

ZINC ET PRODUCTION DE SEMENCE DE BÉLIERS DE CENTRE D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Aurélien, Xavier COURIVAUD

Né, le 3 décembre 1980 à LIMOGES (Haute-Vienne)

Directeur de thèse : Mme le Docteur Nicole HAGEN-PICARD

JURY

PRESIDENT :
M. Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
Mme Nicole HAGEN-PICARD
M. Francis ENJALBERT

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

RESUME :

En 2001, une diminution constante de la concentration en spermatozoïdes des éjaculats des béliers a été mise en évidence sur une période de 10 ans au centre d'insémination INSEM-OVIN. Nous avons émis l'hypothèse selon laquelle une carence en zinc liée à un excès de calcium dans la ration pouvait être à l'origine de cette altération de la semence. 32 béliers du centre d'insémination ont été inclus dans l'étude et 15 d'entre eux ont reçu une supplémentation en zinc (300 mg par animal) tous les 3 mois par voie intramusculaire durant 1 an. L'évolution de la zincémie chez les deux groupes et la relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques des béliers ont été étudiés sur 2 périodes d'avril à juin 2003 et 2004.

Au début de l'expérimentation, la zincémie a été en moyenne de 9,28 $\mu\text{mol/L}$ pour les 32 béliers. Une augmentation significative des zincémies a été observée sur la deuxième période chez les deux groupes indépendamment du traitement. Dans le groupe témoins, elle pourrait être liée à une teneur plus importante en zinc du concentré.

Sur 9 béliers étudiés, nous n'avons pas mis en évidence d'effet de la supplémentation en zinc ou de la période sur les paramètres séminologiques ni de relation entre la zincémie et la qualité de la semence. En définitive, même si la relation entre la supplémentation en zinc et la qualité de la semence n'a pas été démontrée dans cette étude, le rôle du zinc sur la fonction de reproduction est classiquement admis. Par conséquent, il est important pour le centre d'insémination de contrôler la zincémie des béliers pour optimiser leur production de semence.

MOTS CLES : bélier, zinc, paramètres séminologiques, sperme, insémination artificielle, calcium

ENGLISH TITLE : Zinc and semen production from insemination centre rams.

In 2001, a constant decrease of spermatozoa concentration from ram's sperm was put in a prominent position during 10 years in the insemination centre INSEM-OVIN. We supposed that the zinc deficiency in relation with a calcium excess in the ration could be responsible for this semen alteration. 32 rams from the insemination centre were included in the study and 15 of them received a zinc intramuscular supplementation (300 mg per animal) every 3 month during 1 year. The evolution of the zincemia by groups and the relation between zincemia and seminologic parameters of rams were studied for 2 periods from April to June 2003 and 2004.

At the beginning of the experiment, the mean of zincemia was 9,28 mmol/L for all rams. A significant increase of zincémie was observed for the second period in the 2 groups independently of the treatment. In the witness group, it could be in relation with a most important rate of zinc in the concentrate.

From the study of 9 rams, we didn't put in a prominent position an effect of the zinc supplementation or of the period on the seminologic parameters and no relation between zincémie and semen quality.

Finally, even if we didn't demonstrate a relation between zinc and semen quality in this study, the role of zinc in reproduction is admits.

So, it's important for the insemination centre to control the rams zincémie to get better their semen production.

KEY WORDS : ram, zinc, seminologic parameters, semen, artificial insemination, calcium.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	P. DESNOYERS
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M.	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELF
	M.	M. ECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la reproduction*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*
N. **DESMAIZIERES Louis-Marie**, *Clinique équine*
M. **LEON Olivier**, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A Monsieur le professeur Jean PARINAUD
Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Biologie du développement et de la reproduction

D'avoir accepté de présider ce jury de thèse,

A Madame le Docteur Nicole HAGEN-PICARD
Maître de conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie de la reproduction

Pour son aide précieuse à la réalisation de cette thèse,

A Monsieur le professeur Francis ENJALBERT
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Alimentation

D'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse,

A mes parents pour leur soutien permanent même à distance et sans qui je n'en serais pas là,

A ma grand-mère pour la confiance qu'elle a toujours mis en moi,

A Anouck qui sait me soutenir quand j'en ai besoin ; mon amour t'es destiné,

A Kara, Davy, Yannick, Sylvain, Sydney, Mélanie, Elise et les autres pour tous les bons moments passés et à venir,

Je remercie particulièrement le laboratoire du service d'alimentation de l'ENVT pour son aide et sa bonne humeur permanente,

Je remercie le professeur Raymond pour sa collaboration à ce travail,

Je remercie le centre INSEM-OVIN pour son accueil chaleureux depuis 2002,

Je remercie les laboratoires INTERVET pour leur collaboration à ce travail.

Introduction	5
Introduction.....	7
A. Introduction et problématique.....	8
B. Présentation de la filière Insémination artificielle et d'INSEM-OVIN :.....	10
Le zinc dans l'organisme des petits ruminants.....	13
Le zinc dans l'organisme des les petits ruminants :.....	13
A. Répartition du zinc dans les tissus.....	13
B. Absorption du zinc :.....	13
1. Lieu et mécanismes de l'absorption :.....	14
2. Facteurs susceptibles de modifier l'absorption du zinc :.....	14
a. Niveau d'apport alimentaire :.....	14
b. Eléments et molécules pouvant interférer avec l'absorption de zinc :.....	14
c. Facteurs physiologiques et pathologiques :.....	15
C. Fluctuations de la teneur en zinc :.....	15
1. Dans le sang :.....	15
2. Dans les tissus :.....	16
D. Manifestations des carences en zinc chez les petits ruminants :.....	16
1. Modifications de l'état général :.....	16
2. Affection des téguments :.....	17
3. Affection du squelette :.....	17
4. Baisse des productions :.....	17
a. Croissance pondérale :.....	17
b. Production laitière :.....	17
c. Troubles de la reproduction : Cf. supra.....	18
E. Rôles du zinc dans la reproduction des petits ruminants :.....	18
Matériels et méthodes.....	21
A. Les animaux :.....	21
1. Présentation :.....	22
2. Conduite des animaux :.....	22
3. Critères d'exclusions de l'étude :.....	23
B. Mesures effectuées sur les béliers :.....	23
1. Etude de la zincémie :.....	24
2. Etude des paramètres séminologiques :.....	24
3. Examen échographique :.....	25
4. Examen anatomo-pathologique :.....	25
C. Analyse statistique des résultats :.....	27
1. Paramètres étudiés :.....	27
a. La zincémie :.....	27
b. Production de semence :.....	27
2. Analyses statistiques :.....	28
Résultats.....	30
A. Etude de la zincémie.....	30
B. Etude des paramètres séminologiques :.....	35
C. Etude de la relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques :.....	35
D. Echographies testiculaires :.....	37
E. Examens anatomo-pathologiques :.....	38
Discussion.....	40
A. Etude de l'évolution de la zincémie :.....	41
B. Etude de la corrélation entre la zincémie et les paramètres séminologiques des éjaculâts :.....	42
C. Autres facteurs pouvant modifier les paramètres séminologiques des éjaculâts :.....	44
Conclusion et perspectives.....	44

Table des illustrations :

Figure 1 : Evolution de la concentration moyenne en spermatozoïdes des éjaculats des béliers Texel d'INSEM OVIN sur une période de 1991 à 2001.

Figure 2 : Evolution de la concentration moyenne en spermatozoïdes des éjaculats des béliers Charollais d'INSEM OVIN sur une période de 1991 à 2001.

Figure 3 : Nombre de collecte par animal et par mois pour 9 béliers et pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

Figure 4 : Evolution de la zincémie (en $\mu\text{mol/L}$) chez les groupes traités et témoins. Les injections de zinc sont représentées par les flèches.

Figure 5 : Evolution de la zincémie (en $\mu\text{mol/L}$) d'un bélier représentatif du groupe traité entre mai 2003 et juillet 2004. Les injections de zinc sont représentées par les flèches

Figure 6 : Evolution de la zincémie (en $\mu\text{mol/L}$) d'un bélier représentatif du groupe témoin entre mai 2003 et juillet 2004.

Figure 7 à 14: Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après l'administration de zinc en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant l'administration de zinc chez les béliers traités et non traités.

Figures 15, 16 et 17 : Distribution des concentrations en spermatozoïdes, du volume de sperme et du nombre total de spermatozoïdes dans chaque éjaculat des 9 béliers pour les deux périodes (avril, mai, juin 2003 et 2004) en fonction de leur zincémie.

Tableau 1 : Analyse de la ration des béliers du centre INSEM OVIN calculée à l'aide du logiciel Larelev (Enjalbert, ENVT, 1989).

Tableau 2 : Analyse comparative de la composition du concentré distribué aux béliers en 2001 et en 2005.

Tableau 3 : Etude descriptive de la zincémie pour les deux groupes d'animaux (14 traités et 18 témoins) et pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

Tableaux 4, 5 et 6 : valeurs de la concentration en spermatozoïdes des éjaculats, de leur volume et du nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (moyenne \pm écart-type, médiane, étendue) des animaux traités et témoins pour les deux périodes de l'expérimentation (avril, mai et juin 2003 et 2004).

Photographie 1 : Coupes histologiques de testicules de béliers colorées à l'hémalun-éosine. [Martin et al, 1993]

Photographie 2 : Image échographique d'un testicule sain de bélier (coupe longitudinale).

Photographie 3 : Coupe de testicule de bélier présentant par endroit une hypoplasie des tubes séminifères associée à un élargissement de l'espace interstitiel (coloration Hémalun-éosine, X 40).

Photographie 4 : Coupes de tubes séminifères de testicule de bélier dont 2 ne présentent pas de lumière (coloration Hémalun-éosine, X 100).

Photographie 5 : Coupe de tubes séminifères de testicule de béliers présentant un tissu germinatif plus pauvre et plus grêle avec également des lésions de sclérose du tissu interstitiel (coloration Hémalun-éosine, X 100).

Zinc et production de semence de béliers de centre d'insémination artificielle.

Introduction

A. Présentation de la problématique

Dans le cadre de mon stage de première année de deuxième cycle réalisé en 2001 à INSEM-OVIN (Verneuil sur Vienne, Haute-Vienne, 87) une diminution constante de la concentration en spermatozoïdes des éjaculats (figure 1 et 2) de 3,5-4 milliards de spermatozoïdes / mL en 1991 à 2,5-3 milliards de spermatozoïdes / mL en 2000 a été mise en évidence chez des béliers de race Texel et Charollais.

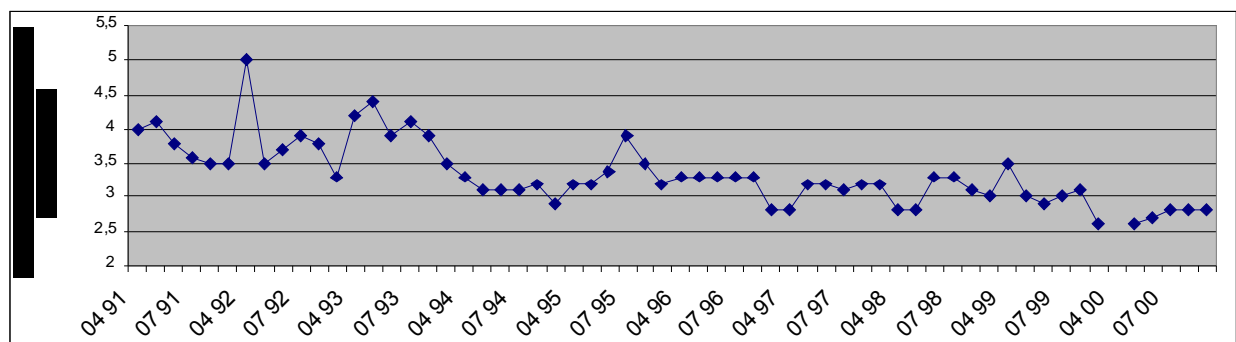


Figure 1 : Evolution de la concentration moyenne en spermatozoïdes des éjaculats des béliers Texel d'INSEM OVIN sur une période de 1991 à 2001.

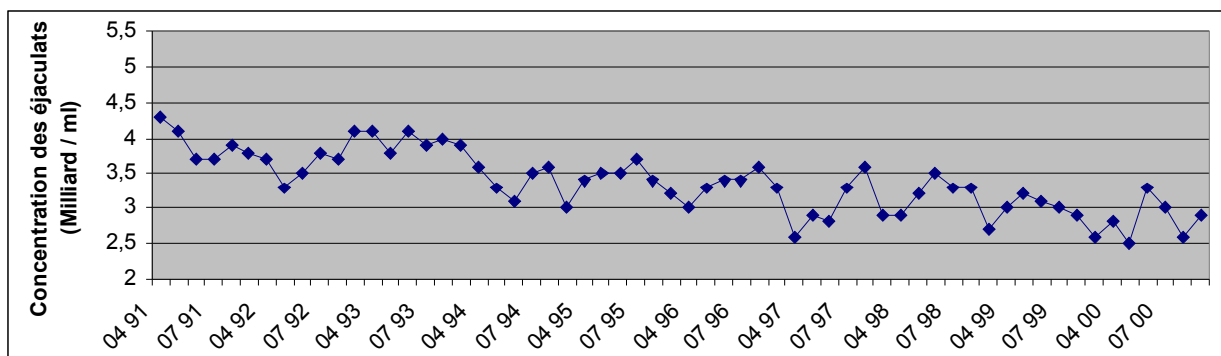


Figure 2 : Evolution de la concentration moyenne en spermatozoïdes des éjaculats des béliers Charollais d'INSEM OVIN sur une période de 1991 à 2001.

Dans un second temps, les causes de la diminution de la concentration en spermatozoïdes ont été recherchées. Une hypozincémie (concentration de zinc de 9,9 à 10,8 $\mu\text{mol/L}$) a été mise en évidence sur 9 béliers étudiés. L'analyse de la ration consommée en 2001 a montré un apport normal en zinc (53.4 ppm) mais un excès de calcium (environ trois fois les besoins requis) qui pourrait être à l'origine d'un défaut d'absorption du zinc (Tableau 1).

