

cipale des équipes travaillant dans le domaine de la transplantation embryonnaire équine, d'autres orientations existent : plus pratiques, telles que la qualité des milieux de collecte, les critères de choix des receveuses (Camillo *et al* 1997), ou plus fondamentales comme la différenciation des cellules embryonnaires, les mécanismes de descente embryonnaire, la reconnaissance materno-foetale ou encore l'expression génétique.

Depuis 1986, plus de 500 poulains sont nés en France grâce à la transplantation embryonnaire. Le développement de cette technique reste limité en raison de son coût élevé et des lourdes contraintes techniques. La mise au point d'une technique fiable de congélation des embryons associée à un traitement efficace de super-ovulation sont les objectifs principaux des thèmes de recherches. Le test d'appréciation de la qualité des embryons, un outil efficace, doit permettre d'accélérer l'obtention de progrès significatifs. Enfin il faudra savoir réserver cette technique à la production de qualité en évitant la course à l'augmentation de la quantité ; la transplantation embryonnaire restera alors ce qu'elle est dans les autres espèces animales : un outil de production pour reproducteurs "haut de gamme".

Pour en savoir plus

Betteridge K.J., Eaglesome M.D., Mitchell D., Flood P.F., Beriault T.R., 1982. Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation : observations on fresh specimens. *J. Anat.*, 135, 191-209.

Bruyas J.F., Lagneaux D., 1992. Transplantation embryonnaire équine. *Rec. Méd. Vet.*, 168, 11-12, 937-946.

Camillo F., Cela M., Vannozi I., Romagnoli S., Aria G., 1997. Use of early pregnant mares as embryo recipients. *Equine Vet. J., Suppl.* 25, 77-79.

Colchen S., Battut I., Fieni F., Tainturier D., Bruyas J.F., 1998. Quantitative analysis and histological morphology of equine embryos at exactly 156 and 168 hours after ovulation. 7th I.S.E.R. Pretoria (abstract 141-142).

Hinrichs K., Sertich P.L., Palmer E., Kenney R.M., 1987. Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progesterone. *J. Reprod. Fert.*, 80, 395-401.

Huhtinen M., Bredbacka P., Kotilainen T., 1995. Non surgical transfer of 4',6'-Diamidino-2-Phenylindole-stained Equine demi-embryos treated with cytocholasin B and Nocodazole. *Biol. Reprod. Mono* 1, 325-328. Huhtinen M., Lagneaux D., Koskinen E., Palmer E., 1997. The effect of sucrose in the thawing solution on the morphology and mobility of frozen equine embryos. *Equine Vet. J., Suppl.* 25, 94-97.

Lagneaux D., 1999. Transfert d'embryons - aspects techniques. 25e Journée d'étude de la Recherche Equine - 61-67, DEFI -Paris.

Lagneaux D., Palmer E., 1989. Are pony and larger mares similar as recipients for non-surgical transfer of Day 7 embryos ? *Equine Vet. J., Suppl.* 8, 64-67.

Lagneaux D., Palmer E., 1993. Embryo transfer in anoestrus recipient mares : attempts to reduce altrenogest administration period by treatment with pituitary extract. *Equine Vet. J., Suppl.* 15, 107-110.

Lagneaux D., Huhtinen M., Koskinen E., Palmer E., 1997. Effect of anti-freeze protein (AFP) on the cooling and freezing of equine embryos as measured by DAPI-staining. *Equine Vet. J., Suppl.* 25, 85-87.

Oguri N., Tsutsumi Y., 1972. Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. *J. Reprod. Fert.*, 31, 187-195.

Squires E.L., Garcia R.H., 1985. Factors affecting success of equine embryo transfer. *Equine Vet. J., Suppl.* 3, 92.

Squires E.L., Mc Cue P.M., Vanderwall D., 1999. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, 51, 91-104.

Wilson J.M., Caceci T., Kraemer D.C., Potter G.D., Neck K.F., 1986. Hatching of the equine embryo : an electron microscopy study. *Biol. Reprod.*, 34, Suppl. 1, 101.

