

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

## Les techniques actuelles et les résultats de fertilité

Les techniques actuellement utilisées dans les Haras Nationaux français et dans les haras privés en France et à l'étranger ne diffèrent pas fondamentalement les unes des autres (Magistrini et Vidament 1999).

### Insémination artificielle de semence fraîche (immédiate et différée)

Dans les Haras Nationaux, lorsque l'IA est faite immédiatement après la collecte, la semence est utilisée pure (IA dans les 5 minutes qui suivent la collecte) ou après dilution à la température de 37 °C dans du lait demi-écrémé UHT (IA dans les 30 minutes qui suivent la collecte). Cette technique permet d'obtenir, avec des doses d'IA de  $200 \times 10^6$  spermatozoïdes totaux, une fertilité par cycle de 53 % dans les races de sang (n=7756 cycles ; résultats Haras Nationaux, monte 1998). Cette méthode, peu utilisée dans les races de trait, donne des résultats tout aussi satisfaisants (61 % de fertilité par cycle, n=251).

Lorsque l'IA est différée, la semence est systématiquement réfrigérée et conservée à 4 °C dans du lait demi-écrémé UHT supplémenté d'antibiotiques lorsque la durée de conservation est inférieure à 12 h et dans le milieu INRA82 ou le milieu de Kenney quand la conservation dure de 12 à 24 h. La dose d'IA est également de  $200 \times 10^6$  spermatozoïdes totaux. Que l'on pratique l'IA immédiate ou différée (dans la journée), les juments sont suivies à la barre (détection des chaleurs) et inséminées toutes les 48 heures jusqu'à l'ovulation constatée par échographie ou jusqu'au refus, c'est-à-dire jusqu'à la fin des chaleurs détectée par l'étalon. La fertilité est alors de 52 % dans les races de sang et de 50 % dans les races de trait (n=2516 et n=6029 respectivement ; résultats Haras Nationaux, monte 1998) lorsque la conservation n'excède pas 12 heures. L'IA différée de plus de 12 h est utilisée de façon ponctuelle sur le terrain et peu de résultats fiables sont disponibles.

A l'étranger les milieux de dilution de la semence sont à base de lait et le milieu le plus utilisé est celui de Kenney (Kenney *et al* 1975) avec certaines variantes qui portent sur la quantité d'antibiotiques et sur des additifs (jaune d'œuf, sucres, substances tampons, activateurs de la mobilité, etc). La température de conservation la plus utilisée est 4 °C et les juments sont inséminées avec des doses contenant de  $250$  à  $500 \times 10^6$  spermatozoïdes dits progressifs, c'est-à-dire dont la trajectoire est rectiligne. Une telle dose correspond à environ  $700 \times 10^6$  spermatozoïdes totaux. Il n'y a pas de publication de résultats de fertilité sur un nombre important de cycles (Katila 1997).

### Insémination artificielle de semence congelée

La technique de congélation de la semence utilisée actuellement dans les laboratoires

des Haras Nationaux (Vidament *et al* 1998) dérive de celle décrite par Palmer (1984). Les milieux de dilution et de congélation sont composés d'une base commune, l'INRA82, supplémenté respectivement de 2 % de jaune d'œuf ou de 2 % de jaune d'œuf et 2,5 % de glycérol. Cette méthode a permis d'améliorer significativement la mobilité des spermatozoïdes à la décongélation ainsi que la fertilité et d'augmenter le nombre de paillettes produites par éjaculat. La cyclicité des juments est contrôlée par échographie et elles sont inséminées tous les jours jusqu'à ovulation à partir de la détection d'un follicule de 35 mm. La dose d'insémination est de  $400 \times 10^6$  spermatozoïdes totaux et il est recommandé de faire au moins deux inséminations avant l'ovulation pour obtenir une fertilité optimale.

Au cours des saisons de monte 95-97 dans les stations des Haras Nationaux, la fertilité par cycle a ainsi été de 56 % (n=243 cycles) vs 42 % (n=190) pour la technique témoin. Ces résultats se sont confirmés lors de la saison de monte 1998 : la fertilité par chaleur a été de 49 % sur un nombre de cycles exploités beaucoup plus important (n =1018).

A l'étranger, les techniques diffèrent de celle décrite plus haut par le milieu de base et par les proportions de jaune d'œuf (de 2 à 20 %) et de glycérol (de 2,5 à 6 %) utilisées. Certaines discussions portent aussi sur les vitesses de descente de température (de 37 °C à 4 °C) jusqu'au moment de la congélation. Les résultats de fertilité publiés portent sur un nombre réduit de cycles exploités et varient de 20 à 50 % (Magistrini et Vidament 1999).

## Les nouveautés techniques et les orientations

### Insémination artificielle de semence fraîche différée

La température de 4 °C est couramment utilisée lors d'IA de semence fraîche différée. Cependant la réfrigération de la semence de 37 °C à 4 °C met en jeu des remaniements des membranes des spermatozoïdes qui sont regroupés sous le terme de " choc froid " (" cold shock "). Ceci provoque une cascade d'événements qui aboutissent à la perte du pouvoir fécondant et à la mort des cellules. Une des conséquences de ce " choc froid " est l'oxydation des membranes des spermatozoïdes. Il est possible de limiter ces dégradations de deux façons : par la conservation des spermatozoïdes à une température plus élevée ou par l'apport d'agents anti-oxydants dans les milieux de conservation.