	Apport de la ration	Apport optimum	Apport minimum	Apport recommandé
MS totale	1.77			
Concentrés (%MS)	59.70			
UFL Fourrages	0.569			
UEM	1.76	1.76	1.76	1.76
UFL	1.67			
UFL / kg MS	0.067			
PDIE (g)	186	74.5	74.5	
PDIN (g)	179	74.5		137
(PDIE - PDIN) / UFL	4.03	0		12
Cellulose Brute (% MS)	13.7		20	
Calcium (g)	17.8		4.53	6.79
Phosphore (g)	8.19		3.3	
Zinc (ppm)	53.4		50	

Tableau 1 : Analyse de la ration des béliers du centre INSEM OVIN en 2001 calculée à l'aide du logiciel Larelev (Enjalbert, ENVT, 1989). Ils reçoivent un foin de prairie permanente à volonté, 1kg d'un concentré analysé par le laboratoire du service d'alimentation de l'ENVT, et 200g d'avoine.

Différentes causes pourraient être à l'origine d'une altération de la qualité de la semence (alimentation, xénobiotiques, rythme de collecte, stress, photopériode, pathologie, ...) [Picard-Hagen, Sourbe, 2002]. Nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'excès de calcium de la ration, pourrait être responsable, du moins en partie, de la diminution de la concentration en spermatozoïdes des éjaculats des béliers observée depuis 10 ans.

Notre thèse expérimentale s'inscrit dans la continuité de cette étude préliminaire. Notre objectif était de tester notre hypothèse et de déterminer l'effet d'une supplémentation en zinc par voie parentérale sur la zincémie et sur la production de semence des béliers.

Avant d'aborder cette étude expérimentale, je présenterai tout d'abord l'insémination artificielle ovine en France et le centre INSEM-OVIN ; puis je développerai l'importance du zinc chez les petits ruminants et plus particulièrement sur la fonction de reproduction. La partie expérimentale sera développée selon un plan classique : matériels et méthodes, résultats et discussion.

B. Présentation de la filière Insémination artificielle et d'INSEM-OVIN :

En France, le cheptel ovin a une vocation laitière et bouchère. L'insémination artificielle (IA) dans l'espèce ovine a débuté dans le rayon de Roquefort dans les années 70. Puis elle s'est développée dans les élevages ovins viande pour permettre la production d'agneaux en contre saison. De quelques milliers en 1971, l'effectif des brebis inséminées est passé à plus de 770 000 en 1995 avec une progression continue puisque l'on se situe autour de 870 000 IA ovines en 2003 [ANIO Compte rendu annuel sur l'IA ovine : campagne 1994 et 2003]. L'activité des centres d'IA ovine est très saisonnée avec 75% des IA réalisées de juin à août.

L'insémination artificielle est un outil indispensable d'amélioration génétique [Perret et al, 1995]. En effet, l'utilisation de l'IA permet :

- une meilleure connaissance de la valeur génétique des mâles grâce aux connexions entre troupeaux (filles et fils d'un même individu dans plusieurs élevages) ;
- un accroissement de l'intensité de sélection en multipliant le nombre de descendants par mâle sélectionné,
- une meilleure diffusion des mâles testés dans la population.

INSEM OVIN est une union de coopératives créée en 1981 qui regroupe 23 adhérents qui sont principalement des groupements de producteurs ou des coopératives des régions Limousin et Poitou-Charentes. Son rayon d'action concerne 43 départements, mais 50% de son activité se concentre sur deux départements : la Haute Vienne et la Vienne.

INSEM OVIN sélectionne des béliers de 9 races différentes, toutes des races à viande (Charollais, Texel, Vendéen, Rouge de l'Ouest, Suffolk, Ile de France, Berrichon du Cher, Charmoise et Romanov) et dispose ainsi des meilleurs béliers de ces races.

Cela signifie qu'INSEM OVIN est partie prenante avec les UPRA pour gérer le schéma de testage, et sélectionner des béliers améliorateurs pour les caractères élevage et boucherie.

Ces béliers sont issus d'élevages de la base de sélection et proviennent d'accouplements entre les meilleures mères à béliers et les meilleurs béliers. Les agneaux entrent dans un programme de contrôle individuel dans des stations où l'on évaluera leurs qualités (croissance, conformation, gras dorsal, poids, âge, ...). Les béliers sortant de ces stations pourront avoir plusieurs orientations :

- les dix meilleurs entreront dans un programme de testage où leur potentiel génétique est évalué à partir de leur descendance. En fonction des résultats de testage, ils pourront soit revenir dans leur élevage d'origine, soit entrer dans un centre d'insémination.
- Les autres béliers pourront soit entrer dans un centre d'insémination artificielle, soit revenir dans leur élevage d'origine, soit être achetés par des utilisateurs divers (coopératives, éleveurs) pour la reproduction.

Les caractéristiques des meilleurs béliers proposés sont classées selon les catégories suivantes :

- AMCR : améliorateur « croissance »
- Ambo : améliorateur « boucherie »
- Amel : améliorateur « élevage », à la fois AMVL (améliorateur « valeur laitière ») et AMPR (améliorateur « prolificité »)
- Elite : c'est-à-dire améliorateur « boucherie » et « élevage ».

INSEM OVIN gère l'élevage de 300 béliers ainsi que la collecte quotidienne des éjaculats afin de produire la semence. La qualité de la semence est évaluée d'abord macroscopiquement (volume, couleur de l'éjaculat), puis au microscope à contraste de phase (viabilité et concentration en spermatozoïdes). Elle est ensuite diluée et conditionnée afin de produire des paillettes de 1,4 milliards de spermatozoïdes mobiles.

INSEM OVIN assure également le service de l'insémination à ses adhérents. Deux possibilités sont offertes :

- l'insémination cervicale en semence fraîche
- l'insémination intra-utérine en semence congelée.

Les éleveurs ovins pourront alors choisir une race de bélier parmi les 9 proposées et le centre collectera la semence des béliers choisis pour inséminer les brebis.

INSEM OVIN réalise environ 140 000 inséminations par an, les 2/3 de l'activité se situant entre le 15 avril et le 5 juillet en contre saison ce qui permet de produire des agneaux de bergerie pour la boucherie. Par contre, les inséminations réalisées en saison sexuelle, du 15 juillet au 15 octobre ont plutôt une vocation génétique pour le renouvellement et l'amélioration du cheptel.

Les conditions sanitaires observées pour la production de semence à INSEM OVIN sont strictes : Les béliers sont contrôlés chaque année par le laboratoire de contrôle des reproducteurs de Maison Alfort qui effectue une analyse qualitative de la semence de chaque bélier (spermogramme) puis effectue une recherche sérologique de la brucellose et du « Visna Maedi ». L'hygiène de la collecte à tous les niveaux, du bélier jusqu'au conditionnement de la semence, permet de garantir sa qualité sanitaire.

Zinc et production de semence de béliers de centre d'insémination artificielle.

Métabolisme du zinc chez les ruminants

A. Répartition du zinc dans les tissus

Le zinc est présent dans toutes les structures de l'organisme mais, sa répartition dans les différents organes est variable ; les tissus riches en protéines et en calcium comme le foie, les muscles et les os sont plus riches en zinc [Miller, 1965], de 100 à 250 $\mu\text{g} / \text{g}$ de matière sèche, mais aucun tissu ne semble le stocker avec une préférence marquée [Hambridge et al, 1986]. En ce qui concerne les organes de la reproduction, la prostate est la plus riche en zinc (150 à 200 $\mu\text{g} / \text{g}$ de matière sèche) et les testicules contiennent environ 150 μg de zinc / g de matière sèche [Martin et al, 1993].

Il est à noter que chez les ovins, la laine est la structure la plus concentrée en zinc.

Moins de 0,5 % de la quantité totale de zinc du corps se trouve dans le sang. Ainsi, dans des conditions physiologiques normales, la concentration plasmatique en zinc chez les ovins varie de 0,8 à 1,2 mg/L, soit 11 à 18 $\mu\text{mol/L}$ [Lamand M., 1986]. On estime être en présence d'une carence lorsque la valeur de la zincémie est inférieure à 0,7 mg/L, soit 10 $\mu\text{mol/L}$.

B. Absorption du zinc :

1. Lieu et mécanismes de l'absorption :

L'intestin grêle est le site principal de l'absorption du zinc avec un rôle prépondérant du duodénum [Suttle et al, 1982]. Les mécanismes de l'absorption intestinale du zinc sont incomplètement élucidés mais, ils impliquent des phénomènes actifs faisant intervenir des métalloprotéines [Favier et al, 1980].

2. Facteurs susceptibles de modifier l'absorption du zinc :

a. Niveau d'apport alimentaire :

Le pourcentage de zinc contenu dans la nourriture est responsable de la plus grande variation de l'absorption intestinale du métal. Lorsque la concentration de l'oligo-élément augmente dans l'alimentation, la proportion de zinc absorbée diminue [Miller, 1971]. A l'inverse, lorsque la concentration diminue, la proportion de métal absorbé augmente. L'absorption intestinale dépend aussi des apports antérieurs : ainsi, elle sera maximale après une période de déficit, mais sera réduite si les besoins en zinc ont été précédemment largement couverts [Miller, 1970]. Il est donc possible que la zincémie soit impliquée dans la régulation de l'absorption du zinc.

b. Eléments et molécules pouvant interférer avec l'absorption de zinc :

- *les métaux* : des études réalisées essentiellement chez le rat ont montré que le cadmium, le cuivre et le fer ont un effet antagoniste sur l'absorption du zinc.

- *le soufre* : chez les ruminants, le soufre est métabolisé dans le rumen pour être utilisé dans la synthèse d'acides aminés soufrés. En cas d'excès et dans la mesure où le milieu ne contient pas suffisamment d'azote soluble et de métabolites énergétiques, il est transformé en sulfures qui réduisent la solubilité et la digestibilité du zinc [Lamand, 1990].

- *les phytates et le calcium* : Les phytates entraînent une baisse de l'absorption du zinc chez les monogastriques, en particulier lorsqu'il y a des taux de calcium élevés dans l'alimentation [Lamand 1990]. En effet, les phytates forment avec le zinc des complexes qui deviennent insolubles en présence de calcium. Chez les ruminants, lorsque les phytates sont administrés directement dans la caillette, ils entraînent la réduction de l'absorption du zinc mais ce phénomène n'est pas observé quand l'animal reçoit sa ration par voie orale car l'acide phytique est détruit par la flore du rumen [Lamand 1986].

Si la relation entre la carence en zinc et le calcium est clairement établie chez les monogastriques, ce n'est pas le cas chez les ruminants mais elle reste fortement évoquée. Cependant, une augmentation de la teneur en calcium de 0,6 à 2,4% d'un aliment entraîne chez les ovins une diminution de la concentration plasmatique de zinc sans affecter leur croissance [Miller 1970]. De plus, avec une ration dont la concentration en calcium est passée de 1 à 2%, Suttle et Fields (1970) ont observé une augmentation de l'excrétion fécale en zinc chez des béliers adultes.

c. Facteurs physiologiques et pathologiques :

Chez les ruminants, des études ont montré que l'absorption de zinc chez les jeunes veaux est supérieure à celle des vaches adultes qui ne sont pas en lactation [Miller, 1965]. Ces résultats suggèrent que l'intestin grêle a une plus grande capacité d'absorption du zinc chez les jeunes. Mais, lorsque l'alimentation est carencée en zinc (2ppm), l'absorption ne varie plus en fonction de l'âge ; la différence de teneur en zinc résulte donc aussi d'une accumulation plus importante de zinc dans les tissus en croissance des jeunes animaux.

Lorsque la vitesse du transit augmente, l'absorption du zinc diminue [Lamand 1986]. Ceci explique la baisse de la digestibilité du zinc observée avec une herbe jeune et lorsque la ration est plus finement broyée. La modification du transit digestif peut également avoir pour origine une pathologie digestive (d'origine infectieuse, parasitaire ou à composante inflammatoire). Lors de cette pathologie, l'absorption du zinc est diminuée en raison de la mauvaise digestibilité de la matière sèche.

C. Variations de la teneur en zinc :

1. Dans le sang :

Dans plusieurs espèces, des variations circadiennes du taux de zinc plasmatique ont été observées pouvant atteindre 30% chez les ovins [Dufty, 1977]. Toutefois, il est fort possible, comme cela a été montré chez l'homme, que ces variations soient liées aux repas avec une augmentation de la zincémie en période post-prandiale [Hambidge, 1986].

Il peut également exister des variations de la zincémie en fonction de l'âge mais elles ne sont importantes chez les ovins qu'entre les nouveaux-nés et les adultes qui ne sont pas en gestation [Hambidge, 1986].

De nombreux travaux ont montré que la zincémie dépend étroitement de la teneur en zinc dans l'alimentation. La diminution de la zincémie est d'autant plus rapide que l'apport est faible. Elle peut être observée 36h après un apport déficitaire de 1,2 ppm de zinc dans la ration et précède l'apparition de signes cliniques [Mills et al, 1967]. En revanche, les répercussions de la carence en zinc sur la

teneur dans les globules rouges sont différées. A l'inverse, lorsque les apports en zinc sont largement excédentaires, la concentration plasmatique de l'oligo-élément suit l'accroissement de sa teneur dans la ration.

En définitive, la zincémie constitue un bon reflet des apports alimentaires de zinc.

Cependant, dans le plasma, les mesures de zincémie peuvent être partiellement modifiées par des phénomènes d'hémolyse, les hématies contenant 5 fois plus de zinc que le plasma [Favier et al, 1980]. Il a également été démontré que des processus infectieux et inflammatoires peuvent être responsables de la diminution du taux plasmatique de zinc [Van Miert, 1990].

2. Dans les tissus :

Lorsque la ration est carencée en zinc, on observe une diminution de la teneur en zinc dans la plupart des tissus mais, la variation est souvent moins rapide et de moins grande amplitude que dans le plasma. La diminution n'intervient que dans les cas de carences intenses et n'est parfois observée qu'après l'apparition des symptômes.

