

Biotechnologies de la reproduction porcine : des techniques de routine aux méthodes en émergence

F. MARTINAT-BOTTÉ^{1, 2, 3, 4}, M. PLAT^{1, 2, 3, 4}, P. GUILLOUET⁵

¹ INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

² CNRS, UMR6175 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

³ Université François Rabelais de Tours, F-37041 Tours, France

⁴ Haras Nationaux, F-37380 Nouzilly, France

⁵ INRA, Unité Expérimentale d'Insémination Caprine et Porcine, F-86480 Rouillé, France

Courriel : Françoise.Botte@tours.inra.fr

Aujourd'hui, les techniques d'assistance à la reproduction et les biotechnologies qui en sont dérivées, sont en plein développement dans l'espèce porcine. Certaines d'entre elles sont déjà utilisées par les éleveurs ou les sélectionneurs porcins. La validation et le transfert de nouvelles technologies (cryoconservation des embryons, transfert non chirurgical d'embryons et sexage de la semence) ouvrent la perspective d'échanger et de sauvegarder du patrimoine génétique dans des conditions de biosécurité garantie.

Ces vingt dernières années, les technologies de la reproduction porcine se sont fortement développées comme l'insémination artificielle en semence diluée, l'échographie pour le contrôle de la gestation et de la puberté, l'utilisation d'hormones pour le déclenchement et la synchronisation de la puberté, des oestrus, des ovulations et des mises bas.

L'insémination artificielle est utilisée à la fois pour gérer l'amélioration génétique dans les schémas de sélection et diffuser le progrès génétique mais aussi comme un outil de gestion du chantier de reproduction en remplacement de la saillie naturelle plus difficile à conduire. L'évolution des techniques d'insémination est assurée par les acteurs de la filière porcine qui développent des innovations destinées à simplifier le travail des éleveurs tout en sécurisant les résultats de mise bas. Plusieurs modèles de sondes et de présentation de la semence diluée sont disponibles sur le marché. La congélation de la semence, bien que disponible, est très peu utilisée dans l'espèce porcine. Son utilisation se limite à la sauvegarde de la diversité génétique pour conserver des gènes d'intérêt zootechnique dans les cryobanques en cas d'accident sanitaire majeur ou de disparition de lignées.

La cryoconservation des embryons, permet de sauvegarder des génotypes complets, a été mise au point plus

récemment avec la technique de vitrification par refroidissement ultra-rapide. Associée à une remise en place des embryons par transfert non chirurgical, cette technique peut être utilisée pour la diffusion sécurisée des matériels génétiques. Elle permet d'assainir des lignées par transfert des embryons produits par des donneuses de haut niveau génétique vers un troupeau de receveuses indemnes.

1 / Technologies de la semence et insémination

En élevage porcin, la conduite de la reproduction est une composante essentielle de la productivité qui dépend fortement de la fécondité des truies. L'élevage en bandes s'organise autour du cycle oestral de la truie de façon à regrouper les travaux de même nature : mise bas, sevrage, détection des chaleurs et saillies. L'insémination artificielle est utilisée pour la création et la diffusion du progrès génétique mais aussi comme outil de maîtrise du chantier de reproduction. En France, elle est largement pratiquée par les éleveurs (98% d'entre eux), principalement avec de la semence produite en centre de collecte (79%) associée à du prélèvement à la ferme (4%) et plus rarement à de la saillie naturelle (4%) (Boulot et Badouard 2008).

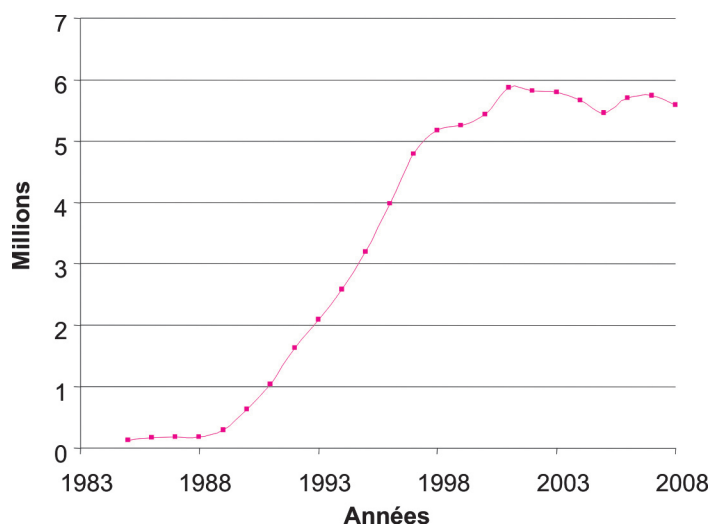
L'insémination utilise très majoritairement de la semence fraîche diluée dans 40 à 85 mL de milieu de conservation et conditionnée sous différents modes, flacons ou dispositifs d'auto-insémination, contenant 2,5 à 3 milliards de spermatozoïdes. La fertilité moyenne est de 89% après 2,6 inséminations en moyenne par cycle. La technique de congélation de la semence est utilisée de façon très marginale pour la sauvegarde de génotypes d'intérêt ou menacés de disparition (Cryobanque Nationale) ou pour l'exportation vers des pays dont la réglementation sanitaire et les délais de transport ne permettent pas l'utilisation de la semence fraîche.

1.1 / Production de semence

La production française de semence commerciale, à hauteur de 5,738 millions de flacons en 2007, est assurée par 11 centres d'insémination (dont deux regroupent 78% de l'activité) à partir de 3796 verrats. L'évolution de l'activité des centres de production a connu une forte augmentation et s'est stabilisée depuis 2002 (figure 1).

La semence est produite en centre de collecte à partir de verrats issus d'élevages de sélection (pour les verrats de races ou de lignées pures) et d'élevages de multiplication (pour les verrats croisés) dont le niveau génétique est évalué

Figure 1. Nombres de flacons de semence commercialisés par les CIA (centres d'Insémination Artificielle) français (Bilan d'activité de l'insémination porcine, enquête annuelle de l'Agence de la Sélection Porcine, publié par IFIP- Institut du Porc).



et le statut sanitaire réglementé. Des contrôles de caryotypes destinés à dépister les anomalies chromosomiques sont pratiqués systématiquement pour éviter la diffusion et l'expression de problèmes de sub-fertilité ou cliniques (Ducos *et al* 2007).

Après la période de quarantaine, les verrats producteurs de semence entrent en centre de collecte à l'âge de 245 ± 27 j. Leur durée de carrière est très variable, 356 ± 238 j en moyenne (Ferchaud *et al* 2009).

Les principales causes de réforme sont la baisse de qualité de la semence (33%) et les problèmes d'aplombs (23%). La collecte est, en moyenne, hebdomadaire avec une forte demande des doses (70%) le lundi matin du fait de l'organisation de la conduite en bandes, de la pratique du sevrage groupé et de la volonté d'éviter des mises bas en fin de semaine.

Les éjaculats produits ont un volume moyen de 272 ± 86 mL contenant 101 ± 36 milliards de spermatozoïdes (données non publiées INRA-Unité Expérimentale Insémination Caprine Porcine (UEICP)). Les principaux facteurs de variation de la production de semence sont le verrot, l'âge, la saison de collecte, la race et l'intervalle entre deux collectes (Guillouet *et al* 1999, Smital 2009).

La technique de collecte est manuelle ou mécanisée avec un système breveté, le Collectis®, qui augmente la productivité du préleveur (Barrabes Aneas *et al* 2008).

Une comparaison des données de production entre les périodes 1991-1997 et 2001-2007 montre une diminution importante de la durée de carrière de production (- 137 j) et une augmentation de la production spermatique par collecte (+ 17 milliards de spermatozoïdes). La répartition des causes de réforme n'a pas évolué (Ferchaud *et al* 2009).

Les évolutions attendues dans la production de semence sont :

- la possibilité d'éviter la pointe de travail des collectes pour l'expédition des doses du lundi matin. Cette réorganisation est sous condition de disposer de techniques validées pour une utilisation de la semence conservée jusqu'à 5 j, conditionnée et expédiée le vendredi et utilisée jusqu'au mercredi,
- une meilleure valorisation des verrats dont 50% sont réformés après de courtes carrières (moins de six mois), c'est-à-dire avant d'atteindre l'âge auquel s'exprime leur plein potentiel de production spermatique.

1.2 / Evaluation de la qualité de la semence

Les méthodes d'évaluation utilisées en routine dans les centres de collecte permettent de décider si un éjaculat collecté est utilisable pour la fabrication de doses par l'insémination. Ces méthodes font appel à des observations visuelles du sperme pur (couleur, aspect) et microscopiques sur la semence diluée (taux de cellules mobiles, note de mobilité, anomalies morphologiques, points d'agglutination). Le volume est estimé indirectement par pesée de l'éjaculat filtré (élimination du gel). La

concentration est mesurée de façon indirecte par photométrie, la mesure de référence étant le comptage à l'hématimètre sous microscope. Des critères de qualité minimum requise sont proposés par différents auteurs (Martin Rillo *et al* 1996, Althouse 1997). L'application de ces critères permet de sécuriser les résultats de fertilité après insémination dans les pratiques d'élevage standardisées, c'est-à-dire deux ou trois inséminations par cycle avec des doses contenant 1,5 à 3 milliards de spermatozoïdes.

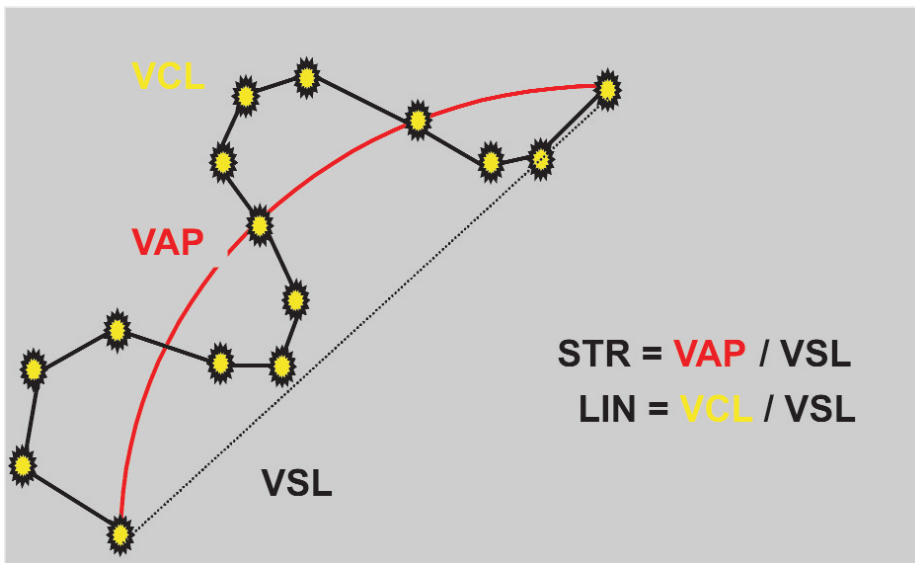
Les méthodes d'évaluation visuelles subjectives de la mobilité sont maintenant réalisables avec des appareils combinant la capture et l'analyse d'images, *Computer Assisted Sperm Analysis* (CASA). Ces appareils évaluent les caractéristiques de déplacement des spermatozoïdes d'un échantillon à partir d'analyses des trajectoires individuelles (figure 2) et produisent des données de vitesse, de caractéristiques des trajectoires (Holt *et al* 1997). Des centres de production de semence utilisent en routine ces appareils pour standardiser l'évaluation de la semence après la collecte et au cours de la conservation dans le cadre de leur démarche qualité (Knox *et al* 2008). Ces appareils n'identifient que les spermatozoïdes individualisés et ne permettent pas l'évaluation des anomalies morphologiques. Leurs coûts d'acquisition et de fonctionnement sont élevés.

Des méthodes utilisant principalement des sondes fluorescentes permettent d'évaluer les aptitudes fonctionnelles du spermatozoïde (Harrison et Vickers 1990, Magistrini 1999) : vitalité *via* l'intégrité de la membrane (iodure de propidium et SRYBR 14), fonctionnalité du manchon mitochondrial (Rhodamine 123), fonctionnalité de l'acrosome (PSA), état de la chromatine (Comet).

L'évaluation de la qualité de la membrane peut se faire par un test de résistance du spermatozoïde associé à un milieu hypo-osmotique ($pO < 330$ mOsm) en associant une sonde de marquage de la vitalité comme SYBR14-iodure de propidium. L'utilisation de ces sondes est généralement couplée à l'utilisation de la cytométrie en flux, permettant ainsi l'observation d'un grand nombre de cellules (Magistrini *et al* 1997).

Ces méthodes de biologie cellulaire sont des outils de recherche, les centres d'insémination les utilisent dans les cas

Figure 2. Critères de déplacement individuels des spermatozoïdes évalués par CASA (Computer Assisted Sperm Analysis).



VCL : Velocity Curvi-Linear (Vitesse du spermatozoïde sur le parcours intégral observé) ; VAP : Velocity Average Path (Vitesse moyenne sur le parcours lissé) ; VSL : Velocity Straight Line (Vitesse moyenne sur le parcours entre le point de départ et le point d'arrivée) ; STR (%) : Straightness = $VSL/VAP \times 100$ (exprime la proximité du parcours rectiligne au parcours lissé) ; LIN (%) : Linearity = $VSL/VCL \times 100$ (exprime la proximité du parcours rectiligne au parcours intégral).

où la fertilité d'un mâle ne peut être expliquée par les critères de routine.

1.3 / Fertilité des verrats et relation entre qualité de la semence *in vitro* et résultats *in vivo*

La fertilité des verrats utilisés en centre d'insémination est estimée globalement, excepté pour les verrats de race pure, pour lesquelles les inséminations sont pratiquées avec le même vertrat. Pour la production, les éleveurs pratiquent plusieurs inséminations par cycle avec de la semence de verrats différents.

La figure 3 regroupe des résultats de fertilité observés dans le réseau d'élevage de l'INRA UEICP, après insémination monospermique (données non publiées). La faible variabilité du taux de gestation observée ($87,84\% \pm 3,85$) s'explique par les protocoles d'insémination sécurisés et au contrôle de la qualité des éjaculats.

