité varient entre 145 et 150 agneaux pour 100 brebis ayant mis-bas, selon les années.

### 3. DISCUSSION

L'utilisation de la succession d'une période de 60 "jours longs" et d'une période de traitement avec la mélatonine, distribuée sous forme d'implant, permet chez les béliers Manech Tête Rousse, d'obtenir une stimulation importante du poids testiculaire dans les cinq semaines qui suivent l'insertion sous-cutanée des implants. Cette augmentation de la taille du testicule reflète un accroissement de l'activité spermatogénétique beaucoup plus précoce chez les animaux traités que chez les animaux témoins maintenus sous le seul éclairage naturel. Chez ces derniers, en effet, il est nécessaire d'attendre 60 jours supplémentaires pour dépasser le poids testiculaire de 250 g, qui est celui de la saison sexuelle normale. Cette activité spermatogénétique plus précoce a des conséquences positives sur la quantité de spermatozoïdes collectés, puisque, dans le meilleur des cas (anténais recevant 3 implants en une seule pose), le nombre de doses d'IA par éjaculat est supérieur de plus de 30 % à celui des anténais du lot témoin. La diminution (1 implant) ou l'augmentation (6 implants) de la dose de mélatonine, pas plus que l'augmentation de la durée du traitement (deux poses successives) ne permettent d'améliorer les résultats obtenus. Les résultats obtenus par la CIOP sur la Manech Tête Rousse, avec des traitements associant la lumière et la mélatonine sont comparables aux résultats obtenus par les autres centres d'IA avec d'autres races, aussi bien pour la croissance testiculaire que pour les caractéristiques de la semence.

En revanche, en ce qui concerne les jeunes béliers âgés de 7 mois, l'application du même type de traitement ("jours longs"+mélatonine) procure une amélioration moins nette de l'activité spermatogénétique et/ou du nombre de doses d'IA produites par mâle ou par éjaculat : pas de différence significative entre les lots. Pour ces animaux âgés de 7 mois, les conditionnements réalisés sur la race Manech Tête Rousse n'ont donc pas permis d'obtenir d'aussi bons résultats que ceux des deux autres centres d'IA laitier sur la race Lacaune. En effet, les conditionnements lumineux pratiqués par Confédération ou Ovitest permettent de disposer d'environ 80 % des jeunes béliers dès leur première année, alors qu'à la CIOP seulement 40 % des béliers ayant reçu de la mélatonine ont pu être collectés. Cependant, d'autres facteurs du milieu d'élevage que la durée d'éclairage, tel que la présence de femelles dans les lots de jeunes béliers (Casteilla et al., 1987) pourraient également être impliqués dans les difficultés de collecte de ces jeunes béliers.

### CONCLUSION

Depuis le début des années 80 un conditionnement lumineux est effectué par plusieurs centres d'IA ovine (Insem-Ovin, Confédération, Ovitest, ADEO, Intersélection), au sein desquels des expérimentations ont été conduites en collaboration avec l'INRA.

L'utilisation de mélatonine pendant 3 mois associée à un traitement lumineux préalable constitue une alternative aux conditionnements photopériodiques stricts (cas des bergeries fermées) pour le contrôle de l'activité de la reproduction des ovins, dans le cas de bergerie ouverte. Ainsi, sur la base de ces différents résultats expérimentaux, les responsables de la CIOP ont généralisé l'utilisation de la mélatonine à l'ensemble des béliers à partir de 1994. La mise sur le marché dès cette année des implants Mélovine devrait permettre aux centres d'IA qui le souhaitent d'utiliser cette technique sur l'ensemble de leurs mâles dès la campagne 95/96.

### REMERCIEMENTS

Les protocoles expérimentaux et les résultats présentés ici ont été discutés au sein du Groupe Technique "Physiologie de la Reproduction" du Comité National Brebis Laitières. Les auteurs souhaitent remercier les membres de ce groupe et, en particulier JP Belloc (Ovi-Test) et M Briois (Confédération) pour leur aide précieuse. Ils remercient également SANOFI Santé Nutrition Animale et Hoechst UK pour la fourniture des implants Mélovine®, ainsi que JM Roques (Insem-Ovin) pour la relecture de ce texte.

### RÉFÉRENCES

- BRIOIS M., BELLOC J.P., GUERIN Y., COLAS G., 1988. 3<sup>e</sup> Congr. Mond. Reprod. Sélect. Ov. Bov. Viande, Paris 19-23 juin, vol. 1, 183-185
- CASTEILLA L., ORGEUR P., SIGNORET J.P., 1987. Appl. Anim. Behav. Sci., 19, 111-118.
- CHEMINEAU P., MALPAUX B., GUERIN Y., MAURICE F., DAVEAU A., PELLETIER J., 1992. Ann. Zootech., 41(3-4), 247-261.
- CHEMINEAU P., PELLETIER J., GUERIN Y., COLAS G., RAVAUULT J.P., TOURE G., ALMEIDA G., THIMONIER J., ORTAVANT R., 1988. Reprod. Nutr. Dévelop., 28(2B), 409-422
- COLAS G., GUERIN Y., CLANET V., ROQUES J.M., ALBERIO R., 1984. Journées Rech. Ovine et caprine, 9<sup>ème</sup>, 79-99
- COLAS G., GUERIN Y., LÉMAIRE Y., MONTASSIER Y., DESPIERRES J., 1986. Repr. Nutr. Dévelop., 26(3), 863-875
- COLAS G., GUERIN Y., BRIOIS M., ORTAVANT R., 1987. Anim. Reprod. Sci., 13, 255-262
- MALPAUX B., DAVEAU A., MAURICE F., CHEMINEAU P., 1995. Ce recueil de communications.