Afin de limiter les effets néfastes de la descente de température jusqu'à 4 °C, des études sur la conservation des spermatozoïdes à des températures supérieures ont été réalisées. Certaines études de comparaison (5 °C vs 20 °C) réalisées aux Etats-Unis font état de résultats contradictoires. Par

ailleurs une étude française montre une amélioration significative de la fertilité par cycle (57 % vs 41 %) lors de conservation de la semence à la température de 15 °C dans un milieu chimiquement défini comportant une fraction purifiée du lait vs à la température de 4 °C dans le lait pendant 24 h avant insémination (Batellier *et al* 1997 et 1998).

L'apport d'anti-oxydants (vitamine C, acide xanthurénique) dans les milieux, rapporté dans deux études récentes, autrichienne et américaine, permettent d'améliorer la mobilité des spermatozoïdes *in vitro*; cependant ces études ne font état d'aucun résultat de fertilité.

### Insémination artificielle de semence congelée

Les orientations actuelles portent sur l'apport de différentes molécules dans le milieu de congélation.

L'addition d'un acide aminé, la glutamine, améliore significativement la mobilité post-décongélation des spermatozoïdes *in vitro*; un éventuel effet sur la fertilité est actuellement testé. Cependant le mécanisme d'action de cet acide aminé n'est pas élucidé.

Une autre approche consiste à modifier la composition de la membrane des spermatozoïdes afin de la rendre plus résistante aux effets du froid. L'apport de liposomes composés de cholestérol-phosphatidylsérine dans le milieu donne des résultats contradictoires tant en terme de mobilité que de fertilité. Récemment l'incubation de spermatozoïdes avec une molécule "transporteur" de cholestérol a permis d'améliorer la mobilité des spermatozoïdes à la décongélation, mais l'effet sur la fertilité n'a pas encore été testé.

### Conclusion

Les techniques d'insémination artificielle permettent désormais d'obtenir une fertilité proche de celle obtenue en saillie naturelle (57 %, n=11260 cycles; résultats Haras Nationaux, monte 98) à la condition de sélectionner la méthode la plus adaptée à la qualité de la semence de l'étalon concerné. Cependant un certain nombre d'étalons candidats, dont le potentiel génétique et/ou les performances sportives sont très intéressants pour les éleveurs, n'ont pas accès à ces

méthodes de diffusion. Il est donc indispensable de poursuivre les efforts entrepris afin de mieux maîtriser les éléments indispensables à une survie optimale des spermatozoïdes *in vitro* et au maintien de leur fertilité *in vivo*.

### Pour en savoir plus

Batellier F., Duchamp G., Yvon J.M., Vidament M., Arnaud G., Mouysset C., Vincent P., Palmer E., Magistrini M., 1997. Mise au point d'un dilueur chimiquement défini pour l'insémination artificielle immédiate et différée. 23e Journée de la recherche équine, Institut du Cheval, département DEFI, Paris, 97-105.

Batellier F., Vidament M., Noue P., Clément F., Magistrini M., Palmer E., 1998. Les techniques d'insémination artificielle. *Le Point Vétérinaire*, 29 (189), 53-59.

Clément F., Plongère G., Magistrini M., Palmer E., 1998. Appréciation de la fonction sexuelle de l'étalon. *Le Point Vétérinaire*, 29 (191), 343-348.

Clément F., Vidament M., 1998. Facteurs influençant la fertilité des étalons nationaux. *Le Point Vétérinaire*, 29 (193), 717-723.

Insémination artificielle équine - Guide Pratique - 1996. Edition Institut du Cheval, Paris, 292 p.

Katila T., 1997. Procedures for sperm handling fresh stallion semen. *Theriogenology*, 48, 1217-1227.

Kenney R.M., Bergmann R.V., Cooper W.L., Morse G.W., 1975. Minimal contaminations techniques for breeding mares: techniques and preliminary findings. *Proc. 21st Am. Assoc. Equine Pract.*, 327-336.

Magistrini M., Vidament M., 1992. L'insémination artificielle chez les équidés. *Rec. Méd. Vét.*, 168, spécial Reproduction des Equidés, 959-967.

Magistrini M., Vidament M., 1999. L'insémination artificielle équine: des technologies à géométrie variable. CR 25e Journée de la recherche équine, Institut du Cheval, département DEFI, INA, Paris, 117-128.

Palmer E., 1984. Factors affecting stallion semen survival and fertility. *Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem.*, 377.

Vidament M., Ecot P., Dupéré A.M., Noue P., Bourgeois C., Couty I., Yvon J.M., Magistrini M., Palmer E., 1998. La semence congelée d'étalon: améliorations récentes. 24e Journée de la recherche équine, Institut du Cheval, département DEFI, INA, Paris, 25-38.