Les critères de caractérisation *in vitro* de la qualité de la semence utilisés en routine montrent également une faible variabilité : 82% des éjaculats ont au moins 85% de spermatozoïdes mobiles. L'utilisation de la technique CASA n'a pas permis de mettre en relation les résultats de reproduction après insémination avec les caractéristiques *in vitro*

de la semence le jour de la collecte (Gadea 2005, Didion 2008). Cependant, Holt *et al* (1997) ont montré que des combinaisons de critères évalués de façon objective par la technique CASA sur de la semence conservée dans un milieu capacitant, peuvent être mises en relation avec les résultats de fécondité après insémination avec des doses

de 1,5 milliard de spermatozoïdes, quantité inférieure à la moyenne pratiquée en routine. L'utilisation de doses sub-optimales de 0,3 milliard *versus* 3 milliards de spermatozoïdes mobiles dans un même volume de 70 ml de milieu a permis d'établir une relation forte entre le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et la fertilité (Tardif *et al* 1999). Dans des conditions de routine (3 milliards de spermatozoïdes par dose), Juonala *et al* (1998) ont montré une corrélation significative du taux de non retour en oestrus et de la taille de portée de truies multipares avec l'intégrité de la membrane après 7 j de conservation, 90% des doses étant utilisées dans les 3 j après la collecte. Plus récemment, Druart *et al* (2009) ont décrit une relation entre les classes de fertilité d'éjaculats de verrats et la pression osmotique provoquant la mort de 50% des spermatozoïdes. Il est donc possible de mettre en relation des critères *in vitro* avec les résultats *in vivo* de fertilité et de taille de portées nées après insémination dans des conditions sub-optimales. Dans la pratique, le tri des éjaculats dans les CIA et la quantité de spermatozoïdes par dose compensent les différences de qualité entre éjaculats et les facteurs de variation liés aux effets de la durée de conservation et de l'intervalle entre l'insémination et le moment d'ovulation. La problématique de la qualité des doses de semence se posera donc si l'on décide de diffuser plus largement certains mâles et donc de mieux valoriser leurs éjaculats en préparant un plus grand nombre de doses.

Figure 3. Fertilité des verrats ($n = 66$), estimée par contrôle échographique après insémination monospermique de truies ($n > 50$ truies par vertrat) réparties dans 22 élevages (2,24 IA par cycle en moyenne) (INRA-UEICP données non publiées, 2008).

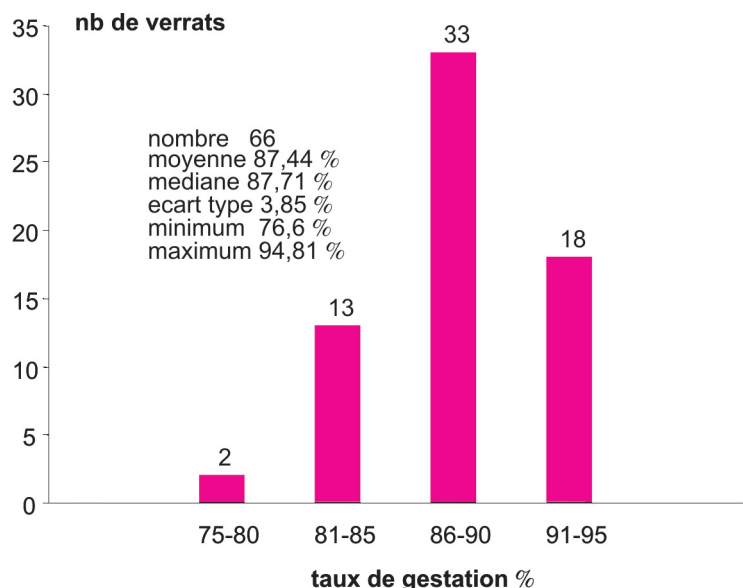


Tableau 1. Qualité de la semence congelée 120 min après réchauffement et résultats de mise bas (données non publiées INRA-UEICP 2007).

% de spz mobiles	Nombre de cycles	Nombre de mises bas	Taux de mise bas (%)	Taille de portée (nés vifs)
20	14	10	72	11,21
30	51	33	65	9,58
40	113	73	65	11,96
50	97	62	64	12,40
60	23	13	57	12,54
Total/moyenne	298	191	64	11,54

*spz : spermatozoïdes.

Des inséminations ont été réalisées avec de la semence décongelée dont le nombre de spermatozoïdes mobiles 120 min après réchauffement variait de 20 à 60% (tableau 1 données INRA UEICP non publiées). Il n'y a pas de différence statistique pour le taux de mise bas entre les classes de mobilité ($p = 0,92$).

1.4 / La conservation de la semence

La semence collectée peut être conditionnée sous forme diluée pour une durée de conservation courte ou cryoconservée dans de l'azote liquide pour une longue conservation.

a) Semence à l'état liquide

La conservation à l'état liquide est la méthode de routine utilisée en CIA et en élevage. Le plasma séminal n'est pas un milieu favorable à la conservation et la semence collectée doit être rapidement diluée dans un milieu dont le rôle est de créer un environnement favorable à la survie et au maintien des fonctionnalités des spermatozoïdes. Les propriétés des milieux de conservation doivent assurer la stabilité du pH, un environnement ionique favorable, une pression osmotique proche de celle des spermatozoïdes et une protection contre la prolifération microbienne. Le métabolisme glucidique des spermatozoïdes est plus faible chez le porc que dans les autres espèces de mammifères et la semence porcine se conserve relativement facilement en conditions d'anaérobiose à des températures positives.

Des milieux à base de glucose associant des tampons et des sels de potassium ont été élaborés et décrits (Paquignon *et al* 1988). L'introduction d'EDTA (éthylènediamide-tétra-acétique) acide dans les milieux de conservation a apporté un progrès décisif. L'EDTA est un chélateur d'ions divalents qui limite l'entrée d'ions Ca^{++} au travers de la membrane du spermato-

zoïde et empêche la capacitation et la réaction acrosomique.

Le milieu le plus utilisé est le BTS (*Beltsville Thawing Solution*) initialement développé par Pursel et Johnson (1975) comme milieu de décongélation. Des milieux de longue conservation ont été développés avec addition de protéines (cystéine et BSA). Des études comparatives *in vitro* de Vyt *et al* (2004) ont montré peu de différences entre cinq milieux pour le nombre de spermatozoïdes vivants au cours de la conservation pendant 7 j, en revanche des différences de mobilités ont été observées en liaison négative avec l'évolution du pH.

L'effet du milieu de conservation sur la fertilité et la taille de portée a fait l'objet de comparaisons. Waberski *et al* 1994 ont comparé les milieux Kiev et Androhep©, ils ont montré une différence de fertilité (68,5% vs 77,8%) en faveur de l'Androhep© qui peut être utilisé après 4 j de conservation sans modifier la taille de portée. Kuster et Althouse (1999) ont inséminé des cochettes avec de la semence en mélange utilisée de 2 à 6 j après la collecte, conservée dans des milieux de «longue conservation» Androhep© et XCELL™. La différence de fertilité n'apparaît que pour la semence conservée 5 à 6 j en faveur de XCELL™ (86,6% vs 78,6%). Anil *et al* (2004) ont testé un milieu appelé Enduraguard commercialisé par la société Minitüb. Ils concluent que «les échecs de gestation» augmentent avec la durée de conservation et que l'augmentation du taux d'échec n'est significative qu'au-delà de huit jours de conservation.

L'encapsulation de la semence pure dans un milieu d'alginate de baryum est décrite par Faustini *et al* (2004). Cette technique brevetée, utilisée chez les bovins, a été adaptée pour la semence porcine. Les spermatozoïdes sont conditionnés sous formes de capsules dans un gel qui permet leur libération progressive dans le tractus, assurant

ainsi la présence des spermatozoïdes sur une période plus longue qu'avec la semence diluée.

Des approches *in vitro* ont montré que l'encapsulation permet de conserver les fonctionnalités des spermatozoïdes (Faustini *et al* 2004). Cependant, la validation de cette technique par des résultats de fertilité est en cours. Le groupe Gènes Diffusion propose un conditionnement qui associe dans le même dispositif d'insémination, le Gémix®, de la semence fraîche diluée et des spermatozoïdes encapsulés.

b) Semence congelée

La cryoconservation de la semence est une technique ancienne (Polge *et al* 1970) qui utilise des milieux à base de sucres, de jaune d'œuf et de glycérol. La mise en œuvre de cette technique est plus coûteuse en temps et en matériel que la semence fraîche et valorise moins bien les collectes.

Les doses d'insémination sont préparées en diluant le contenu de 5 ou 6 paillettes de 0,5 mL contenant chacune 0,8 milliard (ou 10-12 paillettes de 0,4 mL) dans un milieu permettant de constituer des volumes identiques à ceux utilisés en semence fraîche.

Cependant, des améliorations ont permis d'obtenir des résultats de mise bas assez proches de ceux obtenus après insémination avec de la semence fraîche diluée (Thilmant 1997, Bussière *et al* 2000). La technique de conditionnement en paillettes de 0,25 mL permet de simplifier la décongélation (bain marie à 38°C) et d'obtenir des taux de mise bas et des tailles de portée équivalents avec deux fois moins de spermatozoïdes (Thilmant 2001).

1.5 / Les techniques d'insémination

L'évolution des techniques de mise en place de la semence a pour principal objectif l'utilisation de moindres quantités de semence ou l'utilisation de semence dont la qualité est altérée au cours de certaines étapes de mise en œuvre de techniques de conservation comme la congélation-décongélation ou par des traitements technologiques comme le tri des spermatozoïdes. Certains dispositifs visent également à réduire la durée de travail de mise en place de la semence.

L'insémination cervicale est la technique de routine qui se pratique avec des doses de semence diluée dans un

volume de 80 à 100 mL contenant 2,5 à 3 milliards de spermatozoïdes. La semence est introduite à l'aide d'une sonde engrenée dans les tubérosités du col. Depuis 1999, la coopérative Gènes Diffusion propose avec le Gédis® un dispositif d'auto-insémination qui intègre la dose de semence et l'applicateur dont l'intérêt majeur est de simplifier le travail en diminuant la durée du temps passé à inséminer.

Il existe plusieurs méthodes d'insémination intra-utérine qui se distinguent par la profondeur à laquelle la semence est déposée au-delà du col, la quantité de spermatozoïdes déposés et le volume de la dose. Ces méthodes sont utilisées pour différents modes de conservation de la semence diluée en frais ou décongelée. Elles utilisent des sondes d'insémination classiques qui servent à guider un cathéter poussé au-delà du col et par lequel on introduit la semence.

L'insémination post-cervicale consiste à déposer la semence environ 20 cm au-delà du col dans le corps de l'utérus. Cette technique a été expérimentée en élevage par Watson et Behan (2002) en comparaison avec l'insémi-

nation cervicale. Les résultats obtenus montrent que cette technique permet des taux de mise bas et des tailles de portée équivalents avec un nombre réduit de spermatozoïdes par dose : 1 milliard vs 2 ou 3 milliards (tableau 2). Cette technique est en cours de développement en élevage sur des truies ayant déjà mis bas. La possibilité d'utiliser des quantités de spermatozoïdes inférieures à un milliard par dose a donné des résultats différents selon les situations. Rozeboom *et al* (2004) trouvent un effet négatif sur la taille de portée pour des doses inférieures ou égales à un milliard de spermatozoïdes. Roberts et Bilkei (2005) ne relèvent pas de différence significative de fertilité mais observent une diminution de nés totaux entre IA cervicale (12,3) et post cervicale (10,2).

L'insémination intra-utérine profonde consiste à déposer de la semence dans les cornes utérines le plus près possible de la jonction utéro-tubaire. Le dépôt de la semence peut se faire par chirurgie ou à l'aide de dispositifs associant une sonde d'insémination et des cathéters de longueur et de rigidité différentes, leur permettant de remonter

les cornes utérines. Cette méthode d'insémination est destinée à obtenir des fécondations lorsque la quantité de semence fécondante est très limitée (cas de semence congelée de types génétiques rares ou de semence triée pour le sexage). Krueger *et al* (1999) ont inséminé des truies avec des doses de faible volume (5 mL de milieu Androhep) et contenant de faibles quantités de spermatozoïdes (5×10^8 , 1×10^8 , 1×10^7 , 5×10^6 , 1×10^6). La semence est déposée par voie chirurgicale à environ 5 cm de la jonction utéro-tubaire. Les résultats de fécondation obtenus après abattage et récupération des embryons 48 h après l'insémination ne sont pas différents entre les traitements sauf pour la plus faible dose de spermatozoïdes utilisée (1×10^6).

Martinez *et al* (2002) ont pratiqué des inséminations profondes par voie cervicale en utilisant un cathéter mesurant 1,35 m dérivé de ceux utilisés en endoscopie, introduit au niveau du col à l'aide d'une sonde d'insémination. La semence est déposée dans le dernier tiers d'une corne utérine. Des truies multipares synchronisées ont été inséminées avec des doses de semence de

Tableau 2. Techniques d'insémination, volumes des doses et nombres de spermatozoïdes.

Lieu de dépôt de la semence*	Voie	Nb de spz**	Vol.	Truie (n)	Références
IA post- cervicale (corps de l'utérus)	NC	1, 2 et 3×10^9	80mL SF	multipares cycliques (2768)	Watson et Behan (2002)
	NC	0,5, 1 et 4×10^9	85mL SF	multipares cycliques (422)	Rozeboom <i>et al</i> (2004)
	NC	1×10^9	80mL SF	multipares cycliques (924)	Roberts et Bilkei (2005)
IA intra-utérine profonde (cornes de l'utérus)	NC	1, 2,5, $5,15 \times 10^6$	5 mL SF	multipares synchronisées (372)	Martinez <i>et al</i> (2002)
	NC	1 et 5×10^8	20mL 10mlSF	multipares cycliques (100)	Wolken <i>et al</i> (2002)
	NC	70 et 140×10^6	7.5mL SS	multipares synchronisées (187) cycliques (88)	Vasquez <i>et al</i> (2003)
	NC	150×10^6	5mL SC/SF	multipares synchronisées (49) cycliques (40)	Roca <i>et al</i> (2003)
IA à la jonction utéro-tubaire	C	5×10^8 à 1×10^6	1.5mL SF	cochettes synchronisées	Krueger <i>et al</i> (1999)
IA intra-tubaire	C	$1,10^7$	0.5mL SC	Cochettes synchronisées (46)	Polge <i>et al</i> (1970)
	C	3 à 40×10^6	20à500µL SF	cochettes synchronisées (53)	Courot <i>et al</i> (1995)

Voie : C = chirurgicale, NC non chirurgicale.

Semence : SF = semence fraîche, SC = semence congelée, SS = semence sexée, spz = spermatozoïdes.

5 mL contenant 1, 2,5, 5 ou 15 x 10⁷ spermatozoïdes. Les truies gestantes ont mis bas des portées comparables à celles obtenues dans le lot témoin, inséminé classiquement avec 3 x 10⁹ spermatozoïdes. Wolken *et al* (2002) ont inséminé des truies multipares cycliques en déposant la semence à l'aide d'un cathéter d'un mètre introduit à l'aide d'une sonde, dans le premier tiers de la corne utérine. Deux inséminations avec 100 et 500 x 10⁶ spermatozoïdes ont donné des taux de gestation et des nombres de foetus viables à 28-35 j non différents.

Une comparaison d'inséminations de truies avec de la semence fraîche ou décongelée (Roca *et al* 2003) a montré des résultats de fertilité et taille de portée équivalents avec des doses de 150 x 10⁶, 1000 x 10⁶ spermatozoïdes entre des truies synchronisées comparées à des inséminations cervicales avec 2 x 10⁹ spermatozoïdes. Les inséminations sur truies non synchronisées donnent des résultats moins bons après utilisation de semence décongelée.

L'insémination intra-tubaire consiste, après extériorisation chirurgicale de la partie haute des cornes utérines, à introduire une aiguille dans chaque corne et à déposer dans la lumière de la jonction utéro-tubaire un très faible volume de semence (20 à 500 µl) contenant 6 à 10 millions de spermatozoïdes. Cette méthode (Courrot *et al* 1995) est réservée aux situations dans lesquelles on ne dispose que de très peu de semence ou d'une semence à mobilité réduite. Les taux de mise bas sont voisins de 50% avec des tailles de portée hétérogènes.

