

Maîtrise de la reproduction des mammifères d'élevage

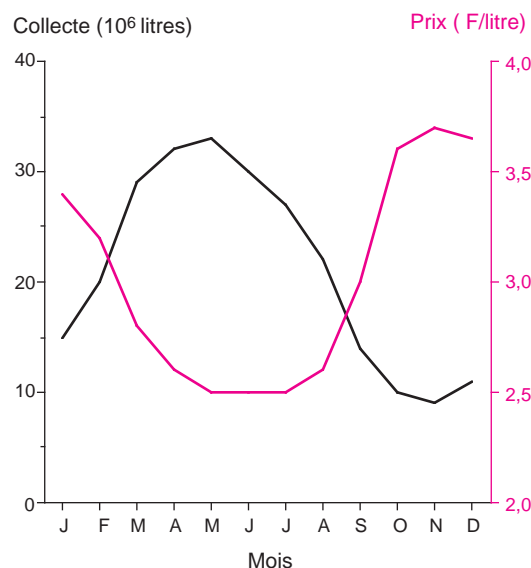
La maîtrise de la reproduction présente plusieurs avantages considérables. Elle permet de choisir la période de mise bas, de diminuer les périodes improductives, d'optimiser la taille de la portée et enfin d'accélérer le progrès génétique. C'est également un outil de base indispensable à la mise au point de nouvelles biotechnologies de l'embryon ou de conservation du patrimoine génétique.

Le choix de la période de mise bas peut être justifié par de multiples raisons. En premier lieu, il peut être nécessaire de réaliser un ajustement aux disponibilités fourragères ou au système d'élevage. Dans les troupeaux ovins transhumants, par exemple, il est nécessaire que les femelles qui partent en montagne au printemps soient gravides afin qu'elles profitent au mieux des pâturages et qu'elles ne risquent pas, pendant cette période, d'être fécondées par un mâle non choisi. En second lieu, l'adaptation au marché ou à la demande peut représenter une contrainte externe importante. Dans l'espèce équine, les chevaux nés le plus tôt dans l'année bénéficient d'un avantage certain lors de

leur vente. Le début de la saison sexuelle des juments ne coïncide cependant pas avec le début de la période administrative de monte (période pendant laquelle les saillies sont enregistrées officiellement). Chez les caprins laitiers, la demande de fromage de chèvres est quasi constante au cours de l'année. Cependant, en raison de l'existence d'une saison sexuelle très stricte, de septembre à février, l'arrivée du lait sur le marché et donc la fabrication des fromages sont très saisonnières (figure 1). Il peut donc être intéressant de désaisonner les mise bas. Enfin, la limitation dans le temps des périodes de mise bas sur quelques semaines, voire quelques jours, limite les durées d'intervention et donc les coûts de la main d'œuvre. Elle permet aussi une meilleure surveillance des animaux, ce qui réduit les mortalités péri-natales. Ainsi, dans un troupeau ovin dont les mise bas ont été synchronisées sur quelques jours, alors que normalement l'agnelage s'étale sur un ou deux mois, la mortalité passe de 17 à 4 %. Cette synchronisation étroite des périodes de naissance facilite aussi la constitution de lots homogènes d'animaux. L'ajustement des régimes alimentaires est plus aisé : femelles en lactation, jeunes en cours de sevrage ou en croissance, peuvent être regroupés. L'impact social pour les familles d'éleveurs pouvant bénéficier d'un repos au cours de la semaine et de l'année est également un facteur important. La maîtrise de la reproduction est, en fait, un moyen pour l'éleveur de trouver le meilleur équilibre entre productivité, adaptation au marché et vie familiale.

La diminution des périodes improductives est le second avantage lié à la maîtrise de la reproduction. Chez plusieurs espèces domestiques, le cycle de reproduction comporte naturellement de longues périodes de silence sexuel (anœstrus), qu'il peut être souhaitable de réduire, en particulier dans les élevages intensifs. Avancer la puberté des femelles et des mâles (voir ci-après) accroît leur productivité totale au cours de leur vie (porcins, bovins à viande, ovins), mais également fait coïncider la période de reproduction des primipares avec celle des adultes (ovins, caprins). Réduire la durée de l'anœstrus saisonnier permet d'obtenir plus d'une gestation

Figure 1. Variations saisonnières de la collecte et du prix du lait de chèvre en France en 1992.



par brebis et par an, ce qui accroît sensiblement (+ 25 %) la productivité par femelle. Diminuer la durée de l'anœstrus post-partum chez les bovins laitiers accroît fortement le revenu par vache : plus de 20 F sont gagnés par jour d'anœstrus post-partum en moins. Cette diminution des périodes improductives n'est pas forcément souhaitée dans les systèmes d'élevage extensifs.