Le métabolisme du zinc dans les tissus a été étudié grâce à l'utilisation de zinc radiomarqué [Miller et al, 1971]. Un pic des concentrations plasmatiques est observé 1 à 3 jours après une administration orale de Zn^{65} , suivi d'une décroissance très lente de la teneur plasmatique en zinc ; il en est de même pour le foie, le rein et le pancréas mais avec une affinité plus forte pour l'élément. Dans les érythrocytes et les os et plus encore dans les muscles et le tissu nerveux, le temps de demie vie et l'affinité du zinc pour ces tissus est très élevé. En effet, la teneur Zn^{65} dans ces organes augmente encore plusieurs semaines après administration d'une seule dose d'élément radiomarqué. Dans les poils, on observe l'incorporation d'un fort pourcentage de métal radioactif mais le zinc, accumulé dans cette structure, est ensuite indisponible.

Le niveau d'apport en zinc semble influencer l'affinité et le temps de demie vie du métal.

En cas de déficit alimentaire en zinc, une augmentation de l'absorption intestinale et une diminution de l'excrétion fécale du zinc a été constatée [Miller, 1991]. De plus, chez des animaux recevant un régime carencé en zinc, une augmentation du temps de demie vie, sur l'ensemble des tissus, est observée [Miller, 1968].

D. Manifestations des carences en zinc chez les ruminants :

1. Modifications de l'état général :

La carence se traduit au début par une baisse d'appétit ; les animaux trient et gaspillent la ration et les quantités ingérées demeurent irrégulières d'un jour à l'autre. Puis, l'anorexie s'aggrave et entraîne un amaigrissement [Lamand, 1971].

2. **Affection des téguments :** [Lamand, 1971]

On observe progressivement une dermite diffuse sans prurit faisant penser à un eczéma. La peau s'épaissit et devient squameuse. Il se développe une parakératose aux endroits de frottement pouvant entraîner des ulcérations. Des zones d'alopecie apparaissent chez les jeunes, en particulier autour des yeux et du nez. Chez les ovins, la toison s'effiloche et tombe.

Les muqueuses, surtout buccales, deviennent rouges et enflammées. L'animal présente une salivation excessive et un larmoiement.

La couronne au dessus des onglons s'épaissit et se craquelle. La corne des sabots se déforme et se fendille.

Les plaies accidentelles ne guérissent pas ; celles-ci restent roses car aucun tissu de granulation ne se développe.

3. **Affection du squelette :**

On observe des déformations articulaires, en particulier au niveau des jarrets et des grassetts. Il semblerait aussi qu'il y ait une altération de la minéralisation osseuse.

4. **Baisse des productions :**

Ce sont les premiers symptômes qui apparaissent même lorsque la carence en zinc est faible et n'entraîne pas d'autres signes cliniques. Les performances sont plus faibles notamment en présence d'une polycarence en oligo-éléments.

a. Croissance pondérale :

Mills et al (1967) ont observé une diminution du gain moyen quotidien (GMQ) sur des veaux et des agneaux recevant une ration carencée en zinc. La supplémentation en zinc rétablit la croissance pondérale qui devient progressivement comparable à celle des lots témoins.

b. Production laitière :

Haaranen et Hyppola (1971) ont observé, dans des conditions naturelles en Finlande, une chute de la production de lait sur des vaches qui présentaient une carence en zinc associée à des symptômes plus spécifiques. La production de lait est redevenue normale deux semaines après supplémentation de cet oligoélément.

c. Troubles de la reproduction : Cf. supra

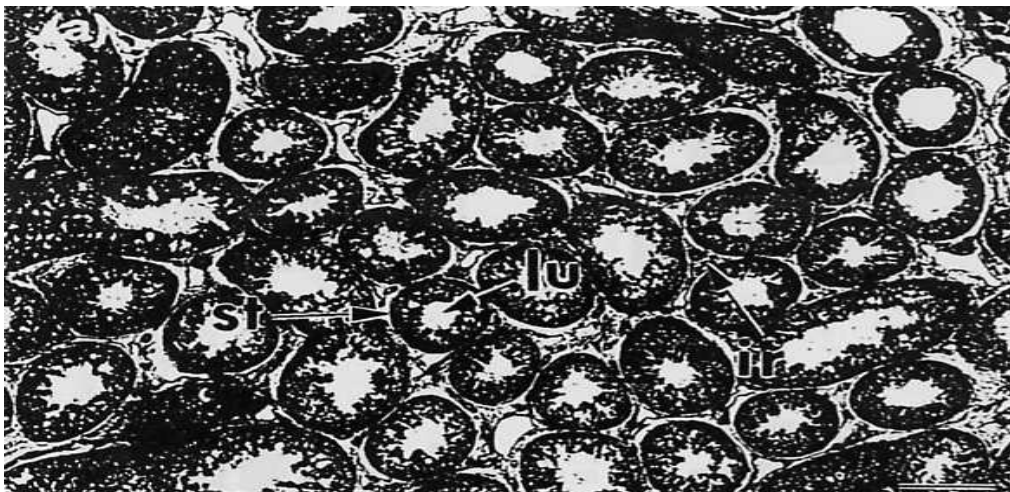
E. Rôles du zinc dans la reproduction des ruminants :

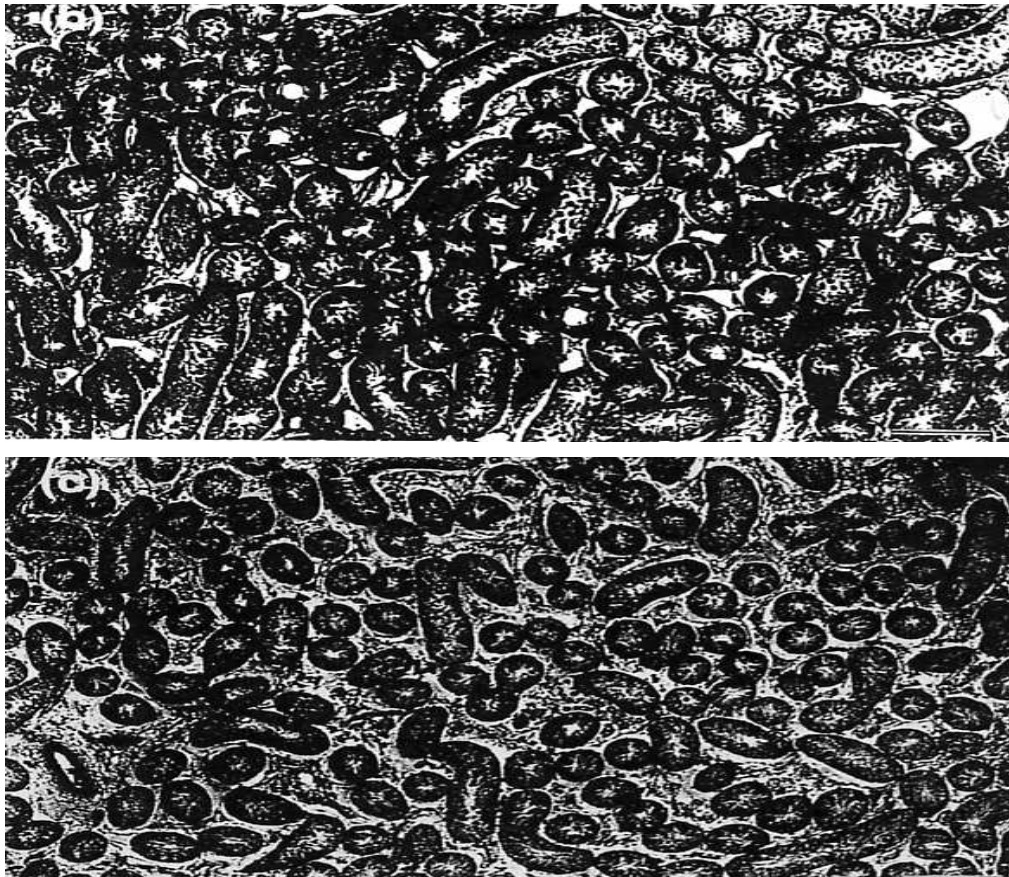
Il est généralement admis que le zinc est un oligo-élément essentiel à la reproduction des animaux et de nombreuses études ont été réalisées pour analyser les conséquences d'un déficit en zinc sur la reproduction [Martin et White, 1993].

Chez le bélier, le taux de zinc dans la sperme se situe autour de $7,8 \mu\text{g} / \text{mL}$, soit environ 7 fois les concentrations plasmatiques [Hambidge, 1986].

Martin et White (1993) ont étudié les conséquences d'un déficit en zinc chez des béliers et ont constaté :

- une diminution du poids des testicules qui pourrait être associé directement au déficit en zinc et à une inhibition de la synthèse de gonadotrophines.
- une diminution de la concentration en zinc dans le testicule.
- une diminution de la concentration en testostérone dans le testicule qui serait associée à un dysfonctionnement des cellules de Leydig
- au niveau histologique : des anomalies de développement des tubes séminifères avec une diminution de leur nombre, une lumière plus petite et un plus grand développement du tissu interstitiel (Photographie 1). Ces anomalies pourraient être expliqués par une diminution de la concentration plasmatique en FSH [Martin et White, 1993] et de la concentration testiculaire de testostérone.





Photographie 1 : Coupes histologiques de testicules de béliers colorées à l'hémalun-éosine. (a) Testicule de béliers nourris à volonté avec une ration contenant $27 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de zinc. Noter la taille normale de l'épithélium des tubes séminifères (st) et de leur lumière (lu) ainsi que la faible place laissée à l'espace interstitiel (ir). (b) Testicule de béliers nourris avec la même ration mais distribuée seulement 2 fois par jour. Noter la plus petite taille des tubes séminifères et de leur lumière. (c) Testicule de béliers nourris avec une ration carencée en zinc ($4\mu\text{g Zn g}^{-1}$). Les tubes séminifères sont aussi plus petits et leur lumière est très réduite. Noter la large place laissée au tissu interstitiel. La barre d'échelle représente $100\mu\text{m}$. [d'après Martin et White, 1993]

Ces modifications physiopathologiques entraînent une diminution de la motilité des spermatozoïdes et une augmentation du nombre d'anomalies spermatiques. En effet, la tête des spermatozoïdes contient une forte teneur de zinc qui participe au maintien de l'intégrité de l'ADN du noyau et prévient la dégradation de cet ADN par des enzymes présentes dans le spermatozoïde. Une teneur insuffisante de zinc dans le noyau pourrait déstabiliser la structure quaternaire de la chromatine, réduire la quantité d'ADN du spermatozoïde et ainsi réduire son pouvoir fécondant. C'est ainsi qu'une diminution de la fertilité a été observée chez les béliers nourris avec une ration carencée en zinc [Martin et White, 1993].

Zinc et production de semence de béliers de centre d'insémination artificielle

Matériels et méthodes

L'objectif de l'étude est d'évaluer l'effet de l'administration de zinc par voie intramusculaire sur les paramètres séminologiques des éjaculats des béliers.

32 béliers de race Charollais, Texel et Vendéen ont été inclus dans l'étude et ont été répartis de façon aléatoire en 2 lots, un lot « témoin » et un lot « traité », pour lequel chaque animal a reçu régulièrement une administration de zinc par voie intramusculaire.

- Le groupe témoin comprend 6 béliers de chaque race, soit 18 béliers au total
- Le groupe traité est composé de 5 béliers de chaque race, soit 15 béliers au total.

La production de semence de ces béliers a été suivie pendant 1 an (1,5 mois avant le début des administrations de zinc, puis 10 mois après la première administration). La concentration en zinc a été évaluée dans le plasma tous les mois et demi pendant la première année. Les animaux ont subi au début de l'expérimentation un examen échographique des testicules.

A. Les animaux :

1. **Présentation :**

Les béliers inclus dans cette étude sont de races «à viande» : la race Charollais (11 animaux), la race Texel (10 animaux) et la race Vendéen (11 animaux). Ces béliers ont été sélectionnés pour leurs aptitudes bouchères évaluées chaque année par les UPRA de chaque race.

Ils ont également été sélectionnés pour leur capacité à produire des éjaculats de qualité à leur entrée au centre d'insémination.

Ces animaux ont été élevés au centre d'insémination. Les animaux sont nés entre novembre 2001 et mars 2002 et avaient atteint leur maturité sexuelle lors de notre étude.

Les éjaculats ont été collectés le matin, soit de façon individuelle, soit de façon collective par mélange de deux ou trois éjaculats afin de préparer les doses de semence fraîche ou congelée destinées à l'insémination.

La période d'étude s'est étendue d'avril 2003 à juin 2004 au cours de laquelle les béliers ont été collectés essentiellement entre les mois d'avril à juillet. Le rythme de collecte a varié en fonction de la demande des éjaculats et de la valeur génétique du bélier ; il est au maximum de 2 sauts par animal et par jour.

Lors de l'étude, les béliers de race Charollais ont été soumis à des conditions photopériodiques contrôlées de façon à ce que la durée des jours soit inversée par rapport à celle des autres béliers. Le rythme choisi est le suivant :

- du 15 juillet environ au 15 février, la durée d'éclairage est augmentée progressivement afin que les béliers soient en période de jours longs.

- du 15 février environ au 15 juillet, la durée d'éclairage est diminuée afin que les béliers soient en période de jours courts.

Les béliers Charollais ont surtout été utilisés en contre saison, c'est à dire essentiellement de mars à juillet alors que les béliers vivant en lumière naturelle ont été essentiellement collectés en saison sexuelle de mai/juin à septembre/octobre.

2. **Conduite des animaux :**

Les béliers ont été répartis dans trois bergeries à l'intérieur desquelles ils sont logés dans des boxes par groupe de quatre à six. Leur ration se compose de foin de prairie permanente à volonté, distribué au cours de la journée en même temps que le concentré, le matin après la collecte de sperme et le soir, soit au total 1 kg de concentré par animal et par jour. Une supplémentation de 200g d'avoine est apportée sur la période du 15 février au 31 juillet (période au cours de laquelle les béliers sont davantage collectés) pour apporter un surplus d'énergie et permettre un « flushing ». Lorsque leur activité sexuelle est réduite, la quantité de concentré est diminuée et les béliers n'en reçoivent

plus que 750g voire 500g de concentré par bélier et par jour. Enfin, une supplémentation vitaminique (Force7ND, essentiellement Vitamine A : 10.0 MUI/L, Vitamine D3 : 4 MUI/L et Vitamine E : 7.5 g/L) est ajoutée chaque semaine dans leur eau de boisson à raison d'une dose correspondant à 4 mL par animal et par semaine.

