

Sources de variation génétiques et non génétiques des caractéristiques de production de semence chez le bouc

E. MANFREDI (1), B. LEBOEUF (2), L. BODIN (1), P. BOUE (3), P. HUMBLLOT (4)

(1) INRA, SAGA, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex

(2) INRA, SEIA, 86480 Rouillé

(3) CAPRI - IA, Agropole, 86550 Mignaloux-Beauvoir

(4) UNCEIA, 13, rue Jouet, BP 65, 94703 Maisons-Alfort

RÉSUMÉ – Les caractéristiques de la production de semence des boucs soumis à un test de production et de congélation de semence au Centre de Production de Semence de Capri-IA ont été étudiées pour déterminer l'influence des facteurs de variation génétique et non génétique. Le test ou « prétestage » est pratiqué en début de saison sexuelle, entre septembre et décembre, sur des jeunes boucs (279 jours d'âge à l'entrée en prétestage). Les données concernent 6702 et 4843 éjaculats correspondant, respectivement, à 424 boucs Alpains et 256 boucs Saanen entrés à Capri-IA entre 1989 et 1996. Les caractéristiques étudiées ont été le volume de l'éjaculat, le nombre de spermatozoïdes totaux ('nspz'), la concentration spermatique, la motilité individuelle des spermatozoïdes et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles après congélation et dégel ('pcm'). Les effets du mois, de l'âge, du rythme de collecte et de la race des boucs ont été testés. Des héritabilités et des répétabilités intra race ont été estimées avec un modèle animal avec répétitions.

Un effet significatif ($P < 0.01$) du mois de collecte a été observé pour les cinq variables. Pour les caractéristiques avant congélation les différences entre mois ont été stables : le volume et le nspz ont augmenté, respectivement, de 25 % et de 17 %, et la concentration a diminué de 6 %, entre septembre et novembre/décembre. Ces différences sont modulées d'année en année et peuvent varier légèrement selon la race. Pour les caractéristiques observées après congélation, les effets du mois de collecte sont soumis à des interactions avec l'année. Les effets de l'âge et du rythme de collecte ont été significatifs pour le volume, la concentration et le nspz mais ils ont eu une faible influence sur la motilité et le pcm. Pour toutes les variables, les différences entre races n'ont pas été significatives mais les héritabilités et les répétabilités estimées ont été plus faibles en race Alpine. En race Saanen les héritabilités ont été respectivement de 0,54, 0,31, 0,49, 0,22 et 0,18 pour le volume, la concentration, le nspz, la motilité et le pcm. Les valeurs correspondantes en race Alpine ont été de 0,36, 0,30, 0,34, 0,12 et 0,11. L'étude doit se poursuivre pour comparer les caractéristiques séminales des jeunes boucs avec leur production ultérieure et pour évaluer les avantages du remplacement du tri phénotypique pratiqué actuellement par un index.

Genetic and nongenetic sources of variation of characteristics of buck semen production

E. MANFREDI (1), B. LEBOEUF (2), L. BODIN (1), P. BOUE (3), P. HUMBLLOT (4)

(1) INRA, SAGA, BP27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex

SUMMARY – Genetic and nongenetic factors influencing characteristics of buck semen production were studied on data collected from 1986 to 1989 at the Artificial Insemination « Capri-IA » during a test on semen production and freezing. Semen was collected at the beginning of the breeding season (september to december) from young bucks with an average age of 279 days. The data corresponded to 6702 and 4843 ejaculates of 424 Alpine and 256 Saanen bucks, respectively. The volume, the total number of spermatozoa ('nspz'), the concentration and, the motility score and the percentage of motile spermatozoa after freezing (pms) were registered for each ejaculate. Tested effects were month, age and frequency of collection. Within-breed heritabilities and repeatabilities were estimated using an animal model with repeated records.

A significant effect ($P < 0.01$) of month of collection was found for the five variables. For characteristics observed before freezing, differences among months were stable : the volume and the nspz increased, from september to november/december, by 25 % and 17 %, respectively, while concentration decreased by 6 %. These mean differences among months were amplified or reduced according to years and they changed slightly according to the breed. For characteristics observed after freezing, the month effects interacted with the year of collection effects. Age and frequency of collection had significant effects on volume, concentration and nspz but only a small influence on motility and pms. For the five characteristics, breed differences were not significant but estimated heritabilities and repeatabilities in Alpine were lower than in Saanen. In Saanen, heritabilities of monthly averages per buck were 0,54, 0,31, 0,49, 0,22 and 0,18, for volume, concentration, nspz, motility and pms, respectively. Corresponding values for the Alpine breed were : 0,36, 0,30, 0,34, 0,12 and 0,11. The study will be completed by the comparison between semen characteristics of young bucks with their mature production and the evaluation of the advantages of replacing the current phenotypic culling by an index.