La maîtrise progressive de l'insémination intra-utérine évolue vers la réduction de la quantité de semence fraîche ou décongelée utilisée. La maîtrise du moment d'ovulation par utilisation de traitements hormonaux permet de meilleurs résultats dans le cas d'utilisation de semence décongelée.

1.6 / Une technologie d'avenir : le tri des spermatozoïdes X et Y

L'obtention à la mise bas d'animaux de sexe prédéterminé est une technique qui ouvre des perspectives importantes d'organisation de la filière. En effet, selon la spécialisation des élevages, sélectionneurs, multiplicateurs ou produits terminaux, l'objectif de production d'animaux de chaque sexe est différent. Cette technologie est une des alternatives proposées pour se substi-

tuer à la castration sans anesthésie dont l'obligation réglementaire va intervenir dans quelques années (Bonneau *et al* 2009).

La technologie de sexage actuelle consiste à utiliser la différence de teneur en ADN (3,6% chez le porc) entre les spermatozoïdes porteurs du chromosome X ou Y. Les spermatozoïdes sont marqués par un fluorochrome qui se fixe sur l'ADN et émet une fluorescence après excitation par un laser UV. La fluorescence émise étant proportionnelle à la quantité d'ADN, les spermatozoïdes porteurs de chromosomes X apparaissent donc plus brillants que les Y. Des dispositifs particuliers ont été mis au point pour adapter la cytométrie de flux au sexage de la semence. Les appareils les plus performants («*high speed fluorescence assisted cell sorter*») disponibles sur le marché permettent de trier 15 millions de spermatozoïdes X et Y à l'heure (Johnson *et al* 2005) avec une pureté de 90%. Cependant, la préparation de la semence pour le tri par marquage, l'addition de dilueurs nécessaires au passage dans le cytomètre, la pression importante utilisée pour obtenir des débits importants et le milieu de réception à la sortie du trieur, contribuent à diminuer la qualité de la semence. Le produit final est très peu concentré et les quantités obtenues sont trop faibles pour être utilisées en insémination classique. Chez le porc, des mises bas ont eu lieu après réimplantation d'embryons produits par FIV (Abeydeera *et al* 1998) avec de la semence sexée avec 97% de produits du sexe attendu. L'utilisation des techniques d'insémination intra-utérine permettant d'utiliser de faibles quantités de semence est en cours de validation pour l'utilisation de la semence sexée (Vazquez *et al* 2003). Grossfeld *et al* (2005) ont obtenu sur 12 truies inséminées en intra-utérine avec des doses de semence sexée contenant 50.10⁶ spermatozoïdes dans 2 mL de milieu, quatre mises bas et 30 porcelets dont un seul n'avait pas le sexe prévu.

1.7 / Qualité sanitaire de la semence

La semence porcine est exposée à de multiples sources de contamination bactériennes et virales (Madec 1998). La présence de contaminants dans la semence en fait un vecteur potentiel *via* l'insémination bien que la transmission ne soit pas établie de façon évidente pour certaines pathologies comme le PCV2 associé au syndrome de la maladie d'amaigrissement du porcelet

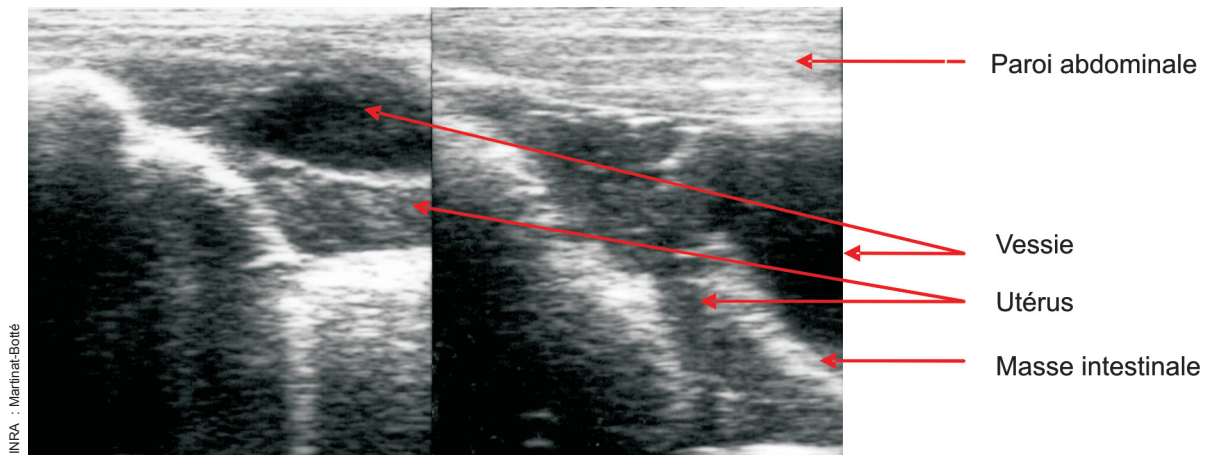
(Grasland *et al* 2009). La vérification de l'innocuité de chaque collecte de verrat producteur de semence étant pratiquement irréalisable, le risque sanitaire est géré par une approche du statut sanitaire des élevages sélectionneurs ou multiplicateurs. L'introduction de mâles en CIA et leur surveillance sont réglementées en France par un arrêté ministériel. Les contrôles s'appuient sur : 1) la connaissance du statut sanitaire de l'élevage naisseur, 2) une série d'examen sérologiques de pré-quarantaine pratiqués dans l'élevage d'origine, 3) un examen clinique, 4) une période de quarantaine au cours de laquelle les sérologies sont répétées et une évaluation de la qualité de la semence est faite par le Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs (LNCR). Outre la réglementation qui ne concerne que la brucellose, la peste porcine classique et la maladie d'Aujeszky, la surveillance est renforcée par des sérologies destinées à détecter une éventuelle contamination par le virus du Syndrome Dysgénésique Respiratoire Porcin (SDRP). Un certificat vétérinaire doit établir que l'élevage d'origine n'a pas connu de signe clinique de la maladie d'amaigrissement du porcelet (MAP). L'ensemble de ces contrôles est transmis à la Direction des Services Vétérinaires qui délivre une autorisation sanitaire d'utilisation du verrat pour la production de la semence. Le suivi du statut sanitaire des verrats après leur entrée au centre est assuré par des contrôles trimestriels de la maladie d'Aujeszky, la Peste Porcine Classique et du SDRP.

2 / Oestrus, ovulation et parturition

2.1 / Détection et variabilité de l'apparition du 1er oestrus : la puberté

Dans un troupeau, le déclenchement de la puberté se répartit généralement sur plusieurs semaines. La race, l'environnement et la conduite d'élevage peuvent influencer son moment d'apparition (Evans et O'Doherty 2001). Cette variabilité a pour conséquence qu'à un âge et à un poids similaires, les cochettes peuvent être à des stades physiologiques différents : infantiles, impubères, prépubères et pubères. Des ovulations sans aucun comportement d'oestrus (7%) ont été observées après dosage de progestérone chez des cochettes croisées (Martinat-Botté *et al* 1996). Un diagnostic de puberté a donc un réel intérêt et pourrait alors faciliter

Figure 4. Images échographiques de cochettes impubères (par voie externe, sonde linéaire de 5 MHz).



l'entrée des cochettes dans le troupeau de femelles productives.

Au cours du développement sexuel, vers 4-5 mois d'âge, l'accroissement des sécrétions ovariennes provoque une forte croissance de l'utérus (Camous *et al* 1985). Le poids de cet organe est multiplié par huit entre les stades infantile et pubère (Prunier *et al* 1987). Un contrôle échographique de la taille et de l'aspect de l'utérus permet de différencier les femelles impubères (images sombres et homogènes) et celles pubères (images contrastées avec coupes utérines visibles ; figures 4 et 5). Le changement des images est brutal, 2 à 9 j avant la puberté (Martinat-Botté *et al* 2003). La technique peut être mise en œuvre en élevage avec une exactitude de 97% (Martinat-Botté et Boulot 2006).

Le contrôle de puberté permet une utilisation raisonnée de traitements hor-

monaux chez les cochettes impubères. Un contrôle échographique permet d'identifier les cochettes impubères et ainsi, optimiser l'efficacité d'un traitement hormonal d'induction de la puberté (400 UI de eCG et 200 UI de hCG ; PG600®, Intervet), en évitant l'administration à des femelles déjà cyclées (Martinat-Botté *et al* 2006b). En les inséminant au deuxième retour en oestrus, les fertilités sont comparables à celles des témoins en accord avec les résultats de Kirwood *et al* (2000).

C'est aussi un outil d'investigation et d'analyse des problèmes de fertilité. Les contrôles réalisés par Boulot *et al* (2006a) dans quatre élevages choisis en raison de problèmes de fertilité persistants ont montré que contrairement aux préconisations, 20% des cochettes étaient impubères au début du traitement progestatif (Régumate®, Janssen). Ceci entraînait des venues en

chaleurs tardives, décalées et des risques d'infertilités liées à des inséminations au premier oestrus.

Le contrôle de puberté s'adresse surtout aux élevages ayant des problèmes de conduite des cochettes. Ces contrôles sont susceptibles de réduire les temps improductifs et d'améliorer les performances de reproduction par différentes voies (tableau 3).

2.2 / Techniques de détection de l'oestrus et de l'ovulation

La technique de référence de détection de l'oestrus est le réflexe d'immobilité de la truie au contact du verrat (Signoret 1972). La détection des chaleurs représente une charge de travail importante et sa précision est déterminante pour l'organisation des inséminations.

Figure 5. Images échographiques de cochettes pubères (par voie externe, sonde linéaire de 5 MHz).

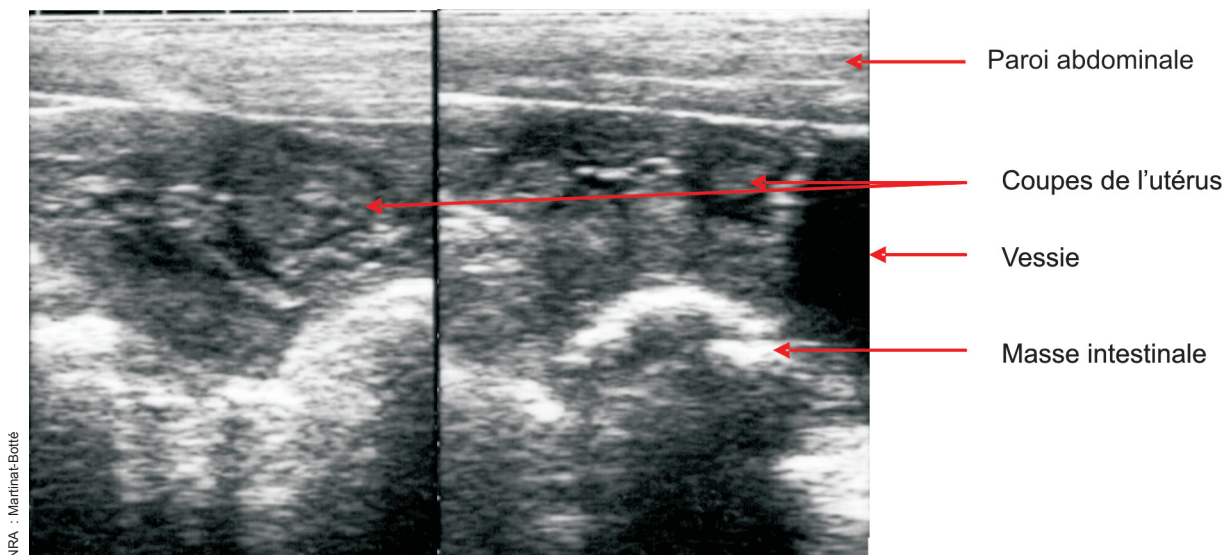


Tableau 3. Avantages et inconvénients du contrôle échographique de puberté (Boulot et al 2006b).

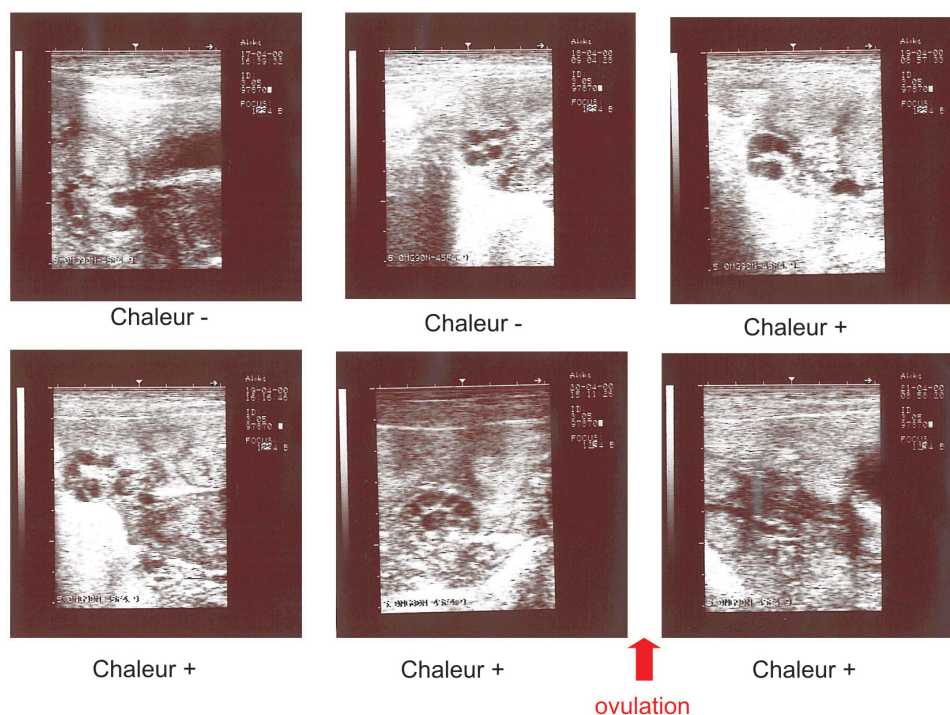
Avantages	Inconvénients
Pédagogique (visuel), rapide et non invasif	Formation spécifique nécessaire. Apprentissage long si peu de cochettes contrôlées.
Applications variées de la sonde linéaire : <i>mesure d'épaisseur de lard, contrôle de gestation ...</i>	Sonde linéaire recommandée.
Outil d'investigation et d'analyse de la conduite : <i>distinction entre les problèmes de puberté (conduite, sanitaire) et de savoir faire (détections, inséminations...)</i>	Mise en œuvre délicate sur cochettes en groupes
Détection des chaleurs «silencieuses»	Numéro d'oestrus indéterminable
Détection d'anomalies : <i>réformes précoces motivées</i>	
Détection de pubertés tardives : <i>révision conduite, traitements, réformes motivées ...</i>	
Détection puberté : entrée à l'élevage ou en verraterie ou avant traitement progestatif <ul style="list-style-type: none"> • <i>Tri des cochettes matures :</i> • <i>Bandes régulières, respect de la conduite en bandes</i> • <i>Moins d'inséminations sur 1^{er} cycle</i> • <i>Meilleure synchronisation des oestrus</i> • <i>Meilleures fertilité et prolificité</i> 	
Traitements hormonaux raisonnés	
Détection de puberté précoce : <i>aide à la sélection</i>	

Des approches indirectes de la manifestation d'oestrus *via* des mesures d'activité, de température et de résistivité du mucus vaginal ont été proposées (Soede et Kemp 1997, Rezac et Olic 2006) mais des études complémentaires sont nécessaires pour en interpréter les variations observées. Par ailleurs, la mesure quotidienne de la résistivité du mucus vaginal ne permet pas de connaître le moment d'ovulation

(Stokhof *et al* 1996). Cette mesure, longue à mettre en œuvre, nécessite des précautions sanitaires strictes, la sonde devant impérativement être désinfectée entre chaque animal.