Yamamoto Y., Oguri N., Tsutsumi Y., Hachinohe Y., 1982. Experiments in the freezing and storage of equine embryos. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 399-403.

Endocrinologie de l'étalon

Dans beaucoup d'espèces de mammifères, dont le cheval, le déroulement de la spermatogénèse dépend du bon fonctionnement de l'axe hypothalamus-hypophyse-testicule. Celui-ci repose sur des mécanismes de stimulation de l'hypothalamus qui, par le GnRH qu'il sécrète, agit sur l'hypophyse. Les hormones hypophysaires (LH, FSH) vont à leur tour induire la sécrétion des hormones stéroïdes (testostérone et oestrogènes) par les testicules. Toutes ces stimulations sont

modulées par des mécanismes de feed-back dus aux sécrétions du testicule, mais aussi très certainement par des interactions locales entre cellules dans le testicule, principalement les cellules de Leydig et les cellules de Sertoli.

Le contrôle hormonal

Chez l'étalon au repos sexuel, la fréquence approximative est, selon les auteurs, d'un

M. VIDAMENT

INRA-Haras
Nationaux, PRMD,
Equipe Reproduction
Equine, 37380 Nouzilly

e-mail :
marianne.vidament@
tours.inra.fr

pulse par heure pour GnRH, FSH, LH ou de 3 à 8 pics par jour pour LH et testostérone. La variabilité des concentrations de testostérone et d'oestrogènes due à la pulsativité est peu importante par rapport à celle existant entre étalons. Pour apprécier le niveau basal de testostérone, il est préférable de doser deux prises de sang à 1 h d'intervalle dans un laboratoire disposant de références sur des étalons normaux. Le niveau moyen de testostérone est de 0,5 à 1 ng/ml. Celui des oestrogènes totaux est de 50 à 200 ng/ml, bien supérieur à celui d'une jument en chaleur. Pour FSH et LH, les dosages ne sont pratiqués que par quelques laboratoires dans le monde.

La LH stimule la production de la testostérone et des oestrogènes par les cellules de Leydig. Par rapport aux autres mammifères, l'étalon sécrète d'énormes quantités d'oestrogènes (par aromatisation de la testostérone dans les cellules de Leydig). Il s'agit essentiellement de sulfate d'oestrone. Ce stéroïde pourrait être impliqué de manière locale dans la production et la maturation des spermatozoïdes. Chez l'étalon, la testostérone inhibe LH et stimule FSH, alors que c'est l'inverse pour les oestrogènes. FSH se lie très probablement aux cellules de Sertoli et entraîne la sécrétion de l'inhibine, de l'activine, de l'ABP (Androgen Binding Protein) et d'autres facteurs nécessaires à la spermatogénèse. Inhibine et activine vont respectivement inhiber ou activer la sécrétion de FSH. Les taux de FSH, LH et testostérone seraient reliés à la quantité de spermatozoïdes produits par gramme de testicule.

Des stimulations sexuelles d'intensité croissante (masturbation, présentation à une jument en oestrus, éjaculation) provoquent des pics de sécrétion croissants d'ocytocine plasmatique chez l'étalon, en relation avec la sécrétion de la LH, suggérant un certain rôle de l'ocytocine dans la régulation des gonadotrophines.

Facteurs de variation des taux hormonaux

Chez l'étalon, les taux hormonaux de LH, de FSH, de testostérone et d'oestrogènes sont plus élevés durant le printemps et l'été, même si l'étalon est capable de se reproduire toute l'année. La FSH augmente d'abord, puis la LH et enfin la testostérone. Un traitement photopériodique avance cette augmentation dans la saison. Pour les étalons pur sang cumulant deux montes par an (une dans chaque hémisphère), on ne connaît pas à terme l'effet du changement d'hémisphère sur le rythme annuel de ces hormones, même si la fertilité semble intacte.