L'optimisation de la taille de la portée dans les espèces polytoques représente le troisième avantage de la maîtrise de la reproduction. Si, en élevage laitier ovin et caprin, la taille de la portée n'a qu'une importance relative (quoiqu'il existe un effet du nombre de fœtus sur la production laitière ultérieure), il en va autrement dans les systèmes producteurs de viande ovine et porcine. La productivité par truie dépend du nombre de porcelets sevrés par portée ($r = + 0,82$). Chez les ovins à viande, l'effet est encore plus marqué du fait de la moindre fécondité de cette espèce. L'optimisation de la taille de la portée doit cependant se faire en tenant compte de la valeur laitière des mères. Dans les races à faible production laitière, augmenter la prolificité ne constitue pas forcément un avantage.

Enfin, c'est au niveau de la gestion collective du patrimoine génétique que la maîtrise de la reproduction se révèle être la plus efficace. L'introduction, même dans une faible proportion, de l'insémination artificielle (IA), par les « connexions » qu'elle permet entre les troupeaux, induit un accroissement considérable du progrès génétique par la « voie mâle ». Son utilisation permet la naissance simultanée de descendants des mêmes mâles dans plusieurs élevages et, par là, accroît la précision de l'estimation de leur valeur génétique. La mise en place d'un testage sur descendance très précoce après la puberté autorise la connaissance de la valeur génétique des mâles dès leur plus jeune âge. Enfin, une fois leur valeur génétique connue, une large diffusion des mâles améliorateurs est possible grâce à l'IA. Un des exemples les plus spectaculaires est celui de l'augmentation de la production laitière des brebis Lacaune du Rayon de Roquefort : la production de lait par brebis est passée de 113 litres par lactation en 1970 à 260 litres en 1995. Dans le même temps le nombre d'IA a progressé de 20 000 en 1971 à 340 000 en 1994. La totalité des éleveurs sélectionneurs utilisent l'IA et 86 % des inséminations sont réalisées dans un but d'amélioration génétique. De même, l'emploi du transfert d'embryons permet maintenant d'améliorer par la « voie femelle » l'efficacité du progrès génétique, mais également de sélectionner des caractères secondaires comme la qualité fromagère du lait ou les caractéristiques bouchères. Enfin, la conservation des gamètes ou des embryons sous forme congelée autorise la comparaison, à un moment donné, des performances d'animaux de générations différentes et donc de mesurer le progrès génétique.

La maîtrise de la reproduction est également un outil pour la mise au point et le

développement de nouvelles techniques de manipulation ou de conservation du patrimoine génétique. La synchronisation des ovulations à l'heure près, permet déjà ou permettra rapidement la collecte d'ovocytes au même stade sur de nombreux animaux, l'obtention à la demande d'œufs juste fécondés, la mise à disposition d'un grand nombre d'embryons ou d'un grand nombre de femelles receveuses en même temps, au même stade du cycle. Ces différentes possibilités favorisent la mise au point et le développement, par exemple, de la fécondation *in vitro*, de la culture, de la congélation et du transfert d'embryons, du sexage des embryons ou du transfert de gènes.

Par ailleurs, la connaissance plus grande des mécanismes de la reproduction des mammifères a eu et aura encore des retombées sur la mise au point de nouvelles méthodes pour mieux pallier les déficiences de la procréation humaine.

De nombreuses techniques ont été proposées pour la maîtrise de la reproduction des mammifères domestiques. Plusieurs d'entre elles, mises au point il y a plus de dix ans, connaissent un grand succès. D'autres sont en cours de développement. Nous avons délibérément choisi, parmi celles-ci, trois exemples qui illustrent la nécessité d'un « continuum » entre recherches de base et recherche finalisée, car des allers-retours permanents entre les deux orientations de recherche sont indispensables à l'efficacité de ces techniques.