Le concentré a été analysé au laboratoire d'alimentation de l'ENV Toulouse (31, France) en 2001 et à nouveau en 2005 et la ration a été calculée à l'aide du logiciel Larelev (Enjalbert, ENVT, 1989) en prenant en compte des besoins supplémentaires de 20% pour des béliers en activité.

Les aliments pris en compte pour le calcul de la ration sont un foin de prairie permanente, à l'épiaison, un concentré d'avoine et le concentré dont la composition est la suivante (en g% / brut) :

Apports			<u>2001</u>	<u>2005</u>
<u>2001</u>				
MAT (g / 100g de brut)	14,7	13,49		UF (/ kg Mat. brute)
0.92				
CELLULOSE (g / 100g de brut)	9,46	7,04		PDIN (g)
110				
MINÉRAUX (g / 100g de brut)	8.64	6,05		PDIE (g)
110				
AMIDON + SUCRE (g / 100g de brut)	30		VITAMINE A	10 000
UI				
PHOSPHORE (ppm)	5		VITAMINE D3	2050
UI				
CALCIUM (ppm)	1.3	1,1	MAT GRASSE (g %)	2.86
ZINC (ppm)	69,27	94,16		

Tableau 2 : analyse comparative de la composition du concentré distribué aux béliers en 2001 et en 2005.

3. Exclusion de l'étude :

Un bélier de race Texel du groupe traité, mort au début de l'étude, a été exclu de l'étude.

B. Mesures effectuées sur les béliers :

1. Examen de l'appareil reproducteur :

L'examen de l'appareil génital a consisté en une inspection du prépuce et du pénis ainsi que la palpation des épидидymes et des testicules. Les testicules des animaux ont été palpés tous les mois et demi avant chaque prélèvement sanguin.

2. Etude de la zincémie :

Les béliers du groupe traité ont reçu à partir du 8 juillet 2003 une administration de zinc par voie intramusculaire (Prolontex Zinc®, Intervet, Angers, France) dans le tiers supérieur de l'encolure. La posologie est de 300 mg de zinc par animal correspondant à un volume de 5 mL.

La voie parentérale a été choisie pour court-circuiter l'effet du calcium sur l'absorption digestive du zinc.

Les injections ont été renouvelées tous les 3 mois durant toute la durée de l'expérimentation, soit au total 4 administrations. Les prélèvements sanguins ont toujours été réalisés avant l'administration de zinc.

La zincémie a été dosée tous les mois et demi à partir du 05 mai 2003 jusqu'au 10 juin 2004. Des prélèvements sanguins de 10 mL ont été réalisés par ponction directe de la veine jugulaire. Le sang a été transféré dans un tube héparinate à bille sans bouchon en caoutchouc et mélangé par retournement. Le prélèvement sanguin a été effectué par coulée et non par aspiration de façon à ne pas induire d'hémolyse. Dans les deux heures suivant le prélèvement, les tubes ont été centrifugés (1200g pendant 10 minutes à 4°C) et le plasma a été récupéré dans des tubes en polypropylène de 5 mL et stocké à -20°C jusqu'à la réalisation des dosages.

Le zinc plasmatique a été dosé au laboratoire du service d'alimentation de l'ENV Toulouse par spectrométrie d'absorption atomique après déprotéinisation par l'acide chlorhydrique à 10% selon la méthode de Lamand [1987] dont le protocole est le suivant :

2mL de plasma ont été mélangés avec 1mL de HCl₃. Après une incubation de 10 minutes, 7 mL d'eau distillée sont ajoutés et le mélange est homogénéisé. Les tubes sont enfin centrifugés 20 minutes à 4000 tours / min.

Les tubes sont alors lus au spectrophotomètre d'absorption atomique pour obtenir la valeur de la zincémie.

3. Etude des paramètres séminologiques :

Après la récolte de l'éjaculat, le volume est mesuré directement sur le tube gradué utilisé pour le prélèvement. La motilité massale du sperme est ensuite évaluée par observation d'une goutte de sperme sur plaque chauffante à l'aide d'un microscope optique (grossissement x40). Une note est attribuée à l'échantillon, de 0 (aucun mouvement de spermatozoïdes) à 4+ (nombreux mouvements rapides et trajectoires normales). Tout éjaculat dont la note de motilité est inférieure à 3 est éliminé.

Si la semence de plusieurs béliers est utilisée en mélange, une note de motilité inférieure à 3 conduit à collecter à nouveau le sperme des béliers et à évaluer la motilité du sperme de chaque bélier. La concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat a été calculée par mesure de la densité optique par spectrophotométrie. Le protocole suivant est utilisé : 50 µL de semence pure est diluée dans 10mL de solution de NaCl 9%, formolé à 0.1%. La densité optique mesurée est proportionnelle à la concentration du sperme en spermatozoïdes. Les valeurs sont données en milliards de spermatozoïdes par mL.

Le volume et la concentration en spermatozoïdes permet de déterminer la quantité de dilueur à ajouter pour obtenir in fine 1.4 milliards de spermatozoïdes par paillette, ainsi que le nombre de doses par éjaculat.

Les informations suivantes ont été enregistrées : l'identification du bélier par son numéro de travail à quatre chiffres, la nature de la semence : mélange d'éjaculats ou prélèvement individuel, la date de la collecte, la motilité massale, le volume, la concentration en spermatozoïdes, le nombre de doses produites et le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat.

Dans cette expérimentation, n'ont été analysés que les prélèvements de sperme utilisés individuellement puisque, pour les éjaculats utilisés en mélange, les paramètres séminologiques individuels n'ont pas été déterminés.

4. Examen échographique :

Un examen échographique des testicules de chaque bélier a été effectué au début de l'étude afin de rechercher d'éventuelles anomalies testiculaires.

L'appareil utilisé est un échographe 100LC Vet) équipé d'une sonde linéaire de fréquence 8 MHz. L'animal est maintenu en position couchée par un aide, les testicules sont descendus au fond du scrotum et le manipulateur déplace la sonde sur le scrotum. Des coupes longitudinales de chaque testicule ont été réalisées et la visualisation du rete testis a permis de situer le plan médian du testicule.

5. Examen anatomo-pathologique :

L'étude anatomo-pathologique a permis d'évaluer l'intégrité du tissu testiculaire et de mettre en évidence d'éventuelles lésions microscopiques associées à une carence en zinc.

Les testicules de deux béliers élevés dans les mêmes conditions que les animaux de notre étude ont été prélevés post mortem.

Il s'agit d'un bélier de race Charollais âgé de 3 ans et d'un bélier Rouge de l'Ouest âgé de 4 ans qui sont morts consécutivement à une pathologie digestive. Les testicules de 2 béliers Romanov de 4 ans, de l'ENVT ont été pris pour contrôle.

a. Prélèvement et fixation tissulaire :

Les testicules ont été coupés en deux dans le plan sagittal, puis sur chaque demi testicule, trois cubes d'environ 1 cm de côté ont été prélevés respectivement au niveau de la partie dorsale, moyenne et ventrale. Chaque cube a alors été fixé dans du formol à 10% tamponné. Chaque prélèvement est alors recoupé avant de les inclure en paraffine.

b. Technique histologique :

Des coupes sériées de 3-5 μm d'épaisseur de chaque bloc ont été réalisées au microtome. Les coupes sont récupérées en milieu liquide (bain marie à 40°C), puis étalées sur des lames de verre et séchées à l'étuve à 56°C pendant 12 heures.

c. Coloration histochimique :

Avant coloration, les lames subissent des étapes communes de déparaffinage et de réhydratation : les lames sont déparaffinées dans du toluène (1 bain de 5 minutes), puis réhydratées dans des bains successifs d'éthanol de concentration décroissante (1 bain de 5 minutes dans l'éthanol absolu puis 1 bain dans l'éthanol à 95°), avant d'être lavées 5 minutes à l'eau courante.

Pour chaque prélèvement, une coupe est colorée à l'hémalun-éosine : les lames sont plongées 20 secondes dans une solution d'Hémalun de Mayer (Merck, France), rincées et placées 12 secondes dans une solution d'Eosine-Erythrosine (Merck, France) aqueuse à 1%.

Après la coloration, les lames ont été déshydratées par des bains successifs d'éthanol de concentration croissante, puis placées dans du toluène. Des lamelles sont montées sur les lames à l'aide d'un baume synthétique (Micromount mounting medium, Labonord, France).

d. Lecture :

La lecture a été réalisée sur un microscope photonique Nikon Eclipse 400, à l'aide de différents objectifs (X4 à X40). La lecture a été réalisée par deux opérateurs, moi-même et I. Raymond, anatomo-pathologiste de l'ENV Toulouse.

C. Analyse statistique des résultats :

Dans un premier temps, l'évolution de la zincémie a été comparée pour les deux groupes témoin et traité. Dans un deuxième temps, la relation entre la zincémie des béliers et les paramètres séminologiques a été étudiée sur les deux périodes d'avril à juin 2003 et 2004.

1. Paramètres étudiés :

a. La zincémie :

La moyenne des 2 zincémies du 05/05/03 et du 08/07/03 (correspondant à la période précédant le début de la supplémentation en zinc) pour la première période et la moyenne des 3 dernières zincémies (le 22/03/04, le 08/05/04 et le 10/06/04) pour la deuxième période ont été étudiées. Les moyennes \pm écart-type, les médianes et les étendues des zincémies ont été calculées pour les 2 périodes.

b. Production de semence :

Un grand nombre de semences ont été utilisées en mélange, et de ce fait, le nombre de paramètres séminologiques individuels est relativement réduit pour un grand nombre de béliers. C'est pourquoi, les résultats séminologiques ont été analysés seulement pour 9 béliers pour lesquels la comparaison sur les deux périodes est possible.

La Figure 3 présente le nombre de collectes de sperme utilisé individuellement pour chacun des 9 béliers sélectionnés et sur les 2 périodes (avril, mai et juin 2003 et 2004). Les béliers retenus sont 3 Charollais (dont 2 traités), 4 Texels (dont 2 traités) et 2 vendéens (dont 1 traité).

Les paramètres suivants ont été analysés au cours de l'étude :

- identification du bélier : numéro de travail à quatre chiffres
- Race : Charollais, texel ou vendéen
- Période : avril, mai et juin 2003 et 2004
- Paramètres séminologiques : volume de l'éjaculat, concentration en spermatozoïdes

par mL et concentration totale en spermatozoïdes de l'éjaculat.

- Date de collecte

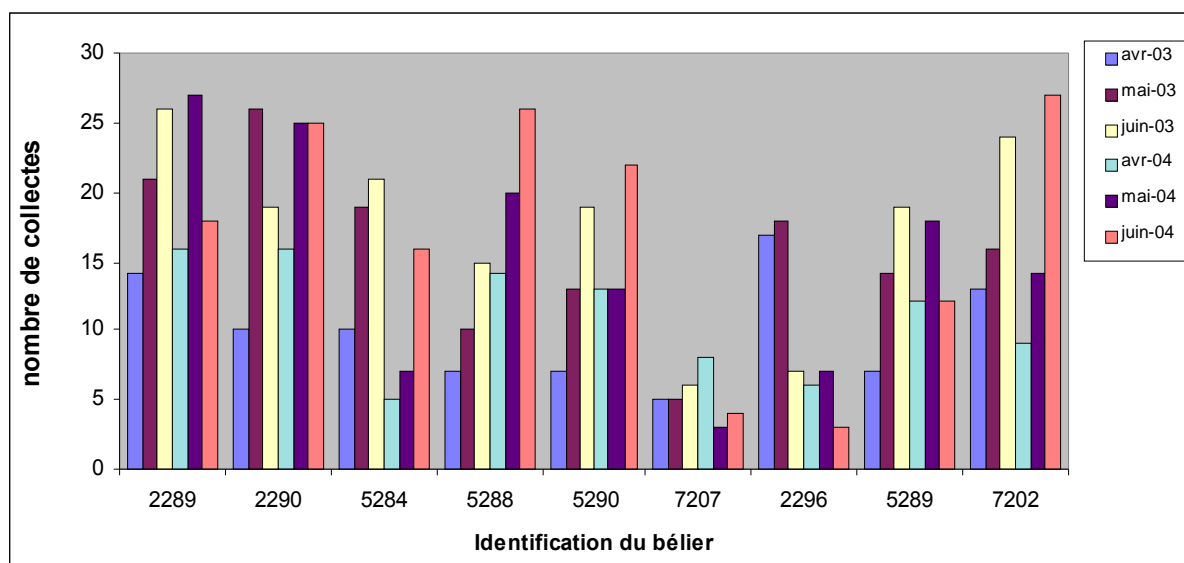


Figure 3 : Nombre de collectes par animal et par mois pour 9 béliers et pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

2. Analyses statistiques :

* Effet de la période et du traitement sur la zincémie

L'influence de la période (1 : avril, mai, juin 2003 ; 2 : avril, mai, juin 2004) et du traitement (administration de zinc ou non traité) a été testée par une analyse de variance à 2 facteurs (ANOVA, SYSTAT® version 6, Inc, Evanston, IL) selon le modèle suivant :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha * \beta)_{ij} + \delta + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} représente la concentration plasmatique de zinc, μ est la moyenne générale, α_i l'effet du groupe (traité ou non), β_j l'effet de la période, $(\alpha * \beta)_{ij}$ l'interaction entre l'effet groupe et l'effet période, δ l'effet bélier niché dans le groupe et ε_{ij} la valeur résiduelle.

Dans un deuxième temps, la relation entre l'amplitude de l'augmentation de la zincémie après l'administration de zinc (c'est à dire la différence entre les concentrations plasmatiques de zinc avant et après l'injection) et la zincémie avant l'administration a été analysée pour les 4 périodes correspondant aux 4 administrations de zinc et pour les deux groupes non traité et traité par un test de corrélation de Pearson.

*** Effet de la période et du traitement sur les paramètres séminologiques :**

Une analyse de variance à 2 facteurs a permis de tester l'effet de la période et du traitement sur les 3 paramètres suivants : la concentration en spermatozoïdes des éjaculats, leur volume et le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat.