L'âge joue également un rôle sur les taux de FSH et de LH et, dans une moindre mesure, de testostérone et d'oestrogènes. Les taux sont très bas avant 2 ans, augmentent fortement jusqu'à 4-5 ans et plus progressivement jusqu'à 13-20 ans.

Le niveau de testostérone ainsi que le comportement sexué et agressif augmentent lors d'activité sexuelle plus intense, de contacts

sociaux avec les juments ou de changement dans la hiérarchie des mâles d'un troupeau en liberté (passage du statut de célibataire à celui d'étalon de harem). Le taux de testostérone des étalons maintenus en boxes sans contact avec les juments est faible du fait du peu de stimuli sociosexuels.

Une injection unique de GnRH provoque une élévation rapide et limitée dans le temps des taux de FSH (150 %), de LH (>150 %) (15 minutes à 4 h) et de testostérone (>200 %) (1h 30 à 5 h). Cette élévation est plus forte en dehors de la saison sexuelle que pendant celle-ci.

Une injection unique d'hCG (2500 UI IV), qui a un effet de type LH, entraîne une augmentation de testostérone 1 h après, mais surtout une 2ème augmentation 30 h après, très nette pour la testostérone (800 %) et moindre pour les oestrogènes (125 %).

Les étalons subfertiles

Bien que les causes de la subfertilité et de l'infertilité soient diverses, il semblerait pourtant qu'un consensus scientifique se dégage pour décrire un profil hormonal courant chez ce type d'étalons.

La majorité des étalons subfertiles ou infertiles présente des taux basaux de LH et de FSH plus élevés, des taux d'oestrogènes et d'inhibine plus faibles et un niveau basal de testostérone en général normal.

Après une stimulation par GnRH, les étalons infertiles montrent une augmentation de LH, qui n'est pas influencée par la saison. Ils ne présentent pas d'élévation de la testostérone. Après une stimulation par hCG, la réponse de la testostérone chez les étalons subfertiles, mais surtout chez les infertiles est souvent faible, montrant ainsi une inaptitude du testicule à répondre à la stimulation.

Ce profil hormonal (de base et après stimulation) est plus courant après 15 ans, âge à partir duquel la fertilité des étalons baisse. Il s'agit certainement d'une atteinte primaire du testicule (dégénérescence) puisque la réactivité de l'axe hypothalamo-hypophysaire semble intacte. Les hypothèses sont les suivantes : la cellule de Sertoli produirait moins d'inhibine en même temps que la production de spermatozoïdes commencerait à diminuer, la FSH serait alors plus élevée, les cellules de Leydig commenceraient à dysfonctionner, produisant moins de testostérone, ce qui entraînerait une élévation de LH.

Les étalons cryptorchides

Le devenir d'un testicule qui ne descend pas dans le scrotum et qui reste en position abdominale ou inguinale est variable. Il peut régresser totalement ou produire de la testostérone et des oestrogènes, mais toujours moins qu'un testicule normal. La testostérone basale des étalons cryptorchides permet dans 90 % des cas de mettre en évidence du tissu testiculaire sur les animaux de plus de 2 ou 3 ans. Les hongres présentent des concentrations inférieures à 0,04 ou 0,024 ng/ml suivant les auteurs, alors que les cryptorchides pré-

sentent des taux supérieurs à 0,1 ng/ml. Le niveau basal de sulfate d'oestrone est inférieur à 0,12 ng/ml chez le hongre, alors que celui des étalons cryptorchides est supérieur à 0,4 ou à 1 ng/ml chez des animaux de plus de 3 ans, sauf chez les baudets. La réponse au test hCG 24 h après l'injection est moindre chez les étalons cryptorchides comparés aux étalons normaux. Cette réponse est tout de même nette pour la testostérone, mais inconstante pour les oestrogènes.

Par conséquent, les niveaux basaux de testostérone et d'oestrogènes semblent complémentaires pour comprendre si un étalon est cryptorchide ou non. Le test hCG permet d'aider à la distinction.