Des approches comportementales automatisées ont été testées avec des procédés différents selon que les truies sont logées en stalles individuelles (détection des variations d'activité *via*

des cellules infrarouges) ou en groupe (enregistrement des fréquences de visites au verrat *via* des transpondeurs). L'exactitude de ces méthodes est le plus souvent inférieure à 80% avec une sensibilité qui varie de 60 à 100% selon les auteurs (Bressers *et al* 1995, Marchal *et al* 1996, Cornou *et al* 2008). La prise en compte du comportement alimentaire et le filtrage des activités parasites pourraient améliorer les

Figure 6. Images échographiques d'ovaire au moment de l'ovulation (clichés INRA-UEICP).

résultats. Ces outils pourraient néanmoins être intéressants pour surveiller les retours. L'aptitude à détecter le moment d'ovulation n'a jamais été testée.

La visualisation de l'ovaire est possible chez la truie par échographie (figure 6, Soede *et al* 1998) ou par endoscopie (Brüssow *et al* 1990). Ces outils ont permis de déterminer le moment d'ovulation. Dans un cadre expérimental, l'échographie est la méthode la plus utilisée mais le dosage de la progestérone peut être utilisé comme alternative à ces méthodes pour dater *a posteriori* le moment d'ovulation avec une fiabilité équivalente à celle de l'échographie (Terqui *et al* 2000). Pour connaître avec précision le moment d'ovulation, plusieurs observations (trois et plus) sont indispensables quelle que soit la méthode employée.

L'échographie (Kauffold et Althouse 2007) ou le dosage de la progestérone (Labroue *et al* 2000) sont ponctuellement utilisés en élevage pour explorer des troubles de fertilité ou pour réaliser des analyses critiques de protocoles d'insémination. *A contrario*, l'échographie est maintenant le seul outil utilisé en routine par les éleveurs pour détecter la gestation des truies et ceci dès 20 j. La littérature, abondante sur ce point, est unanime pour reconnaître la fiabilité de ce diagnostic (97% d'exactitude) qui permet en outre de réduire les temps improductifs (Martinat-Botté *et al* 1998, Kauffold et Althouse 2007).

Les variations importantes de l'intervalle ovulation-pic d'estradiol 17 β ou du pic de LH, ne permettent pas de proposer le dosage de ces hormones pour dater le moment d'ovulation (Mburu *et al* 1995).

2.3 / Variabilité de l'œstrus et de l'ovulation et conséquences sur la fertilité et la prolificité

Chez la truie, l'œstrus peut commencer à toute heure du jour et de la nuit et dure 50 h en moyenne, mais des variations importantes sont notées (12 à 120 h) selon les études (Soede et Kemp 1997).

En moyenne, l'ovulation apparaît 40 h après le début des chaleurs c'est-à-dire

aux trois quarts de la durée de l'œstrus. Cependant, une grande variabilité dans l'apparition du moment d'ovulation est observée (tableau 4 ; Kemp et Soede 1997) et constitue un des facteurs qui influencent les résultats de fertilité et de prolificité. Les résultats de fertilité sont optimaux en semence fraîche diluée lorsqu'une insémination est réalisée dans les 24 h précédant l'ovulation et dans les 10 h après l'ovulation (Kemp et Soede 1997, Terqui *et al* 2000). En élevage, les truies sont inséminées plusieurs fois au cours de l'œstrus, et on est donc amené à retenir l'intervalle minimum entre l'ovulation et l'insémination. Dans deux études réalisées en élevage, un accroissement de prolificité est noté lorsque l'insémination est réalisée près du moment d'ovulation (Nissen *et al* 1997, Terqui *et al* 2000).

De grandes variations ont été décrites dans la littérature en ce qui concerne la durée d'ovulation. L'intervalle entre la première et la dernière ovulation peut durer de moins d'une heure à 7 h. En moyenne, il est de 2 à 4 h (Flowers et Esbenschade 1993, Soede *et al* 1998).

Plusieurs facteurs influencent la durée de l'œstrus et de l'ovulation : la parité, la saison, l'intervalle tarissement-début œstrus, les conditions de logement et la race de la truie (Kemp et Soede 1997, Soede et Kemp 1997, Belstra *et al* 2004).

Par ailleurs, des comportements d'œstrus en absence d'ovulation ou des ovulations sans aucun comportement d'œstrus ont été décrits chez des truies taries mais la fréquence de ces cas reste limitée (< 4% ; Martinat-Botté *et al* 1995b).

2.4 / Maîtrise pharmacologique de l'œstrus, de l'ovulation et de la mise bas

Plusieurs progestagènes et différents protocoles d'administration ont été étudiés dans le passé pour synchroniser les œstrus. Des résultats satisfaisants ont été obtenus avec le progestagène Altrenogest (Régumate®, Altresyn® ou FolliPlan®). Il est principalement utilisé pour synchroniser les œstrus des cochettes ou des truies taries. Il peut

être préconisé au moment du tarissement pour conserver dans les bandes, les truies taries précocement ou les truies ayant des retours décalés.

Le progestagène peut être associé à des hormones gonadotropes (eCG, FSH, hCG, LH) ou à PGF2 α afin de mieux contrôler l'œstrus induit, en particulier des primipares et/ou en période estivale. De nombreuses études ont fait appel à des analogues de GnRH ou à hCG associé ou non à eCG pour contrôler le moment d'ovulation chez la truie.

a) La maîtrise de l'œstrus

L'altrenogest est un progestagène actif par voie orale qui permet de synchroniser les œstrus des truies cyclées. La dose quotidienne de produit actif doit être supérieure à 13 mg car en dessous de cette dose, le risque de follicules kystiques à l'arrêt du traitement a été décrit. La durée du traitement fluctue, selon les études, entre 14 et 18 j.

L'administration de progestagène peut commencer à n'importe quel moment du cycle ; il empêche la croissance des follicules mais il n'a aucune influence sur la durée de vie des corps jaunes. A l'arrêt du traitement, une phase folliculaire commence dont les caractéristiques sont comparables à celle d'une truie cyclique non traitée en phase folliculaire (Guthrie *et al* 1993). A la dose journalière de 20 mg d'altrenogest et avec 18 j de traitement, environ 95% des femelles ont un œstrus 4 à 7 j après l'arrêt du progestagène. Par ailleurs, l'altrenogest ne permet pas de prédire les ovulations (Terqui *et al* 2000). Il ne dispense donc pas de détecter les chaleurs. Les œstrus induits sont plus fertiles que les œstrus naturels et aboutissent à une prolificité accrue grâce à une augmentation du taux d'ovulation (Martinat-Botté *et al* 1995c, Soede *et al* 2007) alors que la survie fœtale reste inchangée (Martinat-Botté *et al* 1995c).

L'administration d'hormones gonadotropes à l'arrêt du traitement progestatif ne semble pas avoir d'effets bénéfiques sur les performances de reproduction (Estienne *et al* 2001, Kanora *et al* 2004).

Par ailleurs, ce traitement progestatif ne s'applique qu'aux cochettes venues au moins une fois en chaleur car l'altrenogest ne déclenche pas la première ovulation. Chez des femelles impubères au moment du traitement, le délai d'apparition de l'œstrus est souvent retardé (Boulot *et al* 2006a, Martinat-Botté *et*

Tableau 4. Moment d'ovulation déterminé par échographie d'ultrasons en heures par rapport au début de l'œstrus.

Références	Moyenne (h)	Valeurs extrêmes (h)
Weitze <i>et al</i> (1990)	37	23 - 48
Weitze <i>et al</i> (1994)	44	24 - 100
Martinat-Botté <i>et al</i> (1995a)	40	26 - 50
Soede <i>et al</i> (1995)	48	17 - 58

Tableau 5. Performances de reproduction de truies traitées avec 400 UI de eCG et 200 UI de hCG (PG600) le jour du tarissement (Guillouet et al 2006).

Paramètres	Lot Témoin	Lot PG600	P
Nombre de truies	19	18	
Parité	2,8	2,9	N,S
Intervalle tarissement-oestrus (j)	4,07	3,35	0,005
Intervalle oestrus-ovulation (h)	42,3	40,9	N.S
Durée de l'oestrus (j)	2,47	2,46	N.S
Nombre moyen de corps jaunes	24,9	31,1	0,01
Nombre total d'embryons*	17,3	22,1	0,04
Nombre d'embryons vivants*	16,1	17,4	N.S
Nombre d'embryons morts*	1,2	4,7	0,006
Survie embryonnaire**	0,72	0,71	N,S

* à 30 j de gestation ; ** : la survie embryonnaire est le rapport du nombre total d'embryons sur le nombre de corps jaunes.

al 1982). Si les cochettes sont mises à la reproduction, les inséminations seront réalisées au 1^{er} oestrus. Les risques de chaleurs décalées désorganisent la conduite en bandes.

Dans plus de 70% des cas, les éleveurs français utilisent l'altrenogest pour introduire les cochettes dans les bandes ; c'est ce qui ressort d'une enquête récente (Boulot et al 2005).

Après le tarissement, un pourcentage très variable de truies présente un retour en oestrus tardif (> 9 j). L'intervalle tarissement-oestrus dépend de facteurs propres à l'animal, de facteurs climatiques et de facteurs liés à la conduite de l'élevage (Quesnel et al 1996). Ces retards d'oestrus perturbent la conduite d'élevage et sont une cause importante de réforme des truies.

Deux types de solution ont été proposés pour régulariser l'apparition de l'oestrus après tarissement de la truie : l'utilisation d'hormones gonadotropes ou celle de progestagène, essentiellement altrenogest.

- Utilisation d'hormones gonadotropes

Le déclenchement de l'oestrus post-tarissement peut être obtenu par injection séparée ou simultanée de eCG et de hCG. Ces hormones sont utilisées pour stimuler la croissance et la maturation des follicules. Le traitement le plus fréquemment utilisé associe simultanément 400 UI de eCG et 200 UI de hCG (PG600®, Intervet ; Fertipig®, Ceva). Il est administré au moment du tarissement (le jour ou le lendemain) ou de manière occasionnelle chez les truies n'ayant pas eu de retour en oestrus dans un délai normal après le tarissement.

Dans le premier cas, une réduction de l'intervalle tarissement-oestrus d'un jour en moyenne et une amélioration de la synchronisation des oestrus sont observées dans la majorité des nombreuses études dont certaines sont réalisées chez des primipares ou pendant la période estivale, paramètres réputés pour engendrer des oestrus plus tardifs. Par ailleurs, l'intervalle oestrus-ovulation diffère peu de celui des témoins (Knox et al 2001, Guillouet et al 2006). La plupart des auteurs ne montrent pas d'effet significatif du traitement sur le taux de mise bas et la prolificité. Cette absence d'effet positif dans plusieurs expériences pourrait s'expliquer en partie par le fait que le traitement entraîne une augmentation du taux d'ovulation et de la mortalité embryonnaire et ainsi, minimise les effets bénéfiques escomptés sur la taille de portée (tableau 5). Cependant, ces traitements ne s'appliquent qu'à des truies sevrées après plus de deux ou trois semaines de lactation. Le moment d'injection (le jour ou le lendemain du tarissement) ne semble pas influencer le groupage des oestrus et les performances de reproduction ultérieures (Kirwood et Giebelhaus 1998) mais pour la majorité des études, l'injection est réalisée le jour du tarissement. Chez les truies réellement en anaoestrus, l'administration d'hormones gonadotropes 7 j après le tarissement permet d'induire un oestrus fertile dans la majorité des cas (Bracken et al 2006).

De nombreuses équipes ont utilisé les analogues de PGF2 α pour mieux grouper les oestrus et/ou pour résoudre les problèmes de non venue en oestrus. Les résultats d'oestrus et de fertilité sont très variables d'une étude à l'autre. Dans la plupart des cas, il n'y a pas de différences significatives entre les animaux traités et témoins (Bosc et Martinat-Botté 2003). Selon une

enquête française récente, près de la moitié des éleveurs utiliseraient ces traitements, occasionnellement et en particulier pendant l'été. (Boulot et al 2005).

- Utilisation du progestagène altrenogest

L'altrenogest exerce un frein sur l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires. L'arrêt du traitement doit permettre aux follicules de démarrer une croissance pré-ovulatoire et d'ovuler quelques jours plus tard. Différents protocoles d'administration de l'altrenogest ont été testés après une lactation moyenne de 2 à 4 semaines. Des durées de traitement de 3 à 14 j, commencées soit pendant la lactation soit au moment du tarissement, améliorent le groupage des oestrus (doses journalières différentes d'altrenogest). En ce qui concerne la fertilité et la taille de portée, les résultats ne sont pas clairement confirmés (Stevenson et al 1985, Kirkwood et al 1986, Peters et Baker 1992, Koutsotheodoros et al 1998, Tilton et Weigl 2000, Gonçalves dos Santos et al 2004).

La durée optimum du traitement progestatif de truies allaitantes ou taries n'est donc pas établie, pas plus que la dose et le moment d'administration (début pendant la lactation ou non). Or, à cette période, différents facteurs peuvent interagir (Quesnel et al 1996) sur l'efficacité du progestagène.

b) Le contrôle de l'ovulation

Le contrôle et la synchronisation des ovulations à l'aide d'analogues de GnRH ou de hCG ou de LH ont pour objectif de supprimer la détection des oestrus et de réaliser une ou plusieurs inséminations à dates fixes. Ces administrations sont dissociées ou non de eCG.

Brussow et al (1996) ont conduit de nombreux travaux sur le contrôle de l'ovulation à l'aide d'un analogue de GnRH (D-Phe⁶-LHRH) associé à eCG. Deux inséminations à dates fixes sont réalisées. Les ovulations sont induites moins de 40 h après l'injection de GnRH. Cependant, l'efficacité des schémas proposés chez les truies cycliques ou taries est difficile à évaluer car des témoins sans prétraitement avec eCG manquent dans ces études.

Quand l'ovulation est induite avec eCG associé à hCG, l'intervalle hCG-ovulation varie entre 35 et 48 h (Kemp et al 1998).

Tableau 6. Exemples de contrôle de l'ovulation à l'aide de pLH chez des truies tarées : taux de mises bas et prolificité.