Le modèle utilisé est le suivant :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha*\beta)_{ij} + \delta + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} représente le paramètre séminologique étudié, μ la moyenne générale, α_i l'effet du groupe (traité ou non traité), β_j l'effet de la période (avril – juin 2003 ou 2004), $(\alpha*\beta)_{ij}$ l'interaction entre l'effet groupe et l'effet période, δ l'effet bélier niché dans le groupe et ε_{ij} la valeur résiduelle.

*** Relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques :**

La relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques (concentration en spermatozoïdes, volume de l'éjaculat et nombre total de spermatozoïdes) a été évaluée par des tests de corrélation de Pearson.

*** Seuil de signification :**

Pour l'ensemble des tests statistiques utilisés, le seuil de signification a été fixé à $P = 0.05$.

Zinc et production de semence de béliers de centre d'insémination artificielle.

Résultats

A. Etude de la zincémie

Le tableau 3 présente les valeurs de zincémie (moyenne \pm écart-type, médiane, étendue) des 14 animaux traités et des 18 béliers témoins pour les deux périodes de l'expérimentation (avril, mai et

juin 2003 et 2004). La figure 4 présente l'évolution temporelle de la moyenne des zincémies observées chez les animaux traités et témoins entre mai 2003 et juin 2004.

Les zincémies sont relativement faibles avant l'administration de zinc et sont inférieures à 10.5 $\mu\text{mol/L}$ pour 25 des 32 béliers de l'étude avec une moyenne générale pour l'ensemble des béliers de 9.28 $\mu\text{mol/L}$; elles varient entre 6,92 et 14.22 $\mu\text{mol/L}$ pour l'ensemble des 32 béliers.

Une augmentation significative des zincémies est observée au cours du temps, indépendamment du traitement ($P < 0.05$, ANOVA)

	Traités / Période 1	Traités / Période 2	Témoins / Période 1	Témoins / Période 2
Nombre d'observations	14	14	18	18
Moyenne \pm SD ($\mu\text{mol/L}$)	10,5 \pm 1.4	12,02 \pm 1.53	9,92 \pm 1.2	11,7 \pm 1.24
Etendue ($\mu\text{mol/L}$)	8,7 - 13.3	8,27 - 14.22	6,92 - 11.78	10,11 - 14.11
Médiane ($\mu\text{mol/L}$)	10,2	11,91	10,13	11,7

Tableau 3 : Etude descriptive de la zincémie pour les deux groupes d'animaux (14 traités et 18 témoins) et pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

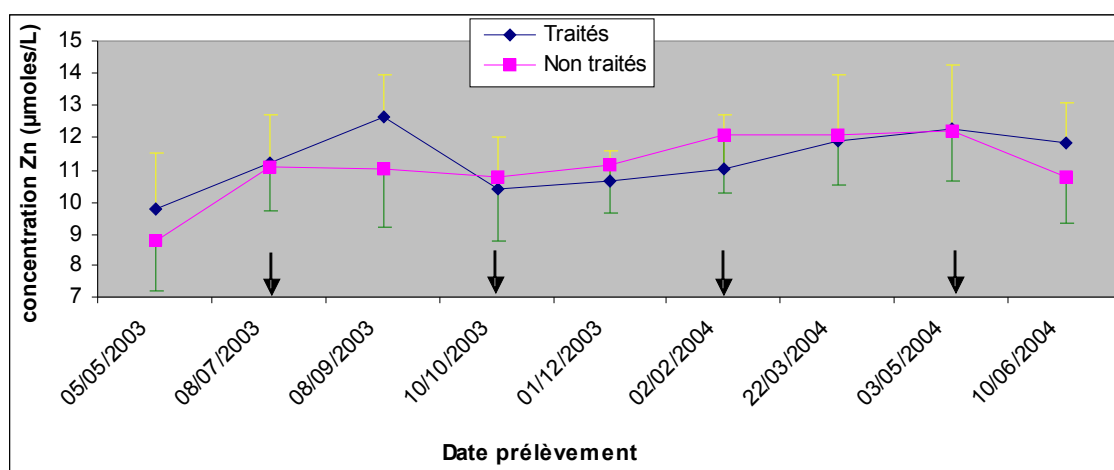


Figure 4 : Evolution temporelle des moyennes (\pm écart-type) des zincémies (en $\mu\text{mol/L}$) chez les groupes traités et témoins. Les administrations de zinc sont indiquées par les flèches.

Les figures 5 et 6 représentent respectivement l'évolution de la zincémie d'un bélier représentatif de chaque groupe (traité et non traité).

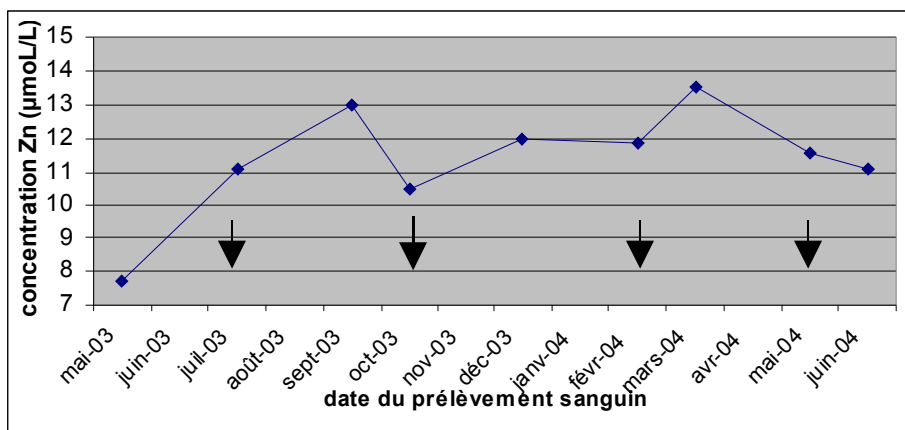


Figure 5 : Evolution de la zincémie (en µmol/L) d'un bœlier représentatif du groupe Traité entre mai 2003 et juillet 2004. Les administrations de zinc sont représentées par les flèches.

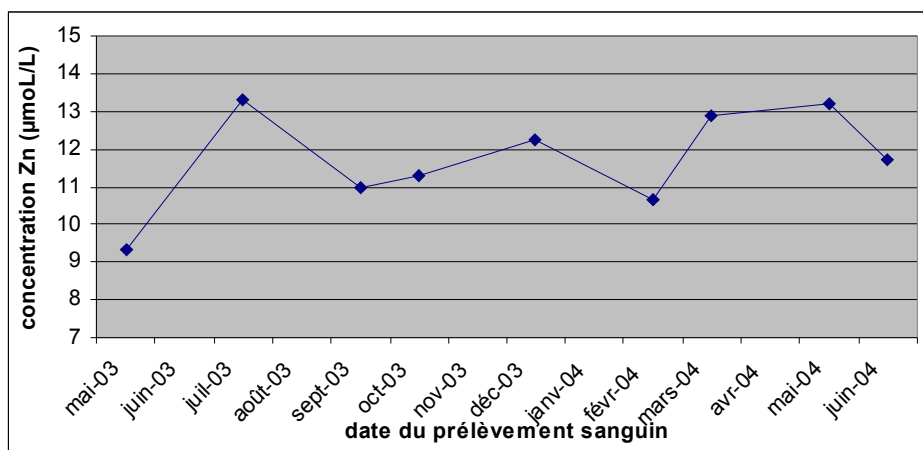


Figure 6 : Evolution de la zincémie (en µmol/L) d'un bœlier représentatif du groupe témoin entre mai 2003 et juillet 2004.

Les figures 7 à 14 illustrent les amplitudes de l'augmentation de la zincémie après l'administration de zinc en fonction de la zincémie avant l'injection pour les 4 administrations réalisées au cours de l'étude. L'inspection visuelle des figures montre que les animaux ayant les zincémies les plus faibles avant traitement sont les animaux qui ont présenté les plus fortes augmentations des concentrations plasmatiques de zinc après traitement. Cependant, la même tendance est observée pour les animaux qui n'ont pas reçu d'administration intramusculaire de zinc.

Cette relation est significative (S) pour les animaux traités pour les périodes 1, 2 et 4 et pour les animaux témoins pour les périodes 2 et 3 (Corrélation de Pearson).

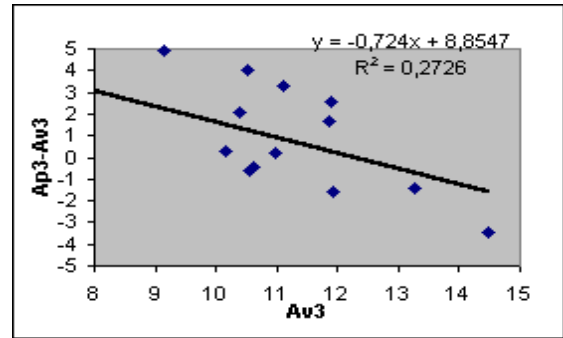
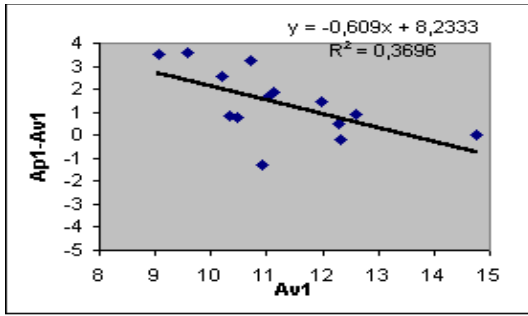


Figure 7 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la première administration (Ap1-Av1) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la première injection (Av1) chez les bédiers traités (S)

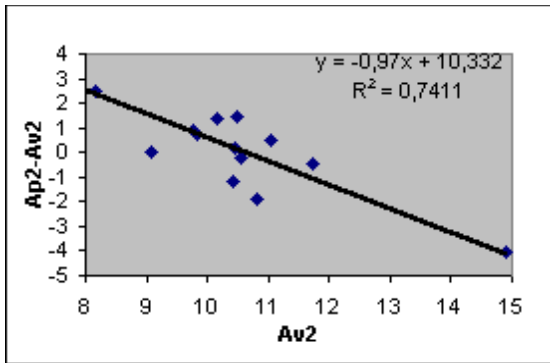
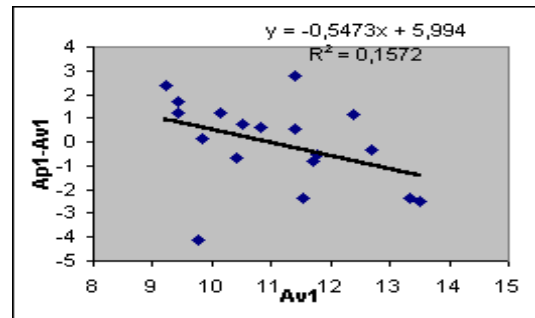


Figure 11 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la première administration (Ap1-Av1) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la première injection (Av1) chez les 18 bédiers non traités (NS)

Figure 8 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la deuxième administration (Ap2-Av2) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la deuxième injection (Av2) chez les 14 bédiers traités (S)

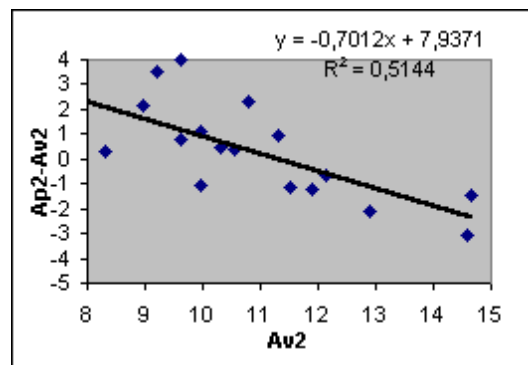


Figure 12 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la deuxième administration (Ap2-Av2) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la deuxième injection (Av2) chez les 18 béliers non traités (S)

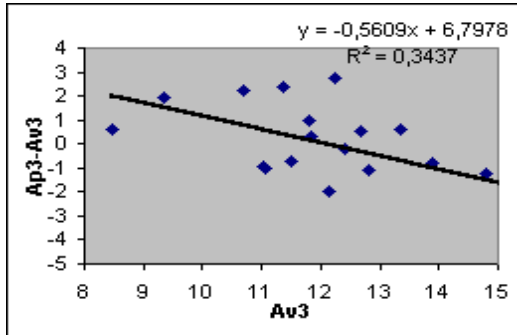


Figure 9 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la troisième administration (Ap3-Av3) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la troisième injection (Av3) chez les 14 béliers traités (S)

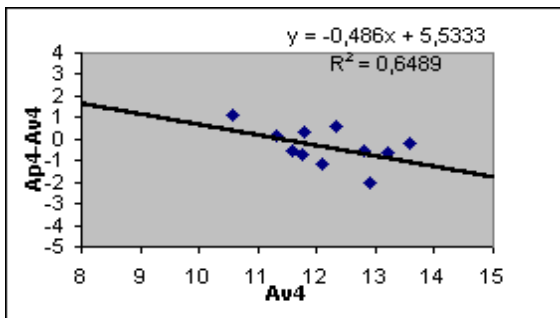


Figure 10 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la quatrième administration (Ap4-Av4) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la quatrième injection (Av4) chez les 14 béliers traités (S)

Figure 13 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la troisième administration (Ap3-Av3) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la troisième injection (Av3) chez les 18 béliers non traités (S)

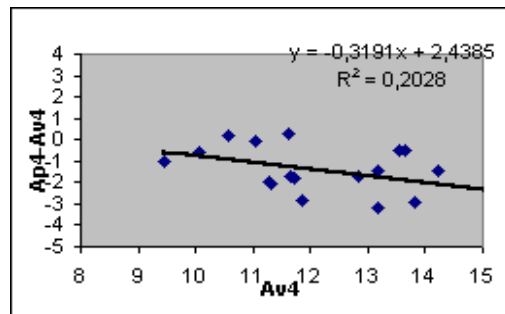


Figure 14 : Amplitude des concentrations plasmatiques de zinc ($\mu\text{mol/L}$) avant puis après la quatrième administration (Ap4-Av4) en fonction de la concentration plasmatique de zinc avant la quatrième injection (Av4) chez les 18 béliers non traités (S)

B. Etude des paramètres séminologiques :

Les tableaux 4, 5 et 6 présentent respectivement la concentration en spermatozoïdes des éjaculats, leur volume et le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (moyenne \pm écart-type, médiane, étendue) des animaux traités et témoins pour les deux périodes de l'expérimentation (avril, mai et juin 2003 et 2004).