INTRODUCTION

La maîtrise des techniques de production et de conservation de la semence des boucs est essentielle pour la conduite des schémas de sélection des races Alpine et Saanen et pour les programmes de conservation des ressources génétiques. Comme la production de semence des boucs et sa conservation par congélation nécessitent des techniques spécifiques, les Centres de Production de semence ont mis en place un tri préalable des boucs producteurs de semence avant leur utilisation dans le cadre des schémas de sélection, ou « prétestage », conduisant à éliminer les individus dont la semence n'est pas apte à supporter l'épreuve de la congélation/décongélation, soit environ 40 % des effectifs de chaque série annuelle des boucs. La connaissance des facteurs de variation des caractéristiques de la semence mesurées pendant ce prétestage est une première étape pour améliorer la sélection des jeunes boucs sur leur production de semence en tenant compte en particulier des facteurs génétiques pouvant influencer la production.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le prétestage. Les boucs entrent à la Station Capri-IA à partir de l'âge de 3 mois et sont logés dans des cases individuelles de 4 m². Au début de leur première saison sexuelle, de septembre à décembre, ils sont soumis à un test d'aptitude individuelle à produire de la semence de qualité. Au début du test les animaux sont âgés de 279 jours en moyenne. Le test se déroule sur une période de deux mois environ sur la base d'un rythme de 2 sollicitations par semaine en présence d'une chèvre induite artificiellement en oestrus. Les observations enregistrées sont :

1. **Comportement sexuel** : le bouc dispose d'un délai de 3 minutes en présence de la chèvre bout en train pour donner un éjaculat. Au delà de ce temps, on considère qu'il y a refus de saut.

2. **Contrôles spermatisques** : pour chaque éjaculat obtenu, le volume est mesuré par lecture directe dans le tube de collecte gradué au 1/10 de ml. Un échantillon de 0.05 ml est prélevé et dilué dans 9.95 ml de sérum physiologique formolé pour déterminer la concentration de l'échantillon en spermatozoïdes par photocolorimétrie. Cette mesure, dont l'erreur ne dépasse pas 10 %, est plus appropriée que le comptage direct de spermatozoïdes pour une utilisation en routine. La concentration et le volume permettent de calculer le nombre total de spermatozoïdes contenu dans l'éjaculat. Si la concentration dépasse le milliard de spermatozoïdes/ml et le volume est supérieur à 0,2 ml, le sperme est ensuite traité pour séparer les spermatozoïdes du plasma séminal, qui a un effet nocif sur ceux-ci en dehors des voies génitales (Corteel, 1974). La semence est « lavée » avec une solution Krebs/Ringer/Phosphate/Glucose (KRPG) (Corteel, 1975). Pour cela l'éjaculat est dilué sur la base de 200 ou 400 millions de spermatozoïdes par ml de solution de lavage respectivement pour les éjaculats produits par les boucs de race Alpine et Saanen, puis centrifugé à 500-600 g pendant 15 minutes ; cette opération est répétée une fois (deux « lavages »). Après centrifugation, le surnageant contenant le mélange du plasma séminal et de la solution saline (KRPG), est éliminé. La semence est ensuite diluée à 20°C dans un dilueur lacté à base de lait de vache écrémé contenant du glucose et des antibiotiques (109 spz/ml), puis elle est refroidie à 4°C pendant une heure environ. Une deuxième dilution avec du lait glycérolé à 14 % est réalisé afin d'obtenir une concentration finale de 7 % de glycérol et 500 millions de spermatozoïdes par ml. Après 2 heures d'équilibration, la semence est conditionnée en paillettes de 0.2 ml qui sont disposées horizontalement sur des rampes situées à 18 cm au-dessus du niveau d'azote liquide pendant 2 minutes puis à 14 cm pendant 5 minutes avant d'être immergées dans l'azote liquide.

3. **Survie in vitro des spermatozoïdes** : la qualité in vitro de la semence est mesurée par le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et leur motilité estimée visuellement selon une échelle allant de 0 à 5. Dans tous les cas, la semence est examinée uniquement après décongélation et incubation d'une paillette de chaque éjaculat à + 37°C pendant 5 minutes. Seuls les éjacu-

lats ayant un pourcentage de spermatozoïdes mobiles et une motilité égaux ou supérieurs à 30 et 3 respectivement, sont conservés pour l'IA.