Références	Lot*	Traitement appliqué**	Taux de mise bas (%)	Prolificité (nés totaux)
Cassar <i>et al</i> (2005) (un élevage)	Témoin (n=131)	Tarissement à 26 j en moyenne 2 IA à l'oestrus détecté	68,7	11,1
	eCG + pLH (n=110)	eCG (600 UI) le jour du tarissement + pLH (5mg) 80 h après 2 IA 36 et 40 h après pLH	84,2	10,3
	eCG + pLH (n=102)	eCG (600 UI) le jour du tarissement + pLH (5mg) 80 h après 1 IA 36 après pLH	86,1	10,6
Bennett-Steward <i>et al</i> (2008) (11 élevages)	Témoin (Primipares, n=571)	2 IA à l'oestrus détecté	90,7	11,9
	eCG + pLH (Primipares, n=596)	eCG (600 UI) le jour du tarissement + pLH (5mg) au début de l'oestrus 2 IA 12 et 32 h après début oestrus	92,2	11,7
	Témoins (2 ^{ème} portée, n=597)	2 IA à l'oestrus détecté	96,8	12,7
	eCG + pLH (2 ^{ème} portée, n=597)	eCG (600 UI) le jour du tarissement + pLH (5mg) au début de l'oestrus 2 IA 12 et 32 h après début oestrus	96,9	12,5

* (n) : nombre de truies. **IA : Insémination Artificielle.

Récemment, il a été proposé, chez des truies tarées, de contrôler l'ovulation à l'aide de la LH d'origine porcine (pLH). Les truies reçoivent de l'eCG (600 UI) le jour du sevrage. Des résultats encourageants de fertilité ont été obtenus après une ou deux inséminations réalisées à dates fixes ou à l'oestrus détecté (tableau 6). Par ailleurs, il semble possible de contrôler l'ovulation en utilisant uniquement des agonistes de GnRH (Knox *et al* 2003, Baer et Bilkei 2004).

A notre connaissance, aucune de ces méthodes n'est appliquée en routine dans les élevages français. De plus, aucun agoniste de GnRH n'a obtenu présentement, pour cette espèce, une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France.

c) La maîtrise de la mise bas

L'induction de la mise bas est possible grâce à la prostaglandine F_{2α} et à ses propriétés lutéolytiques. En effet, toute injection d'analogues de prostaglandines à partir de 12 j de gestation entraîne un arrêt de la gestation par régression des corps jaunes (avortement ou mise bas).

La durée de la gestation de la truie est réputée peu variable. Cependant, l'ensemble des mises bas peut s'étendre sur 8 à 10 j bien que 80% d'entre elles soient concentrées sur 4 j. Le contrôle de la parturition doit tenir compte de cet étalement résultant en partie de la

variabilité des inséminations dans l'élevage. En pratique, l'utilisation d'un analogue de la prostaglandine F_{2α}, par injection intramusculaire ou vulvaire, entre 111 et 114 j de gestation permet de regrouper les mises bas sur 48 h dans plus de 95% des cas. Les échecs sont rares. La durée de la mise bas n'est pas modifiée par le traitement par comparaison à celle des témoins, de 60 à plus de 200 min et varie en partie selon la taille de la portée (Bosc et Martinat-Botté 1976). Un contrôle encore plus strict a été proposé en associant aux prostaglandines une administration de relaxine et/ou d'ocytocine (Bosc et Martinat-Botté 2003).

Une trop grande prématurité des porcelets est à éviter car les pertes postnatales sont augmentées (2 porcelets et plus en moyenne) et la croissance ultérieure des porcelets affectée. Aussi, les injections de prostaglandines ne doivent pas être réalisées avant 112 j de gestation. Par ailleurs, des effets secondaires ont été observés, ils dépendent de la molécule utilisée, des conditions d'environnement et de la précocité du traitement (Bosc et Martinat-Botté 2003).

Selon une enquête, l'induction hormonale des mises bas serait pratiquée en France, par 80% des éleveurs, et ce en moyenne pour 69% des truies (Boulot *et al* 2005). Elle permet de réduire le nombre de mises bas en fin de semaine et ainsi de réduire les durées de lactation et de simplifier la gestion des porcelets surnuméraires.

3 / Technologies de l'embryon

Pour des raisons sanitaires, la législation internationale sur le transfert embryonnaire exige que seuls les embryons exempts d'agents pathogènes soient exportés avec une zone pellucide intacte (Stringfellow et Seidel 1998). Les embryons sortent de leur pellucide 6 j après l'insémination, ils sont alors dans le tiers supérieur des cornes utérines. La période d'utilisation de ces différentes technologies est donc limitée à un développement très précoce de l'embryon.

3.1 / Production d'embryons

Les donneuses d'embryons peuvent se trouver à des stades physiologiques différents au moment du traitement de superovulation : jeunes truies impubères ou cycliques, truies gravides dont l'avortement est induit à l'aide d'analogues de prostaglandines, truies primipares ou multipares tarées. Le traitement le plus souvent utilisé consiste à administrer de l'eCG (800 à 2000 UI), soit 24 h après la dernière injection d'analogues de prostaglandines, soit après l'arrêt du traitement progestagène (Altrenogest), soit après le tarissement et le plus souvent l'injection de hCG ou de GnRH 72 h plus tard (Cameron *et al* 1989, Ducro-Steverink *et al* 2004). Ces traitements sont peu différents de ceux décrits au paragraphe 2.4. La réponse

Tableau 7. Collecte d'embryons de jeunes truies cycliques produits dans des conditions naturelles ou après une stimulation ovarienne (eCG et hCG) (INRA-PRC, non publié).

Paramètres	Conditions naturelles		Après stimulation ovarienne	
	L W (32)	Duroc (22)	L W (29)	Duroc (36)
Génotype des donneuses	L W (32)	Duroc (22)	L W (29)	Duroc (36)
Nombre moyen d'ovulations*	20,2 ± 3,3	15,2 ± 1,9	25,7 ± 6,7	17,7 ± 6,0
Nombre moyen d'embryons collectés*	17,7 ± 3,8	12,9 ± 4,7	22,3 ± 6,4	14,9 ± 5,4
Nombre moyen de blastocystes collectés*	9,1 ± 5,9	8,5 ± 6,1	17,4 ± 8,5	10,5 ± 6,1

* m ± sd ; () : nombre de donneuses ; L W : Large White.

ovarienne dépend de la dose de eCG injectée, du génotype (tableau 7) et de l'état physiologique des donneuses au moment du traitement. Une grande variabilité de réponse est souvent observée pour le taux d'ovulation, le nombre d'embryons collectés et le nombre d'embryons transférables cela par comparaison à des femelles non traitées (tableau 7). Lorsque la réponse ovarienne est élevée, la viabilité de ces embryons est compromise (Youngs 2001). Généralement, une double insé-

mination est faite à des dates fixées après le traitement hormonal ou après détection de l'oestrus. Les embryons peuvent aussi être produits dans des conditions naturelles : les femelles sont alors inséminées après la détection de l'oestrus.

L'utilisation de la production *in vitro* d'embryons reste, à ce jour, au stade expérimental chez le porc car la transposition des méthodes mises au point chez les bovins est difficile, en

raison des particularités de la physiologie des gamètes et des embryons porcins.

3.2 / Développement de l'embryon

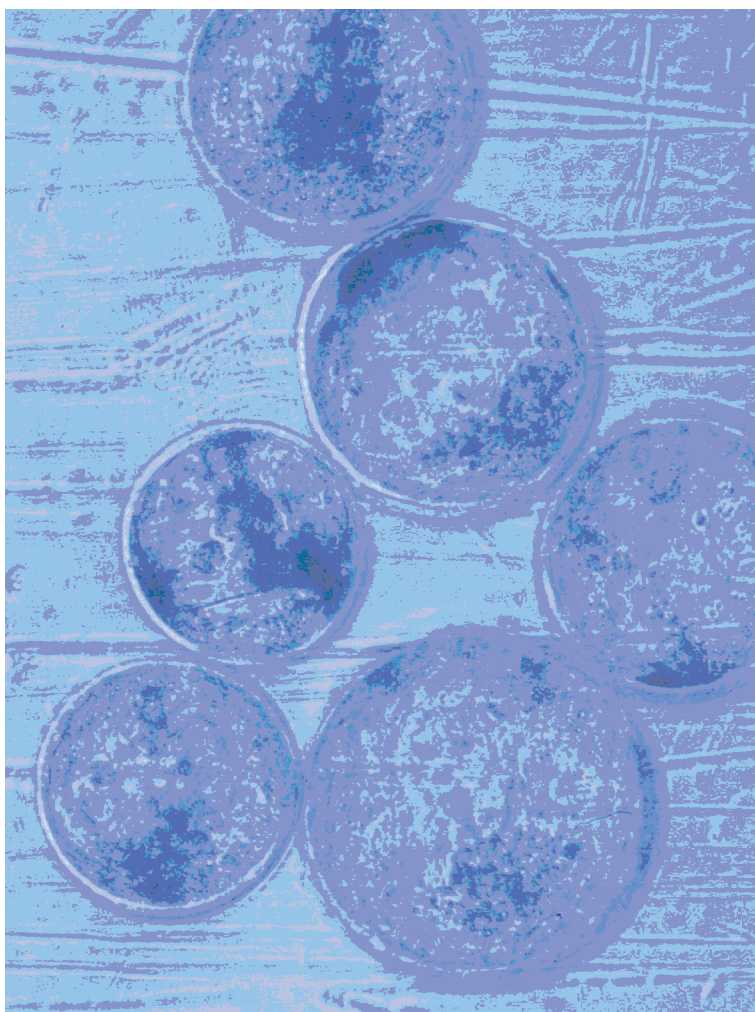
L'ovulation a lieu en moyenne 40 h après l'oestrus détecté chez les femelles qui n'ont pas eu de stimulation hormonale. Le premier clivage de l'œuf intervient 36 à 48 h après la première insémination. A J₃ (J₀ étant le jour de la première insémination) les embryons arrivent au stade 4-8 cellulés et quittent l'oviducte pour entrer à l'apex des cornes utérines où ils continuent de croître. La sortie des embryons de leur zone pellucide intervient à J₆₋₇ de la gestation, ils sont encore sphériques. Progressivement ils deviennent ovoïdes et entre J₁₁ et J₁₂, une importante élongation a lieu. La chronologie des événements peut varier en fonction des génotypes. Par exemple, des études ont montré que l'embryon de race Meishan est en avance sur celui de race Large White, en particulier lors du développement précoce (Terqui et al 1992).

Pour collecter les embryons avant leur éclosion, il est recommandé de les prélever entre le 5^{ème} et le 6^{ème} jour de gestation. A cette date, les embryons aux stades morula et blastocyste (figure 7) sont souvent mélangés à cause du grand écartement des ovulations dans le temps (selon les études de 2 à 10 h). Mais seuls les stades morula et blastocyste sont appropriés pour la cryoconservation.

3.3 / Collecte des embryons

La méthode la plus simple pour collecter les embryons est le lavage des oviductes ou des cornes utérines après abattage de la donneuse. Le taux de collecte est élevé (80%). Pour des collectes répétées chez des femelles de haute valeur génétique, il faut avoir recours à la collecte chirurgicale : deux à trois collectes maximum par donneuse car au-delà, il y a des risques d'adhérences. Après anesthésie, une laparotomie permet d'extérioriser le tractus génital. Le taux de collecte est de 80% après perfusion des oviductes ou des cornes utérines. La collecte par endoscopie (Brüssow et Ratky 1996, Besenfelder *et al* 1997), ou non-chirurgicale sont expérimentales. Cette dernière nécessite préalablement, par chirurgie, le raccourcissement des cornes utérines (Hazeleger et Kemp 2001).

Figure 7. Embryons âgés de 5 à 6 j au stade blastocyste.



INRA : F. Berthelot

Tableau 8. Taux de réussite après congélation et vitrification de l'embryon porc (transferts chirurgicaux).

Méthode	Stade embryon	Traitement embryon	Nombre de mises bas / nombre de transferts	Nombre de porcelets nés/ nombre d'embryons transférés	Références
Congélation	2-4 cellules	Centrifugé + délipidé	1/1	3/39	Nagashima <i>et al</i> (1995)
	Blastocyste	Aucun	1/6	1/57	Fujino <i>et al</i> (1993)
		Aucun	2/7	8/141	Mödl <i>et al</i> (1996)
Vitrification	Morula et/ou Blastocyste	CytochalasinB + centrifugé + pronase	9/11	61/330	Dobrinsky (2002)
	Blastocyste sorti	Aucun	6/12	39/381	Dobrinsky <i>et al</i> (2000)
	Blastocyste épanoui	Aucun	1/3	4/64	Kobayashi <i>et al</i> (1998a)
Aucun		3/15	11/338	Kobayashi <i>et al</i> (1998b)	

3.4 / Cryoconservation

A partir de 1972, il a été montré que l'embryon de porc était particulièrement sensible à un abaissement de la température, 15°C étant le stade léthal (Pollard et Leibo 1994). Ensuite, trois voies successives ont été proposées pour cryoconserver l'embryon de porc : congélation lente, vitrification et, plus récemment, vitrification ultra-rapide.

Les cryoprotecteurs les plus utilisés pour l'embryon de porc sont le glycérol, l'éthylène glycol et le DMSO (diméthylsulfoxyde). Des cryoprotecteurs au sens large du terme sont également utilisés : des agents protecteurs du cytosquelette comme la cytochalasine B, des composés organiques tels que les saccharides (sucrose, galactose, tréhalose) ayant un rôle osmotique important favorisant l'entrée ou la sortie des cryoprotecteurs, des protéines (sérum de veau fœtal) ou des macromolécules comme le PVP (polyvinylpyrrolidone), composés protecteurs des cellules embryonnaires.

a) La congélation lente

Le principe est d'ajouter au milieu de congélation des quantités limitées de cryoprotecteurs et d'abaisser lentement la température à l'aide d'un programmeur afin de permettre la déshydratation progressive des cellules et d'éviter la formation de cristaux de glace. Ce principe est couramment utilisé pour la congélation de la semence. Une vingtaine de porcelets sont nés après transfert d'embryons congelés/décongelés (Berthelot *et al* 2003, tableau 8). La présence de lipides a souvent été évoquée comme un obstacle à la congélation lente de l'embryon porc (Nagashima *et al* 1995).

b) La vitrification

Les embryons sont placés dans un milieu contenant des concentrations élevées de cryoprotecteurs qui permettent la solidification de la solution sous forme amorphe à très basse température. Cette descente rapide de température (3000°C/min) leur permet de passer certaines températures critiques en limitant les dommages liés au refroidissement progressif des cellules (Mazur 1990). Cependant, la nécessité d'utiliser de très fortes concentrations en cryoprotecteurs entraîne un risque de toxicité pour les embryons. Le temps de passage des embryons dans chaque bain, suppose un respect strict des temps. Avant la vitrification, les embryons peuvent subir plusieurs traitements en vue de protéger leur cytosquelette (Dobrinsky *et al* 2000), ce qui rend la méthode plus difficile à mettre en œuvre. La technique a donné naissance à plus d'une centaine de porcelets après transfert d'embryons vitrifiés/réchauffés (tableau 8).

c) La vitrification ultra-rapide

Steponkus *et al* (1990) ont proposé, chez la drosophile, une technique utilisant un abaissement ultra-rapide de la température (24 000°C/min). Cette vitesse de refroidissement s'obtient en réduisant les volumes à quelques microlitres. Ce principe a été repris par une équipe danoise qui a mis au point une micro-paille (Open Pulled Straw : OPS) (Vajta *et al* 1997). L'OPS est une paille dont une des extrémités est suffisamment fine pour permettre la montée par capillarité des embryons baignant dans un micro-volume de solution de vitrification (1,5µl), et dont la paroi est assez mince pour permettre un refroidissement ultra-rapide. Des

techniques faisant appel à d'autres supports que les pailles en plastique sont étudiées (tableau 9). Ainsi elles permettent d'accroître la vitesse de refroidissement et de réchauffement car ce paramètre apparaît être une des clefs pour préserver l'embryon de porc des dommages causés par l'abaissement de température.