	Traités / Période 1	Traités / Période 2	Témoins / Période 1	Témoins / Période 2
Nombre d'animaux	5	5	4	4
Nombre d'observations	46	40	42	29
Moyenne \pm SD ($\mu\text{mol/L}$)	2.60 ± 1.45	3.36 ± 1.39	3.12 ± 1.20	3.45 ± 1.16
Etendue ($\mu\text{mol/L}$)	1.5 – 4.1	2.5 - 4	1.6 – 5.4	1.7 – 4.9
Médiane ($\mu\text{mol/L}$)	2.55	3.4	2.9	3.4

Tableau 4 : Concentration en spermatozoïdes des éjaculats (moyenne \pm écart-type, étendue, médiane) pour les deux groupes d'animaux (5 traités et 4 témoins) pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

	Traités / Période 1	Traités / Période 2	Témoins / Période 1	Témoins / Période 2
Nombre d'animaux	5	5	4	4
Nombre d'observations	46	40	42	29
Moyenne \pm SD ($\mu\text{mol/L}$)	1.3 ± 0.4	1.34 ± 0.54	1.26 ± 0.28	1.02 ± 0.46
Etendue ($\mu\text{mol/L}$)	0.6 – 2.5	0.6 – 3.4	0.4 - 2	0.5 – 2.8
Médiane ($\mu\text{mol/L}$)	1.2	1.2	1.2	0.9

Tableau 5 : Volume des éjaculats (moyenne \pm écart-type, étendue, médiane) pour les deux groupes d'animaux (5 traités et 4 témoins) pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

	Traités / Période 1	Traités / Période 2	Témoins / Période 1	Témoins / Période 2
Nombre d'animaux	5	5	4	4
Nombre d'observations	46	40	42	29
Moyenne \pm SD ($\mu\text{mol/L}$)	3.45 ± 1.43	4.3 ± 1.5	3.76 ± 1.70	3.45 ± 2.00
Etendue ($\mu\text{mol/L}$)	1.7 – 8.2	2.04 – 9.52	1 – 7.8	1 – 10.36
Médiane ($\mu\text{mol/L}$)	3.23	3.96	3.48	3.08

Tableau 6 : Nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (moyenne \pm écart-type, étendue, médiane) pour les deux groupes d'animaux (5 traités et 4 témoins) pour les deux périodes de l'étude (avril, mai et juin 2003 et 2004).

L'analyse statistique (ANOVA) ne révèle aucun effet significatif de la période, du traitement ou de leur interaction sur les 3 paramètres séminologiques analysés. Toutefois, chez les animaux du groupe traité, la concentration moyenne en spermatozoïdes de l'éjaculat pour la période 2 ($3,36 \pm 1,4 \mu\text{mol/L}$) est supérieure à celle de la période 1 ($2,60 \pm 1,45 \mu\text{mol/L}$) (Figure 15).

C. Etude de la relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques :

La figure 15 représente la distribution des concentrations en spermatozoïdes des 9 béliers en fonction de leur zincémie pour les 2 groupes (traités et témoins) et les 2 périodes de l'étude (avril, mai, juin 2003 et 2004).

Les figures 16 et 17 représentent respectivement la distribution du volume de sperme et du nombre total de spermatozoïdes dans chaque éjaculat en fonction de la zincémie pour les 2 groupes (traités et témoins) et les 2 périodes de l'étude (avril, mai, juin 2003 et 2004).

L'observation visuelle des figures ne montre pas de relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques des éjaculats (tests de corrélation de Pearson non significatifs).

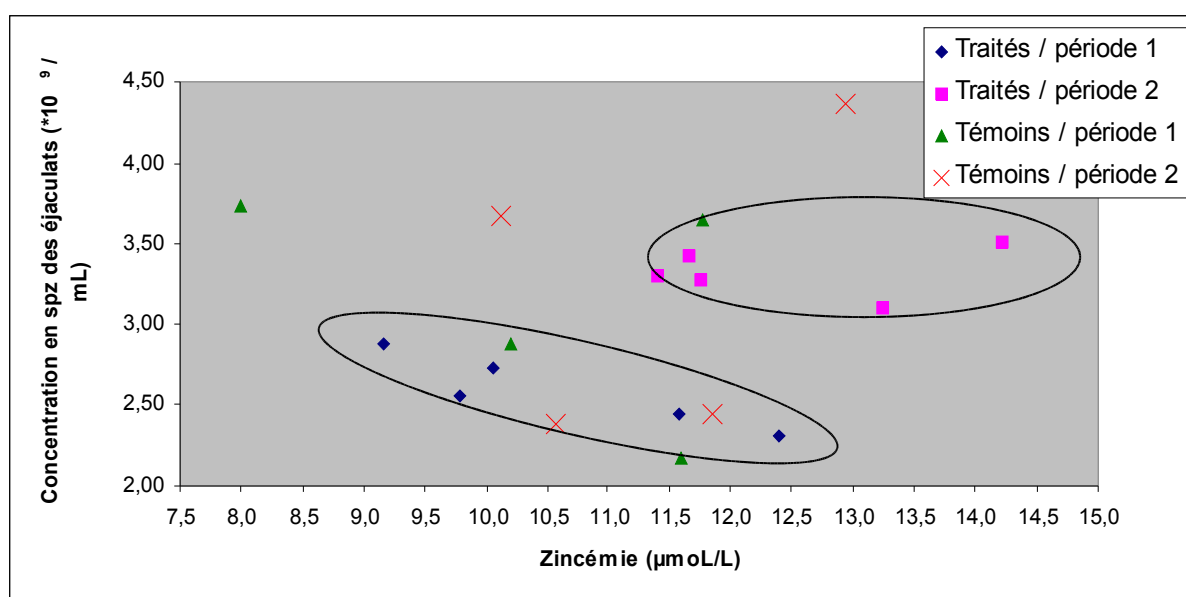


Figure 15 : Distribution de la concentration en spermatozoïdes (*10⁹spz / mL) des éjaculats des 9 béliers (5 traités et 4 témoins) pour les deux périodes (avril, mai, juin 2003 et 2004) en fonction de la moyenne de la zincémie (µmol/L).

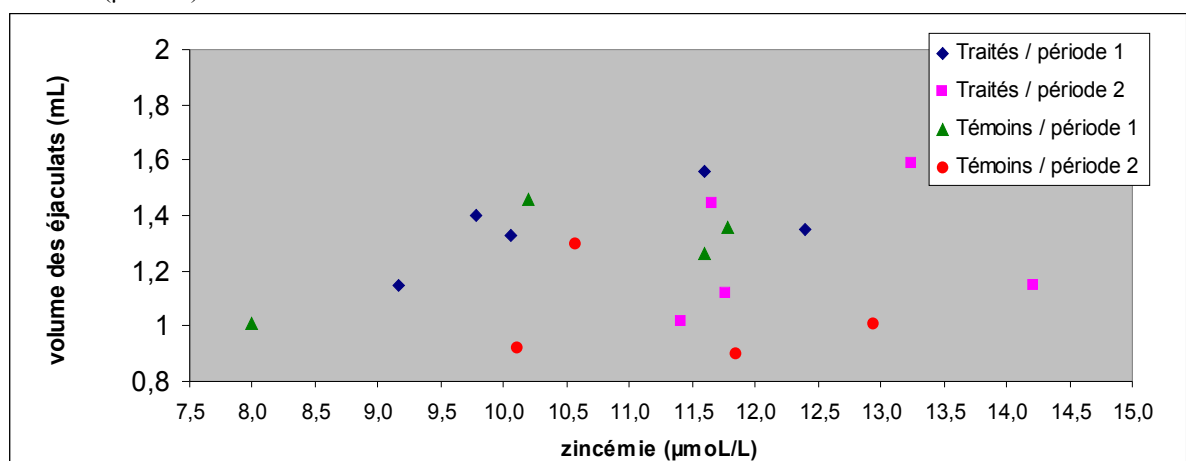


Figure 16 : Distribution du volume (mL) des éjaculats des 9 béliers (5 traités et 4 témoins) pour les deux périodes (avril, mai, juin 2003 et 2004) en fonction de la moyenne de la zincémie (µmol/L).

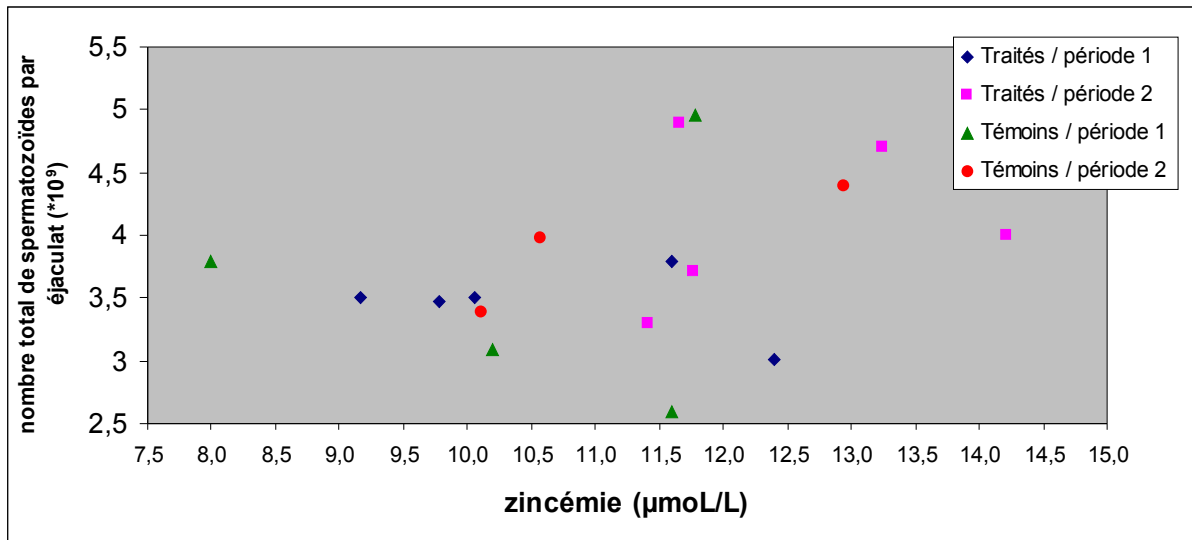
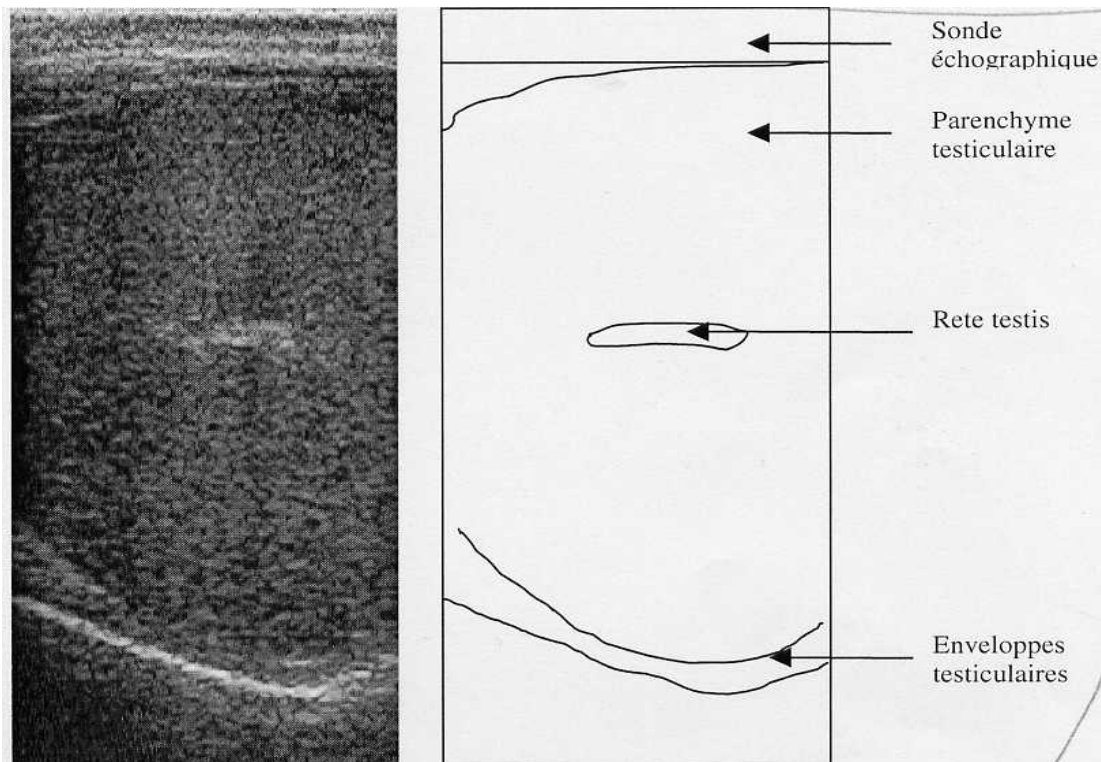


Figure 17: Distribution du nombre total de spermatozoïdes (*10⁹spz) des éjaculats des 9 béliers (5 traités et 4 témoins) pour les deux périodes (avril, mai, juin 2003 et 2004) en fonction de la moyenne de la zincémie (µmol/L).

D. Echographies testiculaires :

Les examens échographiques réalisés au début de l'étude sur l'ensemble des béliers n'ont révélé aucune anomalie visible.