1 / Contrôle hormonal des chaleurs

Dès 1950, les chercheurs de l'INRA de Jouy-en-Josas avaient perçu l'importance de la reproduction comme facteur influençant l'efficacité des unités de production et décidé d'accroître nos connaissances concernant la physiologie de la reproduction des mammifères domestiques. Un demi-siècle plus tard, le développement spectaculaire en France et à l'étranger de la synchronisation des chaleurs et de l'IA chez les animaux de ferme, et l'amélioration qualitative du cheptel qui en a résulté, témoignent de la justesse d'analyse de l'époque.

L'objectif était, chez des femelles cycliques ou en anœstrus, d'induire des œstrus et des ovulations groupés chez la totalité des femelles traitées permettant une programmation « en aveugle » des inséminations, sans diminuer la fertilité du troupeau.

La première étape majeure a été la démonstration que la progestérone interagit avec les œstrogènes dans la manifestation des chaleurs. Chez des femelles en anœstrus, un comportement d'œstrus accompagné d'ovulation peut être induit par un traitement progestatif suivi d'une injection de l'hormone gonadotrope PMSG (Pregnant

Tableau 1. Traitements de synchronisation des chaleurs applicables à différentes espèces d'élevage (Thimonier et al 1975, Thimonier 1979, Martinat-Botté et al 1985, Cognié 1988, Corteel et al 1988, De Fontaubert 1988, Morstin et al 1988).

Espèce	Catégorie	Progestatif (dose, durée)	Voie d'administration	Prostaglandines oui ou non (jours avant retrait)	Dose de PMSG	Synchronisation de l'œstrus après retrait du progestatif	Moments de saillie ou d'IA après retrait
Bovins	Vaches laitières	Norgestomet 3 mg total 7 à 11 j	Implant sous-cutané + surcharge à la pose + œstradiol à la pose	Oui (- 2)	400 UI	86 % en 48 h	56 h (IA)
	Génisses et vaches rustiques et viande	idem	idem	Non	500 à 700 UI	idem	56 h (IA)
	Génisses laitières	idem	idem	Non	Non	idem	48 h (IA)
	Toutes catégories	Progesterone 1,5 g total 12-14 j	Spirale vaginale (PRID) + œstradiol à la pose	Non	400 à 700 UI	80 % en 48 h	56 h (IA) 48 et 72 h (IA)
	Femelles cycliques			2 injections à 10 j d'intervalle			selon venues en chaleurs
Ovins		FGA ou MPA * 30 à 40 mg total 12-14 j	Éponge vaginale (ou implant)	Non	400 à 700 UI	99 % avant 48 h	24 à 48 h (saillie) 55 h (IA)
Caprins		FGA 45 mg 10-12 j ou 17 à 21 j	Éponge vaginale	Oui (2) Non	500 à 700 UI	97 % de 12 à 36 h	24 à 48 h (saillie) ou 45 h (1 IA)
Porcins	Jeunes truies	RU 2267 ** 20 mg/jour 14-18 j	Alimentation	Non	Non	94 % entre 5 ^e et 8 ^e jour	selon venues en chaleurs
Equins		RU 2267 **	Alimentation	Oui	HCG		selon venues en chaleurs

Mare Serum Gonadotropin, maintenant appelée eCG pour equine Chorionic Gonadotropin).

L'étape suivante fut, au cours des années 60, l'utilisation de progestagènes de synthèse de haute activité biologique administrés par voie vaginale ou sous-cutanée, plus simples que les injections quotidiennes de progesterone et permettant une plus étroite synchronisation des chaleurs et des ovulations. Au cours de ces années, l'INRA, en collaboration avec des laboratoires privés et les organismes professionnels, a mis en place une expérimentation à grande échelle dans les fermes pour adapter ce traitement de synchronisation des œstrus aux espèces d'élevage (tableau 1), à différentes races, en tenant compte de l'état physiologique des femelles traitées (brevets Chronogest-INRA, Régumate). Ces tests de terrain ont révélé des problèmes majeurs non suspectés au départ.

La première difficulté à surmonter est l'altération du transport des spermatozoïdes dans les voies génitales d'une femelle traitée. Un taux élevé de fécondation n'est obtenu que si l'insémination a lieu 8 ± 4 heures avant l'ovulation. La « fenêtre » optimale d'insémination, qui permet l'obtention d'une bonne fertilité, est plus étroite que dans le cas d'une femelle en œstrus naturel.