La sécurisation de la méthode de vitrification ultra-rapide est un point essentiel à résoudre pour un bon développement de la technique. Les milieux de vitrification contiennent du sérum pour protéger l'embryon mais le sérum peut être une source de contamination. Il peut être remplacé par des substituts synthétiques (Cameron *et al* 2004, Plat *et al* 2008, Sanchez-Osorio *et al* 2008b). Les pailles OPS étant ouvertes, elles n'assurent donc pas la conservation des embryons dans un milieu clos (risques de contamination dans l'azote liquide au moment du stockage). Des pailles «Haute Sécurité» existent pour vitrifier l'embryon humain et des études sont en cours pour les embryons porcins.

La méthode OPS avec ou sans traitement préalable des embryons est utilisable et reproductible pour vitrifier les blastocystes porcins (tableau 9). Les facteurs qui ont été identifiés comme susceptibles d'interférer sont : l'origine de l'embryon, le stade de l'embryon au moment de la vitrification, la concentration des cryoprotecteurs et les milieux de dilution des cryoprotecteurs (Berthelot *et al* 2002, 2007, Sanchez-Osorio *et al* 2008a). Plus de 400 porcelets sont nés après transfert d'embryons vitrifiés (tableau 9). A la mise bas, aucune anomalie anatomique n'a été observée sur les porcelets nés. Les

Tableau 9. Taux de réussite après vitrification ultra-rapide de l'embryon porcin (transferts chirurgicaux uniquement).

Méthode	Stade embryon	Traitement embryon	Nombre de mises bas / nombre de transferts	Nombre de porcelets nés / nombre d'embryons transférés	Références
Open Pulled Straw (OPS)	Morula	Aucun	8/10	26/200	Berthelot <i>et al</i> (2001)
	Morula/ Blastocyste	CytochalasinB + centrifugé + pronase	15/20	123/568	Cameron <i>et al</i> (2004)
	Blastocyste	Aucun	11/20	38/400	Berthelot <i>et al</i> (2000)
		Aucun	29/40	168/800	Berthelot <i>et al</i> (2002)
		CytochalasinB + centrifugé + pronase	1/5	5/180	Cameron <i>et al</i> (2000)
		3/4	16/115	Beebe <i>et al</i> (2002)	
Grilles de microscopie électronique (MMV Method)	Blastocyste	Aucun	8/10	37/300	Fujino <i>et al</i> (2008)
Micro-goutelette*	Blastocyste	Aucun	2/5 4/4	17/171 21/99**	Misumi <i>et al</i> (2003)

* retenu par l'extrémité d'une pipette en verre ** co-transferts d'embryons frais et vitrifiés.

pois à la mise bas et au sevrage sont comparables à ceux des porcelets nés dans des conditions naturelles (Berthelot *et al* 2002).

3.5 / Transfert embryonnaire

Il s'agit de prendre les embryons d'une femelle donneuse et de les remettre dans une autre femelle dite receveuse. L'oestrus chez les donneuses et les receveuses doit être synchronisé, un léger décalage est possible (2 j de retard maximum pour les receveuses).

a) Le transfert chirurgical

La méthode suppose l'anesthésie de la receveuse. L'endroit du dépôt des embryons dépend du stade de leur développement. Les embryons frais, une vingtaine transférés en moyenne, sont remis soit par le pavillon de l'oviducte (8 cellules et moins) soit par l'apex d'une des deux cornes utérines (stades morula et blastocyste). Les embryons vitrifiés sont toujours transférés à l'apex d'une des deux cornes utérines car ils sont vitrifiés au stade blastocyste. Les taux de gestation obtenus à partir d'embryons frais ou vitrifiés varient entre 60 et 80% de receveuses gravides (Polge 1982, Cameron *et al* 1989, Martinat-Botté *et al* 1992, Berthelot *et al* 2002).

Plus récemment, une technique par endoscopie a été développée (Hazeleger et Kemp 2001). Ces deux méthodes sont limitées dans leur utilisation à cause de leur complexité (salle d'opération, équipe entraînée...).

b) Le transfert non-chirurgical

Le principe du transfert non-chirurgical est de mettre les embryons âgés de 4 à 6 j dans l'utérus en passant par le col d'une receveuse vigile. Deux méthodes permettant le dépôt des embryons à des endroits différents de l'utérus ont été proposées. La première consiste à déposer des embryons dans le corps de l'utérus de receveuses multipares (Hazeleger et Kemp 1994) La seconde consiste à déposer les embryons plus haut dans les cornes utérines de receveuses nullipares ou multipares (Martinez *et al* 2001). Le dépôt des embryons se fait à l'aide de dispositifs associant une sonde d'insémination et des cathéters de longueur et de rigidités différentes. Les résultats de fertilité après transfert non chirurgical d'embryons frais ou vitrifiés sont plus faibles et plus variables qu'après transfert chirurgical (tableau 10). Par ailleurs, à ce stade physiologique précis (5 j) l'utérus de la receveuse est plus sensible aux germes et aux réactions inflammatoires ; aussi des précautions

d'hygiène au moment du transfert doivent être prises. Des écoulements vaginaux ont pu être observés quelques jours après le transfert (Cuello *et al* 2005).

Plusieurs facteurs influencent le succès du transfert d'embryons par chirurgie ou non. Le nombre d'embryons (< 10) est critique pour la poursuite de la gestation (Polge 1982). Par ailleurs, deux études ont montré que le lieu du dépôt des embryons conditionnait la réussite du transfert. Les embryons âgés de 5 à 6 j (frais ou vitrifiés) doivent être remis en haut d'une des cornes utérines pour obtenir des résultats de fertilité corrects (Wallenhorst et Holtz 1999, Martinat-Botté *et al* 2006b).

3.6 / Evaluation des risques sanitaires liés à ces technologies

L'objectif du contrôle sanitaire officiel des embryons collectés *in vivo* destinés aux échanges internationaux est de garantir l'absence de germes pathogènes spécifiques que pourraient véhiculer ces embryons, et d'éviter ainsi toute contamination des femelles receveuses et de leur descendance. Les sources d'agents pathogènes dans le processus du transfert embryonnaire

Tableau 10. Taux de réussite après transfert non chirurgical d'embryons porcins.

Site de dépôt des embryons	Dispositif de transfert, stade embryon	Nombre de mises bas /nombre de transferts	Taille de portée**	Références
Corps utérus	Rec. : Anesthésie Sonde d'IA + canule 8 c. à Bl. sorti Frais	6/58	5	Reichenbach <i>et al</i> (1993)
	Rec. : légère anesthésie Sonde d'IA + cathéter * 4 c. à Bl. Frais	10/46	4,3 ± 0,7	Galvin <i>et al</i> (1994)
	Swinlet® cathéter Mor. à Bl. Frais	7/21	6,7 ± 1,6	Hazeleger et Kemp (1994)
	Swinlet® cathéter Bl. Frais	18/45	7,2 ± 2,8	Ducro-Steeverink <i>et al</i> (2004)
	Sonde d'IA + cathéter rigide Bl. à Bl. Sorti Frais et Vitriifié	Frais 10/23 Vitriifié 9/13	6,5 ± 2,4 7,9 ± 2,4	Riha et Vejnar (2004)
Utérus (dépôt variable)	Sonde d'IA + long cathéter (> 1m) flexible Mor. à Bl. Frais	17/24	6,9 ± 0,7	Martinez <i>et al</i> (2004)
	Sonde d'IA + long cathéter (> 1m) flexible Bl. Vitriifié	9/21	5,4 ± 0,3	Cuello <i>et al</i> (2005)

* un robinet d'arrêt 3 voies à l'extrémité du cathéter, ** m ± sd, ** porcelets nés
4 ou 8 c. = 4 ou 8 cellules, Mor. = Morula, Bl. = Blastocyste, Rec.= Receveuse

peuvent avoir plusieurs origines : la donneuse et la receveuse d'embryons, les équipements pour manipuler les embryons, les constituants d'origine animale contenus dans les milieux utilisés.

La Société Internationale de Transfert Embryonnaire (IETS) a permis dès les années 1970, alors que l'activité de transfert d'embryons naissait à peine dans l'espèce bovine, de proposer des règles pour éviter tout risque de dissémination d'agents pathogènes lié à l'échange d'embryons entre nations ou continents. Ces réglementations servent de référentiels et sont inscrites dans le code sanitaire pour les animaux terrestres de l'Office International des Epizooties (OIE). Chez le porc, la législation est calquée sur celle utilisée chez les autres animaux de rente. Les embryons non vecteurs de pathogènes sont exportés avec une zone pellucide intacte (Stringfellow et Seidel 1998). La zone pellucide est une coque protectrice qui constitue une barrière à l'entrée d'une majeure partie des agents pathogènes.

a) La législation sur la manipulation des embryons

La législation est décrite dans le manuel de l'IETS (Stringfellow et Seidel 1998) et reprise dans le code sanitaire de l'OIE (2008). L'équipe de transfert d'embryons doit être agréée, posséder un équipement et des locaux adaptés, se soumettre régulièrement à

un contrôle de qualité. Toutes les manipulations d'embryons doivent être faites avec du matériel et des milieux stériles. Les embryons issus d'une même donneuse sont lavés ensemble (12 bains obligatoires dont deux contenant de la trypsine) et doivent avoir une zone pellucide intacte et exempte de tout corps étranger. Les liquides de collecte et de lavage doivent être stockés pour le contrôle de qualité. Les paillettes ne contiennent que des embryons d'une même donneuse. Les femelles donneuses et receveuses doivent satisfaire aux exigences des directives sanitaires.

b) Le passage des pathogènes par le biais de l'embryon

L'IETS a classé en quatre catégories les maladies infectieuses étudiées du point de vue du risque de transmission par le transfert d'embryons collectés *in vivo*. Cette classification est réalisée à partir des travaux de recherche ou de résultats observés sur le terrain qui respectent les critères et les protocoles décrits par l'IETS. Les résultats de ces différentes études sont convergents : l'analyse d'embryons conservés dans leur pellucide et lavés selon les règles, montre qu'ils sont indemnes de pathogènes, même s'ils proviennent de femelles infectées. Les receveuses et les porcelets nés sont de même indemnes (James *et al* 1983, Medveczky *et al* 1996, Wrathall et Suttmöller 1998, Randall *et al* 1999). Le risque de transmission de maladies infectieuses par le

transfert embryonnaire est très réduit, au moins pour les maladies classées en catégories 1, 2 et 3. Pour la catégorie 4, d'autres études doivent être conduites pour évaluer le risque de transmission par le biais des embryons (voir Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE, 2008).

Chez le porc, les échanges de génétique sont réalisés par le biais d'animaux vivants, pratique contraignante et risquée sanitaire. Actuellement, une organisation française de sélection porcine réalise quelques échanges de génétique, en Europe et en Amérique du Nord, par le biais d'embryons frais, transférés chirurgicalement. Ceci implique une logistique lourde et coûteuse. La cryoconservation qui permet de séparer dans le temps la production et le transfert d'embryons est encore à l'état expérimental. Sa mise en œuvre par les entreprises de génétique devrait faciliter la sauvegarde du patrimoine génétique (cryobanques) et rendre plus fréquents les échanges par le biais d'embryons, avec une plus grande sécurité sanitaire.

Conclusions

Un certain nombre de techniques d'assistance à la reproduction sont maintenant bien au point et largement utilisées chez le porc (synchronisation et induction des chaleurs, insémination,

échographie...), et ceci avec d'excellents résultats.

D'autres techniques ont fait l'objet de développements et d'améliorations importantes au cours des dernières années. La congélation de la semence et le transfert chirurgical d'embryons frais sont appliqués dans les élevages de sélection.

La cryoconservation des embryons, le transfert non chirurgical d'embryons et le sexage de la semence sont des techniques plus récentes dont l'application finalisée nécessite encore des ajustements pour être opérationnelles sur le terrain.

Le déploiement de ces nouvelles technologies représentera un apport

précieux pour l'élevage porcin : diffusion du progrès génétique, garanties sanitaires, stockage de patrimoines génétiques, possibilité de reconstituer des troupeaux assainis.