L'échantillon d'animaux étudiés. Cette étude a porté sur 680 boucs des races Alpine et Saanen soumis au prétestage entre 1989 et 1996 et ayant eu au moins 2 sollicitations avec production de doses congelées (tableau 1). Ce choix exclut les boucs ayant des résultats toujours négatifs en comportement sexuel (20 boucs) et ceux ayant produit des éjaculats éliminés pour insuffisance de spermatozoïdes (21 boucs). Les boucs retenus sont fils de 58 et 73 pères pour les races Saanen et Alpine respectivement.

Tableau 1
Caractéristiques de la production de semence de boucs
soumis au prétestage

	SAANEN	ALPINE
Animaux		
Nombre de boucs	256	424
Age au début du prétestage (jours)	283	277
Sollicitations /bouc	17,5	17,9
Caractéristiques des éjaculats avant congélation		
n	4483	7596
Volume (ml)	0,81 ± 0,40	0,80 ± 0,37
Concentration (milliards/ml)	3,84 ± 0,84	3,92 ± 0,82
Nspz (milliards)	2,79 ± 1,48	2,83 ± 1,47
Caractéristiques des éjaculats après congélation		
n	4094	6945
Motilité (note)	2,60 ± 0,86	2,60 ± 0,86
pcm (%)	46,39 ± 15,15	45,32 ± 14,96

Analyses statistiques. L'analyse a porté sur trois caractéristiques mesurées avant congélation, le volume (ml), la concentration spermatisque (en milliards/ml) et le nombre total de spermatozoïdes ('nspz' en milliards), et deux caractéristiques observées après congélation, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles ('pcm', en %) et la motilité individuelle (notée de 1 à 5). Les facteurs de variation testés ont été l'âge du bouc à la collecte (8 à 12 mois), le rythme de collecte (noté 1ère sollicitation ou sollicitation précédée de 3, 4 ou 7 jours) et la saison de collecte (mois par année de collecte). L'effet « jour de la semaine » n'a pas été testé car il était confondu avec le rythme de collecte. Pour chaque variable, les analyses ont concerné l'ensemble des deux races (pour tester les différences entre races) et pour chaque race séparément (pour estimer les paramètres génétiques). Dans tous les cas, la variabilité individuelle a été expliquée en utilisant un modèle animal avec répétitions où l'on suppose que les effets des boucs proviennent de leurs valeurs génétiques et de leurs effets d'environnement permanent. Les tests sur les effets de milieu ont été réalisés à l'aide du logiciel SAS (procédure « Mixed ») et le seuil de signification a été fixé à $P < 0,01$. Les héritabilités et les répétabilités ont été estimées avec la méthode du maximum de vraisemblance restreinte (logiciel VCE ; Groeneveld, 1994).

RÉSULTATS

Les moyennes arithmétiques pour les 5 caractéristiques étudiées figurent au tableau 1. Les effets de la race, l'année, le mois, l'âge et le rythme de collecte ont été testés pour ces cinq variables. En général, les différents modèles testés ont bien expliqué la variabilité des variables observées avant congélation (coefficients de détermination au-dessus de 30 %). En revanche, les mêmes modèles ont donné des faibles coefficients de détermination, entre 10 et 30 %, quand ils ont été appliqués aux variables observées après congélation. Il semblerait que les caractéristiques après congélation soient soumises à d'autres facteurs de variation non identifiés dans cette étude.

La saison. Les effets de la saison ont été significatifs pour les cinq variables étudiées. Pour les caractéristiques avant congélation, les différences dues aux mois de collecte ont été assez stables pour toutes les années et pour les deux races : en moyenne, entre septembre et novembre/décembre, le volume de l'éjaculat et le nombre de spermatozoïdes ont augmenté de, respectivement, 25 % et de 17 % alors que la concentration a diminué de 6 %. Ces différences sont modulées d'année en année et peuvent varier légèrement selon la race. En revanche, les différences entre mois de collecte pour la motilité et le pcm ont été variables d'une année à l'autre. Ces observations sont en accord avec les effets importants de la saison sur la quantité et la qualité de la semence rapportés dans des études préalables (cf. revue de Corteel, 1981) et les mécanismes physiologiques concernés ont été bien décrits (Chemineau et Delgadillo, 1994).