La deuxième difficulté est liée à la nécessité de respecter des limites d'utilisation de ce traitement : un développement corporel suffisant chez la femelle prépubère (2/3 du poids adulte) ou un intervalle mise bas-mise à la reproduction plus long chez la mère allaitant sa portée que chez la mère tarie précocement. Chez la brebis en lactation, la survie embryonnaire et le taux d'agnelage ne sont pas significativement diminués quand l'intervalle entre la mise bas et la mise à la reproduction suivante est supérieur à 2 mois.

Enfin, la dernière difficulté réside dans les effets favorables à court terme, mais parfois défavorables à long terme, liés à l'utilisation de PMSG, chez les caprins et les ovins. Cette hormone est utilisée principalement pour induire l'ovulation chez la femelle en œstrus, mais peut être utilisée chez la femelle cyclique pour améliorer la synchronisation des chaleurs associée à l'IA « en aveugle » et augmenter la prolificité. Par exemple, chez la brebis naturellement peu prolifique, la fécondité est plus élevée après injection de 500 à 750 U.I. de PMSG (2 à 3 ovulations) qu'après injection de 0 à 250 UI (1 à 2 ovulations) ou 1 000 UI (> 4 ovulations). Un taux de mortalité embryonnaire élevé est observé dans ce dernier cas de figure. Chez les bovins, la dose de PMSG à administrer varie avec l'âge (génisses ou vaches adultes), avec la race et

Tableau 2. Efficacité comparée de la synchronisation avec PMSG ou avec « effet mâle » (EM) chez les ovins.

	n	Fertilité (% de mise bas)	Prolificité (agneaux/brebis agnelant)	Fécondité (agneaux/brebis mise en lutte)
Mérinos d'Arles				
EM	50	76	1,16	0,88
FGA + EM	48	90	1,30	1,17
FGA + 500 UI PMSG	80	94	1,63	1,53
Rasa Aragonesa				
EM	848	61	1,28	0,78
FGA + EM	740	69	1,33	0,92
FGA + 500 UI PMSG	378	75	1,56	1,17

avec le type de race (lait ou viande). La dose optimum de PMSG à administrer a donc dû être établie en fonction du taux d'ovulation propre à chaque espèce et à chaque race et de l'état physiologique des femelles traitées, puisque l'utilisation de doses trop importantes aboutit finalement à une baisse de fertilité. Par ailleurs, chez la chèvre et à un degré moindre chez la brebis, l'administration répétée de PMSG peut induire la formation d'anticorps dirigés contre cette hormone chez certaines femelles, les rendant non réceptives à ce traitement. Chez la brebis, l'utilisation de l'effet mâle (induction d'ovulations par la ré-introduction des mâles après une période de séparation) en fin de traitement progestagène à la place de PMSG est possible en lutte naturelle (tableau 2) mais n'est pas recommandée pour une fécondation systématique par insémination artificielle, étant donnée la moins bonne synchronisation des ovulations.

En permettant également le regroupement des mise bas, et donc une gestion du troupeau plus efficace sans modifier la fertilité des femelles, la synchronisation des chaleurs s'est développée dans les élevages.

Chez les ovins, environ 2/3 des brebis adultes mises en lutte en France, entre avril et juillet, période d'anœstrus, sont synchronisées par traitement hormonal. Pour différentes races (Blanche du Massif Central, Lacaune, Vendéenne, Rouge de l'Ouest), ce traitement permet d'augmenter le rythme d'agnelage et le niveau de prolificité lorsque celui-ci est faible. Chez la brebis laitière (Roquefort, Pyrénées-Atlantiques), la synchronisation des chaleurs a permis le développement de l'IA et l'amélioration génétique des troupeaux. Une augmentation régulière du nombre de traitements est également observée chez la chèvre laitière pour avancer la production fromagère vers une époque de marché plus favorable.

Chez les bovins laitiers, le traitement de synchronisation permet une meilleure détection des chaleurs, une plus grande concentra-

tion des mise bas (aménagement des temps de loisirs) sans modifier la production laitière et le taux de réforme. La synchronisation des chaleurs chez la vache laitière se développe pour cette raison. Chez les bovins allaitants, chaleurs et ovulation sont induites plus précocement à la fin de l'hiver avec un taux de gestation satisfaisant. Mais, compte tenu de la variabilité importante de la fertilité obtenue (sans doute due à de mauvaises conditions nutritionnelles des troupeaux), cette technique ne connaît pas actuellement un développement suffisant.