Références

- Abeydeera L.R., Johnson L.A., Welch G.R., Wang W.H., Boquest A.C., Cantley T.C., Rieke A., Day B., 1998. Birth of piglets preselected for gender following *in vitro* matured oocytes by X and Y chromosomes spermatozoa sorted by high speed flow cytometry. *Theriogenology*, 50, 981-988.
- Althouse G.C., 1997. Evaluating porcine semen for artificial insemination. Assessment of cell membranes and viability. *Food Anim.*, 19, 400-404.
- Anil S. S., Larriestra A., Deen J., Morrison R., Minion L., 2004. A retrospective study on the preserving capacity of a commercial boar semen extender. *Theriogenology*, 62, 425-436.
- Baer C., Bilkei G., 2004. The effect of intravaginal applied GnRH agonist on the time of ovulation and subsequent reproductive performance of weaned multiparous sows. *Reprod. Dom. Anim.*, 39, 293-297.
- Barrabes Aneas S., Gary B.G., Bouvier B.P., 2008. Collectis© automated boar collection technology. *Theriogenology*, 70, 1368-1373.
- Beebe L.F.S., Cameron R.D.A., Blackshaw A.W., Verrall R.G., 2002. Vitrification of zona pellucida intact embryos and birth of piglets using the Vit-Master. 17th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Ames, Iowa, USA, 1, 64.
- Belstra B.A., Flowers W.L., See M.T., 2004. Factors affecting temporal relationships between estrus and ovulation in commercial sow farms. *Anim. Reprod. Sci.*, 84, 377-394.
- Bennett-Steward K., Aramini J., Pelland C., Friendship R., 2008. Equine chorionic gonadotrophin and porcine luteinizing hormone to shorten and synchronize the wean-to-breed interval among parity one and parity to sows. *J. Swine Health Prod.*, 16, 182-187.
- Berthelot F., Martinat-Botté F., Locatelli A., Perreau C., Terqui M., 2000. Piglets born after vitrification of embryos using the open pulled straw method. *Cryobiology*, 41, 116-124.
- Berthelot F., Martinat-Botté F., Perreau C., Terqui M., 2001. Birth of piglets after OPS vitrification and transfer of compacted morula stage embryos with intact zona pellucida. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41, 267-272.
- Berthelot F., Martinat-Botté F., Perreau C., Locatelli A., Manceau P., Terqui M., 2002. Un milieu de cryoconservation approprié permet à 30% de blastocystes transférés de donner naissance à des porcelets. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 34, 289-294.
- Berthelot F., Martinat-Botté F., Vajta G., Terqui M., 2003. Cryopreservation of porcine embryos: state of the art. *Livest. Prod. Sci.*, 83, 73-83.
- Berthelot F., Venturi E., Cognié J., Furstoss V., Martinat-Botté F., 2007. Development of OPS vitrified pig blastocysts: Effects of size of the collected blastocysts, cryoprotectant concentration used for vitrification and number of blastocysts transferred. *Theriogenology*, 68, 178-185.
- Besenfelder U., Mödl J., Müller M., Brem G., 1997. Endoscopic embryo collection and embryo transfer into the oviduct and the uterus of pigs. *Theriogenology*, 47, 1051-1060.
- Bonneau M., Ouedraogo A., Prunier A., Courboulay V., Fredriksen B., Oliver M.A., 2009. Castration des porcs mâles : pratiques actuelles et opinions des porteurs d'enjeu en Europe. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 41, 225-230.
- Bosc M.J., Martinat-Botté F., 1976. Induction de la parturition chez la truie au moyen de prostaglandines. *Econ. Méd. Anim.*, 17, 235-244.
- Bosc M.J., Martinat-Botté F., 2003. Champs d'application de la prostaglandine F2 α en reproduction porcine. In : *Le Grand Livre des Prostaglandines*, Schering-Plough Vétérinaire (Ed), France, 135-164.
- Boulot S., Badouard B., 2008. Evolution des pratiques d'insémination dans les troupeaux de truies françaises de 2001 à 2006. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 40, 257-258.
- Boulot S., Dubroca S., Badouard B., 2005. Gestion pharmacologique de la reproduction : le point sur les pratiques des éleveurs. *Techni Porc*, 28 (5), 9-12.
- Boulot S., Morvan R., Martinat-Botté F., 2006a. Conditions de mise en œuvre et intérêt du contrôle échographique de puberté en élevage porcin. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 38, 475-482.
- Boulot S., Morvan R., Martinat-Botté F., 2006b. Conditions de mise en œuvre et intérêt du contrôle échographique de puberté en élevage porcin. *Techni Porc*, 29 (6), 1-8.
- Bracken C.J., Seaman-Bridges J.S., Safranski T.J., Lucy M.C., 2006. Ovarian follicular development, estrus and ovulation in seasonally anestrous sows treated seven days post weaning with equine and human chorionic gonadotropins. *J. Swine Health Prod.*, 14, 207-209.
- Bressers H.P.M., Tebrake J.H.A., Noordhuizen J.P.T.M., 1995. Automated estrus detection in group-housed sows by recording visits to the boar. *Livest. Prod. Sci.*, 41, 183-191.
- Brüssow K.P., Ratky J., Becker F., 1990. Determination of the duration of ovulation in gilts by means of laparoscopy. *Reprod. Dom. Anim.*, 25, 184-190.
- Brüssow K.P., Ratky J., 1996. Endoscopic collection of porcine embryos. *Reprod. Dom. Anim.*, 31, 711-715.
- Brüssow K. P., Jöchle W., Hühn U., 1996. Control of ovulation with a GnRH analog in gilts and sows. *Theriogenology*, 46, 925-934.
- Bussièrre J.F., Bertaud G., Guillouet P., 2000. Conservation de la semence congelée de verrat, résultats *in vitro* et après insémination. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 32, 429-432.
- Cameron R.D.A., Durack M., Fogarty R., Putra D.K.H., McVeigh J., 1989. Practical experience with commercial embryo transfer in pigs. *Aust. Vet. J.*, 66, 314-318.
- Cameron R.D.A., Beebe L.F.S., Blackshaw A.W., Higgins A., Nottle M.B., 2000. Piglets born from vitrified early blastocysts using a simple technique. *Aust. Vet. J.*, 78, 195-196.
- Cameron R.D.A., Beebe L.F.S., Blackshaw A.W., Keates H.L., 2004. Farrowing rates and litter size following transfer of vitrified porcine embryos into a commercial swine herd. *Theriogenology*, 61, 1533-1543.
- Camous S., Prunier A., Pelletier J., 1985. Plasma prolactin, LH, FSH and estrogen excretion patterns in gilts during sexual development. *J. Anim. Sci.*, 60, 1308-1317.
- Cassar G., Kirkwood R.N., Poljak Z., Bennett-Steward K., Friendship R.M., 2005. Effect of single or double insemination on fertility of sows bred at an induced estrus and ovulation. *J. Swine Health Prod.*, 13, 254-258.
- Cornou C., Vinther J., Ringgaard Kristensen A., 2008. Automatic detection of oestrus and health disorders using data from electronic sow feeders. *Livest. Prod. Sci.*, 118, 262-271.
- Courot M., Bussièrre J., Bertaud G., Braconnier O., Forgerit Y., Després P., Martinat-Botté F., 1995. Insémination artificielle intratubaire chez la truie. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 27, 63-66.
- Cuello C., Berthelot F., Martinat-Botté F., Venturi E., Guillouet P., Vazquez J.M., Roca J., Martinez E.A., 2005. Piglets born after non-surgical deep intrauterine transfer of vitrified blastocysts in gilts. *Anim. Reprod. Sci.*, 85, 275-286.
- Didion B.A., 2008. Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. *Theriogenology*, 70, 1374-1376.
- Dobrinisky J.R., 2002. Advancements in cryopreservation of domestic animal embryos. *Theriogenology*, 57, 285-302.
- Dobrinisky J.R., Pursel V.G., Long C.R., Johnson L.A., 2000. Birth of piglets after transfers of embryos cryopreserved by cytoskeletal stabilisation and vitrification. *Biol. Reprod.*, 61, 564-570.
- Druart X., Gatti J.L., Huet S., Dacheux J.L., Humblot P., 2009. Hypothonic resistance of boar spermatozoa: sperm subpopulation and rela-

tionship with epididymal maturation and fertility. *Reproduction*, 137, 205-213.

Ducos A., Berland H.M., Bonnet N., Calgareo A., Billoux S., Garnier-Bonnet N., Darre R., Pinton A., 2007. Chromosomal control of pig populations in France: 2002-2006 survey. *Genet. Sel. Evol.*, 39, 583-597.

Ducro-Steverink D.W.B., Peters C.G.W., Maters C.C., Hazeleger W., Merks J.W.M., 2004. Reproduction results and offspring performance after non-surgical embryo transfer in pigs. *Theriogenology*, 62, 522-531.

Estienne M.J., Harper A.F., Horsley B.R., Estienne C.E., Knight J.W., 2001. Effects of PG600 on the onset of estrus and ovulation rate in gilts treated with Regumate. *J. Anim. Sci.*, 79, 2757-2761.

Evans A. C. O., O'Doherty J. V., 2001. Endocrine changes and management factors affecting puberty in gilts. *Livest. Prod. Sci.*, 68, 1-12.

Faustini M., Torre M.L., Stacchezzini S., Norberti R., Consiglio A.L., Porcelli F., Conte U., Munari E., Russo V., Vigo D., 2004. Boar spermatozoa encapsulated in barium alginate membranes: a microdensitometric evaluation of some enzymatic activities during storage at 18°C. *Theriogenology*, 61, 173-184.

Ferchaud S., Furstoss V., Guillouet P., 2009. Evolution de la durée de carrière et de la production spermatique des verrats de CIA, étude comparative 1991-1997 et 2001-2007. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 41, 253-256.

Flowers W.L., Esbenshade K.L., 1993. Optimizing semen production for artificial insemination in swine. *J. Reprod. Fert.*, 48, 217-228.

Fujino Y., Ujisato Y., Endo K., Tomizukz T., Kojima T., Oguri N., 1993. Cryoprotective effect of egg yolk in cryopreservation of porcine embryos. *Cryobiology*, 30, 299-305.

Fujino Y., Kojima T., Nakamura Y., Kobayashi H., Kikuchi K., Funahashi H., 2008. Metal mesh vitrification (MMV) method for cryopreservation of porcine embryos. *Theriogenology*, 70, 809-817.

Gadea J., 2005. Sperm factors related to *in vitro* and *in vivo* porcine fertility. *Theriogenology*, 63, 431-444.

Galvin J.M., Killian D.B., Stewart A.N.V., 1994. A procedure for successful nonsurgical embryo transfer in swine. *Theriogenology*, 41, 1279-1289.

Goncalves dos Santos J. M., Wentz I., Bortolozzo F.P., Barioni W., 2004. Early weaned sows: altrenogest therapy, estrus, ovulation and reproductive performance. *Anim. Reprod. Sci.*, 84, 407-413.

Grasland B., Blanchard P., Keranflec'h A., Oger A., Rose N., Madec F., Jestin A., Cariolet R., 2009. Etude de la transmission du circovirus porcin de type 2 (PCV-2) par la semence. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 41, 193-194.

Grossfeld R., Klinc P., Sieg B., Rath D. 2005. Production of piglets with sexed semen employing a non-surgical insemination technique. *Theriogenology*, 63, 2269-2277.

Guillouet P., Tribout T., Bussièrre J.F., Bertaud G., Bidanel J.P., Terqui M., 1999. Analyse de facteurs de variation de la production spermatique de verrats d'insémination artificielle. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 31, 45-52.

Guillouet P., Boisseau C., Furstoss V., Ridremont B., Martinat-Botté F., 2006. PG600

treatment at weaning: reproductive parameters at D30 of gestation. 19th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Copenhagen, Denmark, 2, 120.

Guthrie H.D., Bolt D.J., Cooper B.S., 1993. Changes in follicular estradiol 17 β , progesterone and inhibin immunoreactivity in healthy and atretic follicles during preovulatory maturation in the pig. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 10, 127-140.

Harrison R.A.P., Vickers S.E., 1990. Use of fluorescent-probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 88, 343-352.

Hazeleger W., Kemp B., 1994. Farrowing rate and litter size after transcervical embryo transfer in sows. *Reprod. Dom. Anim.*, 29, 481-487.

Hazeleger W., Kemp B., 2001. Recent developments in pig embryo transfer. *Theriogenology*, 56, 1321-1331.

Holt C., Holt W.V., Moore H.D.M., Reed H.C.B., Curnock R.M., 1997. Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: Results of two fertility trials. *J. Androl.*, 18, 312-323.

James J.E., James D.M., Martin P.A., Reed D.E., Davis D.L., 1983. Embryo transfer for conserving valuable genetic material from swine herds with pseudorabies. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 183, 525-528.

Johnson L.A., Rath D., Vasquez J.M., Maxwell W.M.C., Dobrinsky J.R., 2005. Preselection of sex of offspring in swine for production: current status of the process and its application. *Theriogenology*, 63, 615-624.

Juonala T., Lintukangas S., Nurttila T., Andersson M., 1998. Relationship between semen quality and fertility in 106 AI-boars. *Reprod. Dom. Anim.*, 33, 155-158.

Kanora A., Destombes T., Jacobs J., Barrere E., Goossens L., 2004. Regumate as control for oestrus synchronisation in gilts: effects of additional administration of PG600 in the early follicular phase. 18th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Hamburg, Germany, 2, 493.

Kauffold J., Althouse G.C., 2007. An update on the use of B-mode ultrasonography in female pig reproduction. *Theriogenology*, 67, 901-911.

Kemp B., Soede N.M., 1997. Consequences of variation in interval from insemination to ovulation on fertilization in pigs. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 52, 79-89.

Kemp B., Soede N.M., Hazeleger W., 1998. Control of ovulation. In: *Progress in Pig Science*, Wiseman J., Varley M.A., Chadwick J.P. (Eds), University Press, Nottingham, 285-302.

Kirkwood R.N., Giebelhaus R.J., 1998. Day of injection does not affect the response of weaned sows to PG600. *Swine Health Prod.*, 6, 171-173.

Kirkwood R.N., Smith W.C., Lapwood K.R., 1986. Influence of oral administration of allyl trenbolone on subsequent litter size of primiparous sows. *N.Z. J. Exp. Agric.*, 14, 477-480.

Kirkwood R.N., Aherne F.X., Monaghan P.G., Misutka S.C., 2000. Breeding gilts at natural or a hormone-induced estrus: effects on performance over four parities. *Swine Health Prod.*, 8, 177-179.

Knox R.V., Rodriguez-Zas S.L., Miller G.M., Willenburg K.L., Robb J.A., 2001. Administration of PG600 to sows at weaning and the time of ovulation as determined by transrectal ultrasound. *J. Anim. Sci.*, 79, 796-802.

Knox R.V., Willenburg K.L., Rodriguez-Zas S.L., Greger D.L., Swanson M.E., Haf's H.D., 2003. Intravaginal GnRH agonist gel advances time of ovulation and facilitates timed AI in weaned sows. *Am. Ass. Swine Vet.*, 11, 495-498.

Knox R., Levis D., Safranski T., Singleton W., 2008. An update on North American boar stud practices. *Theriogenology*, 70, 1202-1208.

Kobayashi S., Goto M., Kano M., Takei M., Minato K., Leibo S.P., 1998a. Farrows or pregnancies by transfer of porcine embryos vitrified at two institutions. *Cryobiology*, 37, 436.

Kobayashi S., Takei M., Kano M., Tomita M., Leibo S.P., 1998b. Piglets produced by transfer of vitrified porcine embryos after stepwise dilution of cryoprotectants. *Cryobiology*, 36, 20-31.

Koutsotheodoros F., Hughes P.E., Parr R.A., Dunshea F.R., Fry R.C., Tilton J.E., 1998. The effects of post weaning progestagen treatment (Regumate) of early weaned primiparous sows on subsequent reproductive performance. *Anim. Reprod. Sci.*, 52, 71-79.

Krueger C., Rath D., Johnson L.A., 1999. Low dose insemination in synchronized gilts. *Theriogenology*, 52, 1363-1373.

Kuster C.E. and Althouse G.C., 1999. The fecundity of porcine semen stored for 2 to 6 days in Androhep® and XCELL™ extenders. *Theriogenology*, 52, 365-362.

Labroue F., Guillouet P., Marsac H., Boisseau C., Luquet M., Arrayet J., Martinat-Botté F., Terqui M., 2000. Etude des performances de reproduction de 5 races locales porcines françaises. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 32, 413-418.

Madec F., 1998. La contamination de la semence chez le verrier. *Point Vétérinaire*, 29 (195), 1121-1127.

Magistrini M., 1999. La qualité des spermatozoïdes et du plasma séminal : quelles sont les fonctions explorables ? *INRA Prod. Anim.*, 12, 350-353.

Magistrini M., Guitton E., Lavern Y., Nicolle J.C., Vidament M., Kerboeuf D., Palmer E., 1997. New staining methods for sperm evaluation estimated by microscopy and flow cytometry. *Theriogenology*, 48, 1229-1235.

Marchal P., Loisel P., Braux M., 1996. Conception d'un équipement de détection automatique du comportement d'oestrus des truies élevées en groupe. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 28, 325-330.

Martinat-Botté F., Boulot S., 2006. L'échographie : un outil fiable pour détecter la puberté chez la truie. *Bull. des GTV*, 37, 50-57.