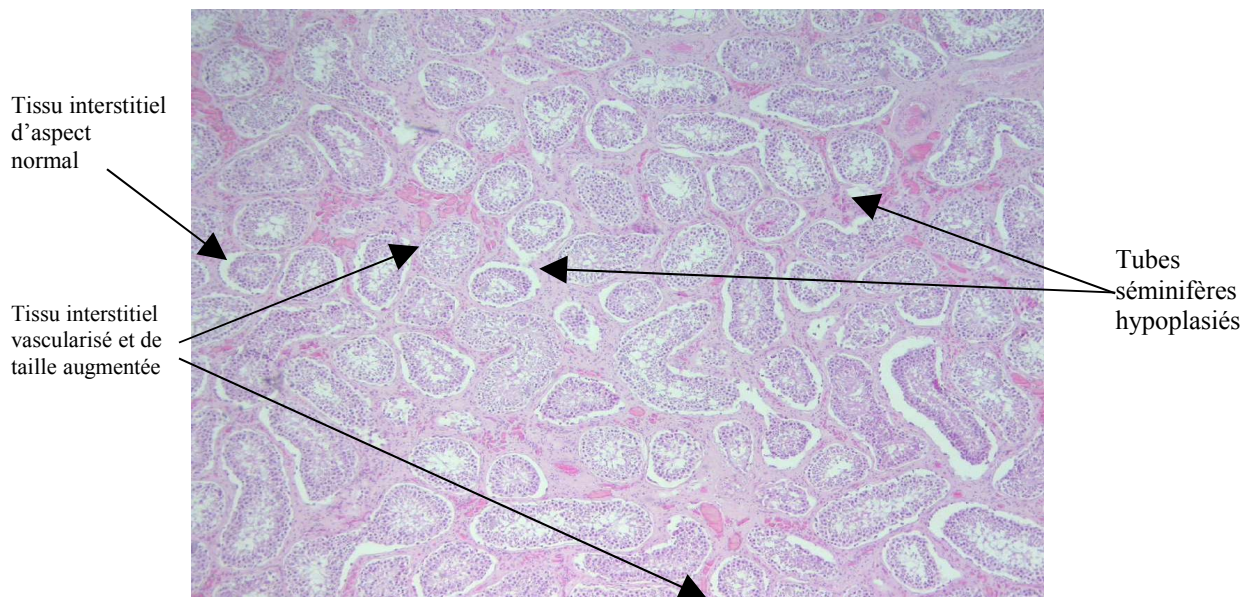
L'image échographique (photographie 2) montre un aspect normal du testicule de bélier.



Photographie 2 : Image échographique d'un testicule sain de bélier (coupe longitudinale).

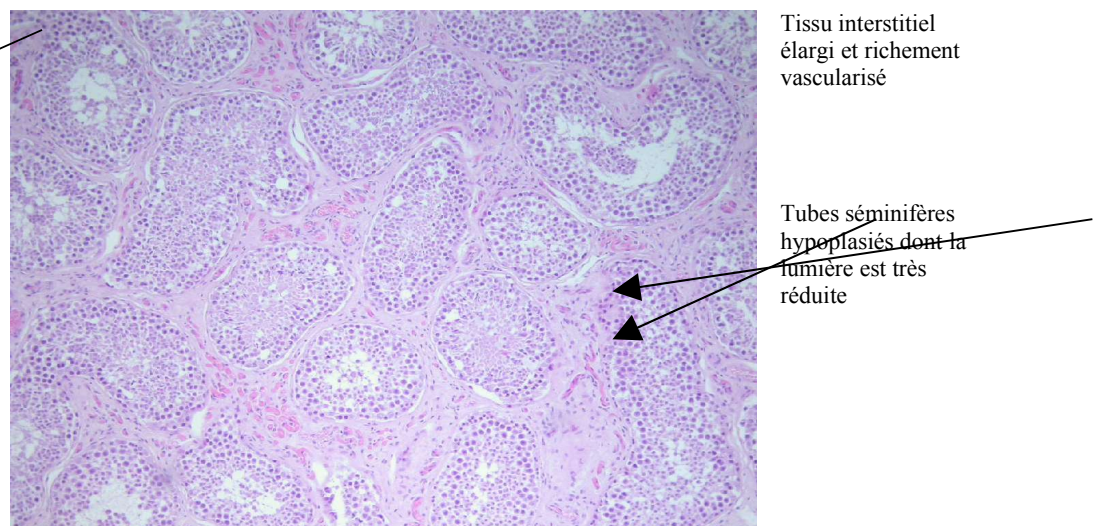
E. Examens anatomo-pathologiques :

Des lésions d'hypoplasie des tubes séminifères ont été observées sur les testicules des 2 béliers élevés dans les mêmes conditions que ceux de notre expérimentation. Les tubes séminifères sont plus petits et présentent un tissu germinatif normal. Mais, ils sont entourés d'un tissu interstitiel richement vascularisé. Par conséquent, le rapport des surfaces occupées par le tissu interstitiel et par les tubes séminifères est augmenté (Photographie 3).

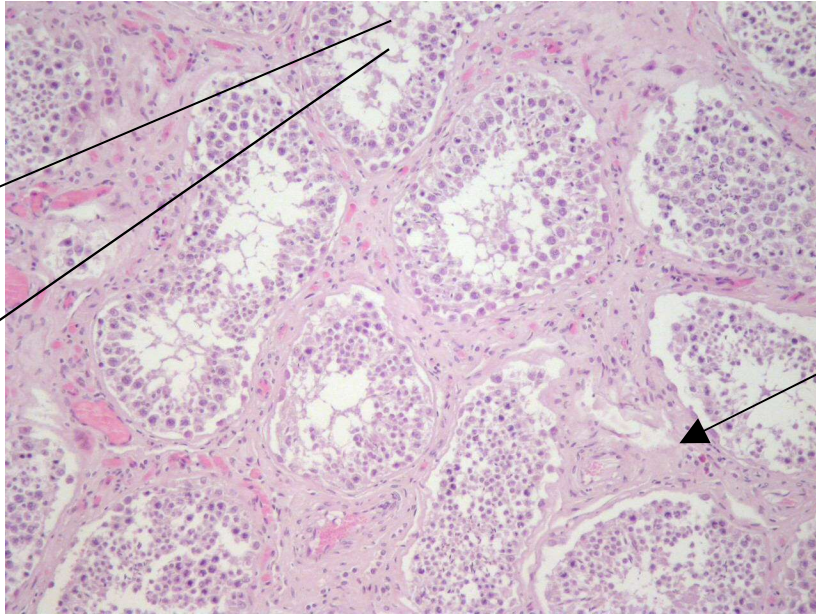


Photographie 3 : Coupe de testicule de bélier présentant par endroit une hypoplasie des tubes séminifères associée à un élargissement de l'espace interstitiel (coloration Hémalum - éosine, grossissement X 40).

Des images de tubes séminifères de taille réduite, avec parfois une absence de lumière (Photographie 4) et un tissu germinatif qui apparaît plus mince et pauvre en spermatozoïdes, (Photographie 5) sont souvent observés.



Photographie 4 : Coupes de tubes séminifères de testicule de bélier dont 2 ne présentent pas de lumière (coloration Hémalun-éosine, grossissement X 100).



Tissu germinatif plus mince et moins riche en cellules

Tissu interstitiel sclérosé et anormalement développé

Photographie 5 : Coupe de tubes séminifères de testicule de béliers présentant un tissu germinatif plus pauvre en cellules germinales et plus mince avec également des lésions de sclérose du tissu interstitiel (coloration Hémalun-éosine, grossissement X 100).

Zinc et production de semence de béliers de centre d'insémination artificielle.

Discussion

Cette étude réalisée dans les conditions d'élevage des centres d'insémination visait à étudier l'effet de la supplémentation en zinc de béliers présentant des zincémies faibles sur la production de semence. La supplémentation de zinc par voie intramusculaire a effectivement entraîné une augmentation des zincémies chez les animaux traités. Cependant, une augmentation de la zincémie a également été observée chez les animaux témoins. Elle pourrait être expliquée par une modification de la composition du concentré au cours de l'étude. Il est donc difficile d'attribuer l'élévation de la concentration plasmatique de zinc au traitement effectué.

En outre, il n'a pas été possible d'établir de relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques des béliers.

A. Etude de l'évolution de la zincémie :

Chez les ruminants, la zincémie varie entre 11 et 18 $\mu\text{mol/L}$ [Lamand, 1980]. Un animal est considéré carencé en zinc lorsque sa concentration plasmatique est inférieure à 10 $\mu\text{mol/L}$. Les béliers de notre étude ont présenté des zincémies faibles, évoquant une carence en zinc, avant la supplémentation (la zincémie moyenne de l'ensemble des béliers était de 9.28 $\mu\text{mol/L}$).

Les résultats obtenus sur les béliers ne permettent pas d'établir clairement une relation entre l'excès de calcium de la ration et la carence en zinc. Une telle carence a déjà été rapportée dans les élevages caprins français et les centres d'IA caprins.

La principale cause de carence en zinc chez les ruminants est un défaut d'apport alimentaire. Les béliers de notre étude reçoivent dans leur ration un apport journalier d'environ 50 ppm de zinc (dont la source principale est leur concentré) correspondant aux recommandations de l'A.R.C. (Agricultural Research Council) en accord avec les préconisations de Miller en 1960 et celles de Weigand et Kirchgessner en 1982. En outre, certains facteurs susceptibles de modifier la zincémie comme les facteurs pathologiques et l'hémolyse ont été contrôlés au cours de notre étude.

Dans notre étude, la carence en zinc des béliers pourrait être secondaire à un excès de calcium dans la ration, le calcium pourrait entraîner une diminution de l'absorption de zinc. Cependant, chez les ruminants, cette relation n'a pas été clairement établie contrairement à ce qui est décrit chez les monogastriques. Suttel et Field (1970) ont montré qu'en augmentant de 1 à 2% la concentration en calcium de la ration de béliers adultes, on augmentait l'excrétion fécale de zinc. De plus, Miller (1970) a constaté qu'une alimentation enrichie en calcium (2,4% de la ration) provoquait une diminution de la concentration plasmatique en zinc des agneaux sans pour autant affecter leur croissance.

Bien qu'il n'y ait eu à notre connaissance aucune modification de l'alimentation pendant la période d'étude, une nouvelle analyse du concentré a été réalisée afin de vérifier la stabilité de sa composition. Elle a révélé une augmentation du taux de zinc d'environ 40% (69,27 ppm en 2002 et

94,16 ppm en 2005). Cette modification pourrait expliquer l'augmentation de la zincémie chez tous les animaux d'autant plus que son amplitude est relativement limitée (de 9,5 $\mu\text{mol/L}$ à 11 $\mu\text{mol/L}$ environ).

Cette modification inattendue illustre la difficulté de maîtriser tous les facteurs d'environnement dans le cadre d'une étude de terrain.

B. Etude de la relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques des éjaculats :

Les paramètres séminologiques des béliers collectés au centre sont comparables à ceux rapportés dans la littérature, environ 1 à 2 mL pour le volume de l'éjaculat et une concentration de 2,5 à 5 milliards de spermatozoïdes par mL.

L'un des problèmes majeurs rencontré lors de l'analyse des résultats a été le nombre réduit de données individuelles pour chaque animal. En effet, le centre INSEM-OVIN utilise pour 90% des collectes des mélanges d'éjaculats. En conséquence, le nombre d'animaux pour lesquels nous avons analysé la production de semence a été réduit à 9 sur les 28 béliers initialement inclus dans l'étude.

De plus, la durée de l'étude a été réduite à 3 mois par an car les animaux ne pas collectés régulièrement au cours de l'année.

Nos résultats montrent une tendance à un effet positif de la supplémentation en zinc sur la concentration en spermatozoïdes des éjaculats des béliers appartenant au groupe traité (figure 5 et 15), mais ce résultat est difficilement interprétable en raison du nombre limité de valeurs des concentrations en spermatozoïdes. Il aurait peut être été possible d'observer une relation entre les zincémies et les paramètres séminologiques avec un nombre plus important de béliers et/ou d'éjaculats ou une plus large étendue des zincémies.

Enfin, il est difficile avec des mesures de zincémie ponctuelles tous les mois et demi de faire correspondre les valeurs de zincémie et les répercussions sur les paramètres séminologiques. En effet, la spermatogénèse est un processus long (environ 60 jours) et l'augmentation de la zincémie peut avoir un effet différé sur les paramètres séminologiques. En outre, il aurait été intéressant de connaître l'évolution de la concentration en zinc dans le plasma séminal.

Les conséquences d'un déficit en zinc sur la reproduction des ovins ont été généralement étudiées sur une période relativement courte de quelques semaines et sur des animaux soumis à une carence sévère en zinc induite par un défaut d'apport alimentaire (environ de 2 à 10 ppm dans la ration). Cependant, même dans ces conditions, Pitts et Miller (1966) n'ont jamais mis en évidence les répercussions d'une carence en zinc sur les paramètres séminologiques tels que le volume et la concentration de spermatozoïdes dans l'éjaculat de béliers adultes.

Au contraire, chez le jeune mâle, une carence sévère en zinc (autour de 7 à 10 ppm) entraîne un retard de la croissance et du développement testiculaire ; une plus faible carence (environ 20 ppm) suffit à bloquer la spermatogenèse. Sommers et Underwood (1969) ont montré qu'après une période de carence, un apport de 15 ppm de zinc à des béliers a permis d'améliorer leur croissance pondérale mais que 32,4 ppm de zinc étaient nécessaires pour rétablir la spermatogenèse.

Enfin, la carence en zinc peut affecter plus particulièrement la qualité de la semence avec notamment l'augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux ou morts. Cette anomalie est associée à des lésions histo-pathologiques du parenchyme testiculaire et se traduit par une diminution du pouvoir fécondant de la semence [Martin et al, 1993]. Il a été montré par ailleurs que la supplémentation en zinc améliore la fertilité chez les femelles [Masters, 1980].

Les examens histopathologiques de notre étude ont mis en évidence des lésions d'hypoplasie des tubes séminifères associées parfois à une absence de lumière et un élargissement du tissu interstitiel. Malgré cela, le tissu germinatif semble intact. Les causes de ces lésions d'hypoplasie ne sont pas complètement connues mais pourraient être associées à une carence en zinc [Martin et al, 1993]. Les autres causes évoquées sont un dysfonctionnement hormonal dont l'origine est soit l'hypothalamus, soit l'hypophyse ou une pathologie de testicule lui-même (d'origine inflammatoire ou infectieuse) [Jubb et al, 1993].

C. Autres facteurs de variation des paramètres séminologiques:

Outre la carence en zinc, d'autres paramètres sont susceptibles de modifier la qualité des éjaculats des béliers de centre d'insémination dont la semence est collectée intensivement au cours de la période de février à juillet.

L'étude des facteurs de variation de la fonction sexuelle de béliers Lacaune a montré que deux facteurs sont susceptibles de modifier les paramètres séminologiques : le collecteur et le rythme de collecte [Duval et al, 1995].