Conclusion

La meilleure connaissance des mécanismes hormonaux permet ou permettra de mieux gérer les étalons fertiles, de mieux caractériser les causes de subfertilité et de plus facilement mettre en évidence les étalons cryptorchides.

Pour en savoir plus :

Amann R.P., 1993. Physiology and endocrinology. In : McKinnon A.O. and Voss J.L. (eds), Equine Reproduction, 658-685. Philadelphia, Lea & Febiger.

Chaffaux S., 1992. Le testicule de l'étalon, glande endocrine. Rec. Med. Vet., 168, 907-915.

Clément F., 1995. Etude d'une population d'étalons infertiles : apport au diagnostic et à l'étiologie de l'infertilité. Thèse de doctorat en sciences agronomiques, ENSA. M, Montpellier, 155 p.

McDonnell S.M., Murray S.C., 1995. Bachelor and harem stallion behavior and endocrinology. Biol. Reprod. Mono1, 577-590.

Palmer E., Silva R., Guillaume D., Magistrini M., Vidament M., 1999. Prediction of decreased fertility in old stallions by hormonal analysis. J. Reprod. Fert., Suppl. (in press).

Rodgerson D.H., Hanson R.R., 1997. Cryptorchidism in horses 1- anatomy, causes and diagnosis. Comp. Cont. Educ. Pract. Veter., 19, 1280-1289.

Roser J.F., 1997. Endocrine basis for testicular function in the stallion. Theriogenology, 48, 883-892.

L'insémination artificielle chez les équins

L'insémination artificielle (IA) chez les équins s'est développée en France il y a environ 20 ans, grâce à une collaboration entre l'INRA et les Haras Nationaux qui ont ainsi pu proposer aux éleveurs des techniques utilisables sur le terrain. Celles-ci ont évolué en fonction des résultats de la recherche et sont actuellement de deux types : IA de semence fraîche (immédiate ou différée) ou de semence congelée. Cependant toutes les méthodes ne sont pas applicables à l'ensemble des reproducteurs car la qualité de la semence de certains étalons les exclut de certains types d'IA.

La sélection des étalons

Parmi les étalons jugés aptes à la reproduction, 95 % peuvent être exploités en IA de semence fraîche immédiate et 75 % en IA de semence fraîche différée (dans la journée) et, parmi ceux-ci, 80 % ont une semence dite " congelable " (source Haras Nationaux). Cette sélection est faite après examen des caractéristiques séminales quantitatives et qualitatives de l'étalon candidat au cours du spermogramme qui consiste en l'examen de 5 éjaculats collectés à 24 h d'intervalle. Des seuils ont été définis pour chaque caractéris-

tique analysée et diffèrent en fonction du type d'IA. Ainsi, les conditions d'utilisation d'un étalon en IA de semence fraîche immédiate sont identiques à celles de l'acceptation d'un étalon à la mise à la reproduction. Pour les IA différées, les conditions sont plus strictes. Les paramètres qui seront déterminants pour la sélection de l'étalon sont : la concentration en spermatozoïdes des éjaculats et la mobilité des spermatozoïdes après des survies de 24 et 48h à +4 °C (Clément et Vidament 1998). Les conditions d'acceptation d'un étalon à l'IA de semence congelée sont encore plus strictes : il doit satisfaire aux conditions de l'IA de semence différée et, de plus, sa semence subit un test de congélation. Il ne sera retenu que si, sur au moins 6 éjaculats congelés, plus de 3 sont sélectionnés après contrôle. Le contrôle consiste en l'examen de 3 paillettes par éjaculat dont le pourcentage de spermatozoïdes mobiles doit être supérieure à 35 %. Actuellement, avec la technique utilisée dans les laboratoires de congélation des Haras Nationaux, au moins 69 % des éjaculats produits sont conservés (Magistrini et Vidament 1999).

M. MAGISTRINI

INRA-Haras
Nationaux, PRMD,
Equipe Reproduction
Equine, 37380 Nouzilly

e-mail :
michele.magistrini@
tours.inra.fr