L'âge des boucs à la collecte. Ce facteur est apparu significatif pour les caractéristiques avant congélation mais pas pour la motilité et le pcm. Les éjaculats produits par les boucs les plus âgés (12 mois) ont présenté un volume plus élevé (+25 %), davantage de spermatozoïdes (+21 %) mais une concentration légèrement plus faible (-5 %) que les éjaculats produits par les boucs âgés seulement de 7 et 8 mois à la collecte. La motilité et le pcm ont été plus élevés pour les boucs âgés mais cette supériorité est faible (<4 % ; différences entre âges non significatives).

Le rythme de collecte. Des interactions entre les effets de ce facteur et ceux de la race ont été observés. Dans les deux races,

le rythme a eu une influence significative sur le volume et le nspz alors que, pour les caractéristiques post-congélation, l'effet du rythme n'a été significatif que pour la motilité en race Alpine. Dans tous les cas, les différences correspondant au rythme ont toujours été dues aux différences entre les premières sollicitations et les autres (repos de 3, 4 ou 7 jours) alors que les différences dues à des repos entre collectes espacées de 3 et 4 jours ont été négligeables. En race Alpine, la première sollicitation a donné, par rapport aux éjaculats obtenus après un repos de 4 jours, -17 % en volume, +1 % en concentration (non significatif), -16 % en nspz, -2 % en pcm (non significatif) et -8 % en motilité.

Répétabilités et héritabilités. Les paramètres génétiques ont été estimés pour les cinq caractéristiques de chaque éjaculat ou sur les valeurs moyennes mensuelles de chaque bouc. Les deux approches donnent des variances génétiques similaires mais les variances résiduelles des moyennes sont beaucoup plus faibles d'où des estimations d'héritabilités et de répétabilités assez élevées (tableau 2). Pour les deux races, les caractéristiques observées avant congélation ont des héritabilités plus élevées que celles estimées pour la motilité et le pcm. Des résultats similaires ont été observés chez les bovins (Ducrocq et Humblot, 1995) et les ovins (semence fraîche ; Duval et al., 1995). Pour les deux races, les effets individuels ont présenté une composante génétique mais également une composante non génétique importante qui peut être attribuée à l'état général du bouc avant et au cours du prétestage.

Tableau 2
Paramètres génétiques des cinq caractéristiques étudiées
(moyennes mensuelles par bouc) en races Alpine et Saanen

	SAANEN		ALPINE	
	répétabilité	héritabilité	répétabilité	héritabilité
Volume	0,71	0,54	0,66	0,36
Concentration	0,70	0,31	0,67	0,30
Nspz	0,65	0,49	0,63	0,34
Motilité	0,46	0,22	0,54	0,12
Pcm	0,46	0,18	0,51	0,11

L'analyse de l'ensemble des données n'a pas révélé d'effet important de la race sur les valeurs moyennes des cinq variables étudiées : la race Saanen a donné + 0,02 ml en volume, -0,03 milliards/ml en concentration, + 0,04 milliards en nspz, + 0,03 en note de motilité et + 1,04 % en pcm que la race Alpine (différences non significatives). En revanche, les héritabilités estimées ont été légèrement plus faibles en race Alpine qu'en race Saanen.

CONCLUSION

Cette étude a permis de confirmer l'influence de la saison, de l'âge et du rythme de collecte sur les caractéristiques de la semence des boucs. Pour la première fois, l'importance de l'effet individuel des boucs, avec ses composantes génétiques et non génétiques, a été mise en évidence. L'étude doit se poursuivre dans plusieurs directions. D'une part, il sera nécessaire de comparer les caractéristiques de production de semence des jeunes boucs en prétestage étudiées ici avec la production ultérieure en tant qu'adultes. D'autre part, il faudra évaluer les avantages du remplacement du tri phénotypique pratiqué actuellement dans les Centres de Production de

semence par un index prenant en compte les facteurs de variation concernés pour bien valoriser le suivi rigoureux assuré par Capri-IA. Un tel index servirait à identifier des individus déviants pour l'aptitude à la congélation, sans toutefois remettre en cause les objectifs prioritaires de sélection pour la filière caprine.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Bureau de Ressources Génétiques qui a cofinancé cette étude

Chemineau P, Delgadillo J. A., 1994, INRA Prod. Anim., 7 (5), 315-326

Corteel J. M., 1974, Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 14, 741-745

Corteel J. M., 1975, Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 15, 525-528

Corteel J. M., 1981, In : Goat Reproduction, 171-191, Academic Press (London)

Ducrocq V., Humblot P., 1995, Livest Prod Sci, 41, 1-10

Duval P., Belloc J. P., Albaret M., Girou P., Barillet F., 1995, Renc Rech Ruminants, 2, 429-434

Groeneveld E., 1994, Genet Sel Evol, 26, 537-545