Martinat-Botté F., Bariteau F., Mauléon P., Scheid J.P., Signoret J.P., 1982. Données nouvelles sur le groupage des oestrus chez la truie. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 14, 75-80.

Martinat-Botté F., Plat M., Procureur R., Terqui M., 1992. Meishan (MS) as recipient in embryo transfer programs. *Int. Symp. Chinese Pig Breeds*, Harbin, China, 561-564.

Martinat-Botté F., Richard D., Maurel M.C., Plat M., Desprès P., Locatelli A., Godet G., Landrevie J., Bussièrre J., Renaud G., Terqui M., 1995a. Relations entre les taux plasmatiques de LH, de progesterone, l'échographie d'ultrasons et le moment d'ovulation chez la cochette. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 27, 57-62.

Martinat-Botté F., Forgerit Y., Bussièrre J., Maurel M.C., Plat M., Macar C., Poirier P., Nolibois P., Terqui M., 1995b. Utilisation d'un progestagène (Regumate) au moment du tarisse-

ment de la primipare - 2. Mécanismes physiologiques. Journ. Rech. Porcine Fr., 27, 51-56.

Martinat-Botté F., Bariteau F., Forgerit Y., Macar C., Poirier P., Terqui M., 1995c. Synchronization of oestrus in gilts with altrenogest: effects on ovulation rate and foetal survival. Anim. Reprod. Sci., 39, 267-274.

Martinat-Botté F., Quesnel H., Prunier A., Tournut J., Terqui M., 1996. Reproduction de la truie : bases physiologiques et maîtrise. 1^{ère} partie. Rev. Méd. Vét., 147, 33-46.

Martinat-Botté F., Renaud G., Madec F., Costiou P., Terqui M., 1998. Échographie et reproduction chez la truie. Bases et applications pratiques. INRA Editions et Hoechst Roussel Vet (Eds), Paris, France, 104p.

Martinat-Botté F., Royer E., Venturi E., Boisseau C., Guillouet P., Furstoss V., Terqui M., 2003. Determination by echography of uterine changes around puberty in gilts and evaluation of a diagnosis of puberty. Reprod. Nutr. Dev., 43, 225-236.

Martinat-Botté F., Venturi E., Furstoss V., Ridremont B., 2006a. Effect of intramuscular administration of PG600 on estrual and ovulatory responses of impubertal gilts selected by echography. 19th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Copenhagen, Denmark, 1, 120.

Martinat-Botté F., Berthelot F., Venturi E., Cognié J., 2006b. Surgical transfer of porcine vitrified blastocysts to different uterine sites. 19th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Copenhagen, Denmark, 1, 117.

Martin-Rillo S., Martinez E., Artiga C.G., De Alba C., 1996. Boar semen evaluation in practice. Reprod. Dom. Anim., 31, 519-526.

Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A., Vazquez J.L., 2001. Deep intrauterine insemination and embryo transfer in pigs. Reproduction, supplement 58, 301-311.

Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A., Parrilla I., Vazquez J.L., Day B.N., 2002. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. Reproduction, 123, 163-170.

Martinez E.A., Caamano J.N., Gil M.A., Rieke A., McCauley T.C., Cantley T.C., Vazquez J.M., Roca J., Vazquez J.L., Didion B.A., 2004. Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs. Theriogenology, 61, 137-146.

Mazur P., 1990. Equilibrium, quasi-equilibrium, and nonequilibrium freezing of mammalian embryos. Cell-Biophys., 17, 5-9.

Mburu J.N., Einarsson S., Dalin A.M., Rodriguez-Martinez H., 1995. Ovulation as determined by transrectal ultrasonography in multiparous sows: relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. J. Vet. Med., 42, 285-292.

Medveczky I., Solti L., Haraszti J., Ronay G., Ekes K., Belak S., Tury E., Seregi J., Varga J., 1996. Transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus is blocked by trypsin treatment of transferred embryos. Theriogenology, 46, 1357-1365.

Misumi K., Suzuki M., Sato S., Saito N., 2003. Successful production of piglets derived from vitrified morulae and early blastocysts using a microdroplet method. Theriogenology, 60, 253-260.

Mödl J., Reichenbach H.D., Wolf E., Brem G., 1996. Development of frozen-thawed porcine

blastocysts *in vitro* and *in vivo*. Vet. Rec., 139, 208-210.

Nagashima H., Kashiwazaki N., Ashman R.J., Grupen C.G., Nottle M.B., 1995. Cryopreservation of porcine embryos. Nature, 374, 416.

Nissen, A.K., Soede, N.M., Hyttel, P., Schmidt, M., D'Hoore, L., 1997. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows as investigated by ultrasonography. Theriogenology, 47, 1571-1582.

Paquignon M., Bussièrre J., Bariteau F., 1988. Efficacité des techniques de conservation de la semence de verrat. INRA Prod. Anim., 1, 271-280.

Peters A.R., Baker D.J., 1992. Effect of altrenogest on litter size in sows. 12th Int. Congr. Anim. Reprod. (ICAR), La Haye, The Netherlands, 1169-1171.

Plat M., Berthelot F., Venturi E., Cognié J., Staub C., Martinat-Botté F., 2008. Cryopreservation of porcine blastocysts without animal-derived products - *in vitro* and *in vivo* studies. 20th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Durban, South Africa, 1, 207.

Polge C., 1982. Embryo transplantation and preservation. In: Control of pig reproduction, Cole D.J.A., Foxcroft G.R. (Eds), Butterworth Scientific, London, Nottingham, England, 277-291.

Polge C., Salmon S., Wilmot I., 1970. Fertilizing capacity of frozen boar semen following surgical insemination. Vet. Rec., 87, 424-428.

Pollard J.W., Leibo S.P., 1994. Chilling sensitivity of mammalian embryos. Theriogenology, 41, 101-106.

Prunier A., Bonneau M., Etienne M., 1987. Effects of age and live weight on the sexual development of gilts and boars fed two planes of nutrition. Reprod. Nutr. Dev., 27, 689-700.

Pursel V.G., Johnson L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa. Fertilizing capacity with concentrated semen and new thawing procedure. J. Anim. Sci., 40, 99-102.

Quesnel H., Martinat-Botté F., Prunier A., Tournut J., Terqui M., 1996. Reproduction de la truie : bases physiologiques et maîtrise. 2^{ème} partie. Revue Méd. Vét., 147, 111-122.

Randall A.E., Pettitt M.J., Plante C., Buckrell B.C., Randall G.C.B., Henderson J.M., Larochelle R., Magar R., Pollard J.W., 1999. Elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus through embryo transfer. Theriogenology, 51, 274.

Reichenbach H.D., Mödl J., Brem G., 1993. Piglets born after transcervical transfer of embryos into recipient gilts. Vet. Rec., 133, 36-39.

Rezac P., Olic I., 2006. Relationship between opposite changes of vaginal and vestibular impedance during estrous cycle in sows. Theriogenology, 66, 868-876.

Riha J., Vejnar J., 2004. Comparaison of two vitrification methods for cryopreservation of porcine embryos. Czech. J. Anim. Sci., 49, 183-189.

Roberts P.K., Bilkei G., 2005. Field experiences on post-cervical artificial insemination in the sow. Reprod. Dom. Anim., 40, 489-491.

Roca J., Carvajal G., Lucas X., Vazquez J.M., Martinez E.A., 2003. Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a

reduced number of frozen-thawed spermatozoa. Theriogenology, 60, 77-87.

Rozeboom K.J., Reicks D.L., Wilson M.E., 2004. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. J. Anim. Sci., 82, 2164-2168.

Sanchez-Osorio J., Cuello C., Gil M.A., Alminana C., Parrilla I., Caballero I., Garcia E.M., Vasquez J.M., Roca J., Martinez E.A., 2008a. Factors affecting the success rate of porcine embryo vitrification by the Open Pulled Straw method. Anim. Reprod. Sci., 108, 334-344.

Sanchez-Osorio J., Cuello C., Gil M.A., Alminana C., Caballero I., Vasquez J.M., Roca J., Martinez E.A., 2008b. OPS vitrification of porcine blastocysts using a chemically defined medium. Reprod. Dom. Anim., 43, suppl. 5, 83.

Smital J., 2009. Effects influencing boar semen. Anim. Reprod. Sci., 110, 335-346.

Signoret J.P., 1972. Contribution à l'étude des mécanismes éthologiques et endocriniens du comportement sexuel de la truie. Thèse de Doctorat. Université Paris VI. CNRS A.O., 7257, 180p.

Soede N.M., Kemp B., 1997. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. J. Reprod. Fertil., suppl. 52, 91-103.

Soede N.M., Wetzels C.C.H., Zondag W., de Koning M.A.I., Kemp B., 1995. Effects of time of insemination relative to ovulation as determined by ultrasonography on fertilization rate and accessory sperm count in sows. J. Reprod. Fertil., 104, 99-106.

Soede, N.M., Hazeleger, W., Kemp, B., 1998. Follicle size and the process of ovulation in sows as studied with ultrasound. Reprod. Dom. Anim., 33, 239-244.

Soede N.M., Bouwman E.G., Langendijk P., Van Der Laan I., Kanora A., Kemp B., 2007. Follicle development during luteal phase and altrenogest treatment in pigs. Reprod. Dom. Anim., 42, 329-332.

Steponkus P.L., Myers S.P., Lynch D.V., Gardner L., Bronshteyn V., Leibo S.P., Rall W.F., Pitt R.E., Lin T.T., Macintyre R.J., 1990. Cryopreservation of *Drosophila melanogaster* embryos. Nature, 345, 170-172.

Stevenson J.S., Davis D.L., Pollmann D.S., 1985. Altrenogest and fat for summer breeding of primiparous sows. J. Anim. Sci., 61, 480-486.

Stokhof S.J.H., Soede N.M., Kemp B., 1996. Vaginal mucus conductivity as measured by the Walsmeta MKIV does not accurately predict the moment of ovulation or the optimum time for insemination in sows. Anim. Reprod. Sci., 46, 305-310.

Stringfellow D.A., Seidel G.E., 1998. Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS): A procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary precautions. Third Edition, I.E.T.S. (Ed), Savoie, Illinois, USA, 167p.

Tardif S., Laforest J.P., Cormier N., Bailey J.L., 1999. The importance of porcine sperm parameters on fertility *in vivo*. Theriogenology, 52, 447-459.

Terqui M., Bazer F.W., Martinat-Botté F., 1992. Hyperprolificité de la truie Meishan : le point sur les mécanismes en jeu au début de la gestation. Journ. Rech. Porcine Fr., 24, 351-356.

Terqui M., Guillouet P., Maurel M.C., Martinat-Botté F., 2000. Relationship between

peri-oestrus progesterone levels and time of ovulation by echography in pigs and influence of the interval between ovulation and artificial insemination (AI) on litter size. *Reprod. Nutr. Dev.*, 40, 393-404.

Thilmant P., 1997. Congélation du sperme de verrat en paillettes fines de 0,5ml, résultats sur le terrain. *Ann. Méd. Vét.*, 141, 457-462.

Thilmant P., 2001. Congélation du sperme de verrat en paillettes fines de 0,25ml. Résultats observés sur le terrain. *Journ. Rech. Porcine Fr.*, 33, 151-156.

Tilton J.E., Weigl R., 2000. Regumate treatments to overcome second litter production depression. 16th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congress, Melbourne, Australia, 2, 387.

Vajta G., Holm P., Greve T., Callesen H., 1997. Vitrification of porcine embryos using the Open Pulled Straw (OPS) method. *Acta Vet. Scand.*, 38, 349-352.

Vazquez J.M., Martinez E.A., Parrilla I., Roca J., Gil M.A., Vazquez J.L., 2003. Birth of piglets

after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. *Theriogenology*, 59, 1605-1614.

Vyt P., Maes D., Dejonckheere E., Castryck F., Van Soom A., 2004. Comparative study on five different commercial extenders for boar semen. *Reprod. Dom. Anim.*, 39, 8-12.

Wabersky D., Meding S., Drisken G., Weitze K.F., Leiding C., Hahn R., 1994. Fertility of long term-stored boar semen-Influence of extender (Androhep and Kiev), storage time and plasma droplets in the semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 36, 2, 145-151.

Wallenhorst S., Holtz W., 1999. Transfer of pig embryos to different uterine sites. *J. Anim. Sci.*, 77, 2327-2329.

Watson P.F., Behan J.R., 2002. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. *Theriogenology*, 57, 1683-1693.

Weitze K.F., Rath D., Willmen T., Habeck O., Waberski D., Lotz J., 1990. Advancement of

ovulation in the sow related to seminal plasma application before insemination. *Reprod. Dom. Anim.*, 25, 61-67.

Weitze K.F., Wagner-Reitschel H., Waberski D., Richter L., Krieter J., 1994. The onset of heat after weaning, heat duration and ovulation as major factors in AI timing in sow. *Reprod. Dom. Anim.*, 29, 433-443.

Wolken A., Rath D., Bortolozzo F., Wentz I., Marquetti A., 2002. Sows can successfully be inseminated non-surgically into the distal uterine horn with a highly reduced number of sperm cells. *Theriogenology*, 57, 392.

Wrathall AE, Suttmöller P., 1998. Potential of embryo transfer to control transmission of disease, In: *Manual of the International Embryo Transfer Society (IETS)*, .Savoie, Illinois, USA, 14-44.

Youngs C.R., 2001. Factors influencing the success of embryo transfer in the pig. *Theriogenology*, 56, 1311-1320.

Résumé

Les techniques d'assistance à la reproduction et les biotechnologies qui en sont dérivées sont en plein développement dans l'espèce porcine. L'objectif de cet article de synthèse est de décrire les techniques qui sont d'usage courant en reproduction porcine (insémination de semence conservée à l'état liquide, synchronisation des oestrus, échographie...), celles dont l'avancement permet d'envisager des applications dans un avenir proche (insémination de semence conservée congelée, production et cryoconservation des embryons, transfert chirurgical d'embryons) et celles qui sont en cours de développement et permettront d'ouvrir dans un avenir plus lointain de nouvelles perspectives pour l'élevage porcin (sexage de la semence, transfert non chirurgical d'embryons). L'ensemble de ces techniques, y compris celles qui sont d'ores et déjà d'utilisation courante, connaissent des progrès rapides en termes d'amélioration des résultats et nous essaierons de décrire les principales pistes poursuivies dans ce sens.

Abstract

Biotechnologies of porcine reproduction: from routine techniques to emerging methods

Assisted reproduction techniques are currently under strong development in the pig. The scope of this review paper is the description of reproduction-linked biotechnologies, which are currently in wide use in pig breeding (A.I. with liquid, oestrous induction, ultrasonography ...), those which are close to being applied in the near future (A.I. with frozen semen, embryo production and cryopreservation, surgical embryo transfer) as well as recent techniques which still require improvement before leading to new developments for the pig industry (sex-sorting sperm, non-surgical transfer of embryos). All these techniques, including those that are already widely used in pig husbandry, are currently encountering fast improvements in terms of success rates. This paper will describe the research axes explored to reach these improvements.

MARTINAT-BOTTÉ F., PLAT M., GUILLOUET P., 2009. Biotechnologies de la reproduction porcine : des techniques de routine aux méthodes en émergence. *Inra Prod. Anim.*, 22, 97-116.