En effet, une dégradation de la qualité de la semence est observée quand les béliers sont collectés plus de 2 fois par jour ou lors de changements fréquents des collecteurs associés à un stress des béliers.

Ces deux paramètres ont été contrôlés à INSEM-OVIN puisque les collecteurs sont toujours les mêmes et sont attentifs à limiter le stress des animaux. En outre, les béliers sont collectés uniquement le matin à un rythme inférieur à deux sauts par jour afin d'assurer un repos sexuel suffisant entre les collectes.

Duval (1995) a également émis l'hypothèse selon laquelle des facteurs génétiques pourraient intervenir. Il a estimé la répétabilité et l'héritabilité du volume des éjaculats, de leur concentration, de la motilité, du pourcentage de collectes éliminées et du nombre de spermatozoïdes par éjaculat. La répétabilité et l'héritabilité du volume sont proches de 0,30 et 0,15, respectivement. Pour les autres paramètres, les valeurs sont comprises entre 0,20 à 0,30 pour la répétabilité et 0,10 à 0,15 pour l'héritabilité. L'ensemble de ces résultats est globalement en accord avec les données rapportées dans la bibliographie (Goerke et al, 1970 ; Niare, 1984 ; Langford et al, 1989).

Dans notre étude, la génétique pourrait avoir un rôle important et expliquer en partie la diminution de la qualité de la semence observée depuis 10 ans.

Conclusion et perspectives

Dans notre étude réalisée dans des conditions d'élevage, il n'a pas été possible de mettre en évidence une relation entre la zincémie et les paramètres séminologiques des éjaculats.

Au cours de la période de 15 mois, la zincémie des animaux supplémentés en zinc a augmenté. Cependant, la zincémie des animaux témoins a également augmenté et il est probable que cette variation soit due à une augmentation d'environ 40 % de la teneur en zinc du concentré.

Ce biais expérimental ne nous permet pas de conclure sur la relation entre la zincémie et la supplémentation en zinc.

Quoi qu'il en soit, le zinc est un oligo-élément essentiel à la fonction de reproduction qu'il advient de contrôler surtout pour des béliers de centre d'insémination puisqu'une carence pourrait être à l'origine d'une dégradation de la qualité de la semence.

C'est pourquoi il est pertinent de conseiller à INSEM-OVIN de contrôler régulièrement la zincémie des béliers voire de les supplémenter par voie parentérale. Dans le centre d'insémination, cette supplémentation pourrait permettre de pallier à un apport de calcium trop important dans la ration.

La diminution de concentration en spermatozoïdes des éjaculats constitue probablement un problème plurifactoriel qui atteint de nombreux centres d'insémination. Toutefois, il convient de contrôler autant que possible les facteurs « maîtrisables » comme les conditions de vie des animaux, le rythme de collecte, le stress et une alimentation adaptée.

Bibliographie

ABDEL-RAHMAN, H. A., EL-BELELY, M. S. The relationship between semen quality and mineral composition of semen in various ram breed. *Small Ruminant Research*, 2000, **38**, 45-49.

AHMAD, N., ENGLAND, C. W., NOAKES, D. E. Ultrasonography of spontaneous lesions of the genital system of three rams, and their influence on semen quality. *The Veterinary Record*, 2000, **146**, 10-15.

ANIO : Compte rendu annuel sur l'insémination artificielle ovine : campagne 2003, septembre 2004 : CR. N°010479077.

APGAR, J. et FITZGERALD, J. A. Effect on the ewe and lamb of low zinc intake throughout pregnancy. *Journal of animal science*, 1985, **60**, 1531-1537.

APGAR, J. Zinc and reproduction. *Ann. Rev. Nutr.* 1985, **5**, 43-68.

ARVER, S. et ELIASSON, R. zinc and magnesium in bull and boar spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **60**, 481-484.

BEDWAL, R. S., BAHUGUNA, A. Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experimentia*, 1994, **50**, 626-633.

BOURSNEILL, J.C. et NOBLE E. A. The absorption by boar spermatozoa of zinc bound to low molecular weight ligands. *J. Reprod. Fert.*, **45**, 421-426.

BRICE, G., LEBOEUF, B., BOUE, P., SIGWALD, J. P. L'insémination artificielle chez les petits ruminants. *Le point vétérinaire*, 1997, août-septembre, vol 28, **185**,: 1641-1647.

CHAPPUIS, P. et FAVIER, A. Les oligo-éléments en nutrition et en thérapeutique. 1995, 25-30.

CHAPPUIS, P. Les oligo-éléments en médecine et biologie, 1991, 78-79.

CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., LEBOEUF, B., DELETANG, F., BRICE, G. Utilisation des traitements lumineux et des implants de mélatonine chez les petits ruminants. *Journées nationales des GTV*, 607-617.

DANEK, J. The effect of calcium excess in the folder on the quality of semen in stallions. *Medycyna Wet.* 1996, **52**(7), 459.

DUFTY, J. H., BINGLEY, J. B., COVE, L. Y. The plasma zinc concentration of non pregnant, pregnant and parturient Hereford cattle. 1977, Aust. Vet. J., **53**, 519-522.

DUVAL, P., BELLOC, J. P., ALBARET, M. Etude des facteurs de variation de la fonction sexuelle de béliers Lacaune lait et de la fertilité de brebis en insémination artificielle. Renc. Rech. Ruminants, 1995, **2**, 429-434.

EL-AZAB, A. I., KHADR, N. A., ZAHARAN, K. Effect of non-protein nitrogen in the ration on ram semen quality. Small Ruminant Research, 1998, **27**, 73-77.

GIANNESINI, M. Influence du calcium alimentaire sur l'absorption des minéraux. Th. Med. Vet. : Toulouse, 1996-TOU 3-4055.

GOSWAMI, S. C., MEHTA, S. N., GEORGIE, G. C., TULI, R. K. Blood and seminal plasma trace concentrations during different seasons in crossbred bulls. Indian Journal of Animal Sciences, 1993, **63**(4), 430-433.

GROSJEAN, D. Flux de zinc lors de l'alimentation des ruminants : conséquences de ses variations. Th. : Med. Vet. : Alfort, 1997

GUILLOT, J. La calcification testiculaire chez le bouc de centre d'insémination artificielle : étude clinique et répercussions sur la production de semence. Th. Med. Vet. Toulouse, 2002.

HAMBIDGE, K. M., CASEY, C. E., KREBS, N. F. Zinc in : Trace elements in human and animal nutrition, Fifth edition, Academic Press Orlando, 1986, **2**, 1-137.

HATFIELD, P. G., SWENSON, C. K., KOTT, R. W. Zinc and copper status in ewes supplemented with sulfate and amino acid complexed forms of zinc and copper. J. Anim. Sci. 2001, **79**, 261-266.

HIDIROGLOU, M et KNIPFEL, J.E. Zinc in mammalian sperm : a review. Journal of Dairy Science, 1984, **67** : 1147-1156.

JUBB, K. V. F. Pathology of domestic animals, fourth edition, Vol 3, 1993, 486-490.

KENDALL, N.R. et TELFER, S. B. Induction of zinc deficiency in sheep and its correction with a soluble glass bolus containing zinc. The Veterinary Record, 2000, **146**, 634-637.

KENDALL, N.R., MCMULLEN, S., GREEN, A., RODWAY, R. G. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. *Animal Reproduction Science*, 2000, **62**, 277-283.

KENNAWAY, D. J., DUNSTAN, E. A., STAPLES, L. D. Photoperiodic control of the onset of breeding activity and fecundity in ewes. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 1987, **34**, 187-199.

LAMAND, M. Diagnostic des carences en oligoéléments chez l'animal. *Ann. Nutr. Alim.* 1971, **25**, B379-B410.

LAMAND, M. La carence en zinc chez les ruminants, dans « le zinc en médecine et biologie », FAVIER et al. Eds. 1986, Ed. Médicales internationales, 291-301.

LAMAND, M., MIGNON, M., TRESSOL, J. C. The influence of sulfur supplementation on the zinc availability of a poor diet in sheep. *Ann. Rech. Vet.* 1990, **21**, 229-230.

MANFREDI, E., LEBOEUF, B. Sources de variations génétiques et non génétiques des caractéristiques de production de semence chez le bouc. *Renc. Rech. Ruminants*, 1998, **5**, 37-39.

MARTIN G. B. et WHITE, C. L. Effects of dietary zinc deficiency on gonadotrophin secretion and testicular growth in young male sheep. *J. Reprod. Fert.* 1992, **96**, 497-507.

MASTERS, P. Effect of zinc supplementation on the reproductive performance of grazing Merino ewes. 1980, *Biological trace element research* 2, 281-290.

MESAROS, P. Morphological structure of the testes in stallions at zinc deficiency. *Slov. Vet. Cas.* 1998, **23**, 2.

MILLER, W. J., CLIFTON, C. M., FOWLER, P. R., PERKINS, H. F. Influence of high levels of dietary zinc on zinc in milk, performance and biochemistry of lactating cows. 1965, *Journal of Dairy Science*, **31**, 149- 156.

MILLER, W. J., BLACKMON, M., GENTRY, R. P., PATE, F. M. Zn⁶⁵ and stable zinc absorption, excretion and tissue concentration as affected by type of diet and level of zinc normal calves. *J. Nutr.* 1968, **94**, 391-401.

MILLER, W. J. Absorption, tissue distribution, endogenous excretion, and homeostatic control of zinc in ruminants. *The American journal of clinical nutrition*, 1969, **22**, 1323-1331.

MILLER, W. J. Zinc nutrition of cattle. A review. *Journal of Dairy Science*. 1970, **53**, 1123-1135.

MILLER, W. J., BLACKMON, M., GENTRY, R. P., PATE, F. M. Zinc absorption, metabolism and endogenous excretion in zinc-deficient and normal calves over an extended time. *Journal of dairy science*, 1991, **74**, 3535-3543.

MILLS, C. F., DALGARNO, A. C., WILLIAMS, R. C., QUATERMAN, J. Zinc deficiency and the zinc requirements of calves and lambs. *Br. J. Nutr.* 1967, **21**, 751-767.

NEATHERY, M. W., MILLER, W. J., BLACKMON, D. M., PATE, F.M. Effects of long term deficiency on feed utilization, reproductive characteristics, and hair growth in the sexually mature male goat. *Journal of Dairy Science*, 1973, **56**, 98-103.

PARAGOND, B. M. Sels minéraux et alimentation des ruminants. 24-25.

PEREZ, L. J., VALCARCEL, A., BALDASSARRE, H. Comparative study of four techniques for evaluation of sperm quality in ovine and bovine frozen-thawed samples. *Reprod. Dom. Anim.* 1997, **32**, 157-160.

PERRET, G. et BRICE, G. Intérêt et développement de l'I.A. dans la reproduction ovine. *Renc. Rech. Ruminants*, 1995, **2**, 446.

PICARD-HAGEN, SOURBE, O., LYAZRHI, F., COUPET, H., HENNEQUIN, M., JACOB, H., BERTHELOT, X. Effect of precocious collection on semen output and quality in young Holstein bulls. *Theriogenology*, 2002, **57**, 1511-1522.

PITTS, M. Effect of zinc deficiency and restricted feeding from two to five month of age on reproduction in Holstein bulls. *Journal of animal science*, 1966, **49**, 995-1000.

RAY, S.K., ROYCHOUDHURY, R., BANDOPADHYAY, S. K., BASU, S. Studies on zinc deficiency syndrome in black Bengal goats fed with fodder grown on soil treated with an excess of calcium and phosphorus fertilizer. *Veterinary Research Communications*, 1997, **21**, 541-546.

SARKAR, S., BASAK, D. N., SAMANTA, A. K., BHOWMIK, M. K., MISRA, S. K. Status of zinc in soil, forage and the young grazing ruminants in relation to livestock production. *Indian Vet. J.* 1994, **71**, 377-381.

SOMERS, M. et UNDERWOOD, E. J. Studies of zinc nutrition in sheep. 1. The relation of zinc to growth, testicular development and spermatogenesis in young rams. 1962, *Australian journal of agricultural research*, **20**, 889-897.

SOURBE, O., PICARD-HAGEN, LYAZRHI, F., COUPET, H., HENNEQUIN, M., JACOB, H., BERTHELOT, X., SCHELCHER, F. Effet du test à la dexaméthasone sur la qualité de la semence de taureaux Aubrac. *Elevage et insémination* 296 – Avril 2000.

SUTTLE, N.F. A model for zinc metabolism in sheep given a diet of hay. *British Journal of Nutrition*, 1982, **47**, 105-112.

SUTTLE, N.F. et FIELD, A.C. Effects of dietary calcium and phosphorus concentrations on the fecal excretion of copper, manganese and zinc. *Proc. Nutr. Soc.*, 1970, **29** (2), 33A-34A.

TAHA, T. A., ABDEL-GAWAD, E. I., AYOUB, M. A. Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical conditions 2. Biochemical and enzymatic properties of seminal plasma. *British Society of animal Science*, 2000, **71**, 325-332.

THIBAUT, C., LEVASSEUR, M. C. La reproduction chez les mammifères et l'homme ; 2001, 631-635, 707-723, 795-803.

THWAITES, C. J. The comparative effects of under nutrition, exercise and frequency of ejaculations on the size and tone of the testes and on semen quality in the ram. *Animal Reproduction Science*, 1995, **37**, 299-309.

VAN MIERT, M., VAN DUIN, C. T. M., WENSING, TH. Fever and changes in Plasma zinc and iron concentrations in the goat. The effects of interferon inducers and recombinant INF- α_{2a} . *J. Comp. Path.*, 1990, **103**, 289-300.

WEIGAND, E., KIRCHGESSNER, M. Factorial estimation of the zinc requirement of lactating dairy cows. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernahrung und Futtermittelkunde*, 1982, **49**, 1-9.

YARNEY, T. A., SANFORD, L. M., PALMER, W. M. Pubertal development of ram lambs : body weight and testicular size measurements as indices of postpubertal reproductive function. *Can. J. Anim. Science*, 1990, **70**, 139-147.

Toulouse, 2005

NOM : COURIVAUD

PRENOM : AURELIEN

TITRE : ZINC ET PRODUCTION DE SEMENCE DE BELIERS DE CENTRE D'INSEMINATION.