Chez les porcins, plus de la moitié des truies nullipares du cheptel français sont traitées pour mieux synchroniser la première conception et augmenter ainsi d'un porcelet par portée, en moyenne, la prolificité des truies.

L'introduction, dans la conduite des élevages, d'une technique associée à l'IA permettant de maîtriser la période d'accouplement et la fécondité des femelles, a eu de profondes répercussions, d'une part sur la production quantitative et qualitative des élevages et, d'autre part, sur l'aménagement du temps de travail qui est de plus en plus pris en compte par les éleveurs.

Malgré les progrès réalisés durant ces 40 années, les techniques permettant de synchroniser les chaleurs peuvent encore être améliorées. Ainsi, l'utilisation récente de l'échographie d'ultrasons pour visualiser les ovaires a permis d'affiner les connaissances acquises, grâce aux méthodes endocrinologiques et histologiques plus anciennes, sur la cinétique du développement folliculaire et sa régulation. Ce progrès, en particulier dans l'espèce bovine, devrait permettre de mieux analyser les limites des traitements utilisés actuellement et fournir des informations utiles pour améliorer la maîtrise de la reproduction.

La mesure de la résistivité du mucus vaginal au cours de l'œstrus, à l'aide d'une sonde conçue en collaboration avec un organisme professionnel (Cobiporc) conduit à une appréciation plus fiable du moment de début de chaleurs chez la truie. Cette méthode permettra peut-être le passage de deux à une seule IA dans cette espèce.

Dans le but d'améliorer encore les résultats de fertilité à l'IA., des expérimentations sont réalisées afin de déterminer l'intervalle de temps optimum entre la décharge ovulante de LH et l'IA. Un dosage par méthode ELISA de la LH (Brevet INRA-CNRS) a été mis au point et commercialisé sous le nom de Reprokit. Cette méthode permet la détection « sur le terrain » du signal préovulatoire et peut être utilisée chez de nombreuses espèces animales.

La forte variabilité observée après synchronisation des chaleurs et IA chez les bovins allaitants, fait l'objet d'investigations sur les interactions entre niveau des réserves corporelles, intensité de leur mobilisation et reprise de l'activité sexuelle, afin de com-

prendre par quels mécanismes les animaux sont capables de percevoir les changements de leur état nutritionnel.

La diminution de la survie des spermatozoïdes due à des niveaux sanguins anormaux des stéroïdes induits par PMSG et, à plus long terme, l'apparition d'anticorps dirigés contre l'hormone injectée, conduisent à rechercher une alternative fiable à l'utilisation de cette hormone.

Chez les petits ruminants, la taille de portée est encore trop variable après le traitement hormonal, avec un pourcentage non négligeable de portées triples. Comment optimiser cette taille de portée à 2 jeunes nés par mère traitée et augmenter le taux d'ovulation en évitant d'aggraver les pertes embryonnaires ? Les recherches en cours permettront sans doute de faire ce nouveau pas en avant.

2 / Contrôle photopériodique de l'activité sexuelle des mâles dans les centres d'IA ovins et caprins

L'existence de variations saisonnières de l'activité sexuelle des brebis et des chèvres est connue depuis plusieurs dizaines d'années. Elle existe probablement depuis des millénaires (Ortavant *et al* 1988). Celle des béliers et des boucs n'a été découverte que plus récemment lorsqu'il s'est agi de leur faire produire en pleine contre-saison de la semence en grande quantité et d'une fécondité maximale. Les professionnels des centres d'insémination artificielle, utilisant la semence fraîche, ont donc été demandeurs de traitements qui pouvaient permettre le déplacement de la saison d'activité sexuelle maximale, voire l'abolition des variations saisonnières. La présence, au sein de la Station INRA de Physiologie de la Reproduction, d'une équipe travaillant depuis de nombreuses années sur le contrôle de l'activité sexuelle des petits ruminants par la photopériode, a permis d'expérimenter, puis de proposer aux professionnels de la filière, une palette de traitements « photopériodiques ». Ceux-ci leur permettent précisément d'atténuer ou d'abolir les effets néfastes des variations saisonnières d'activité sexuelle des béliers et des boucs (Chemineau *et al* 1988).

Le premier de ces traitements consiste, en bâtiment fermé où l'éclairage est complètement contrôlé, en un décalage de phase de 6 mois des variations photopériodiques par rapport à l'éclairage naturel.

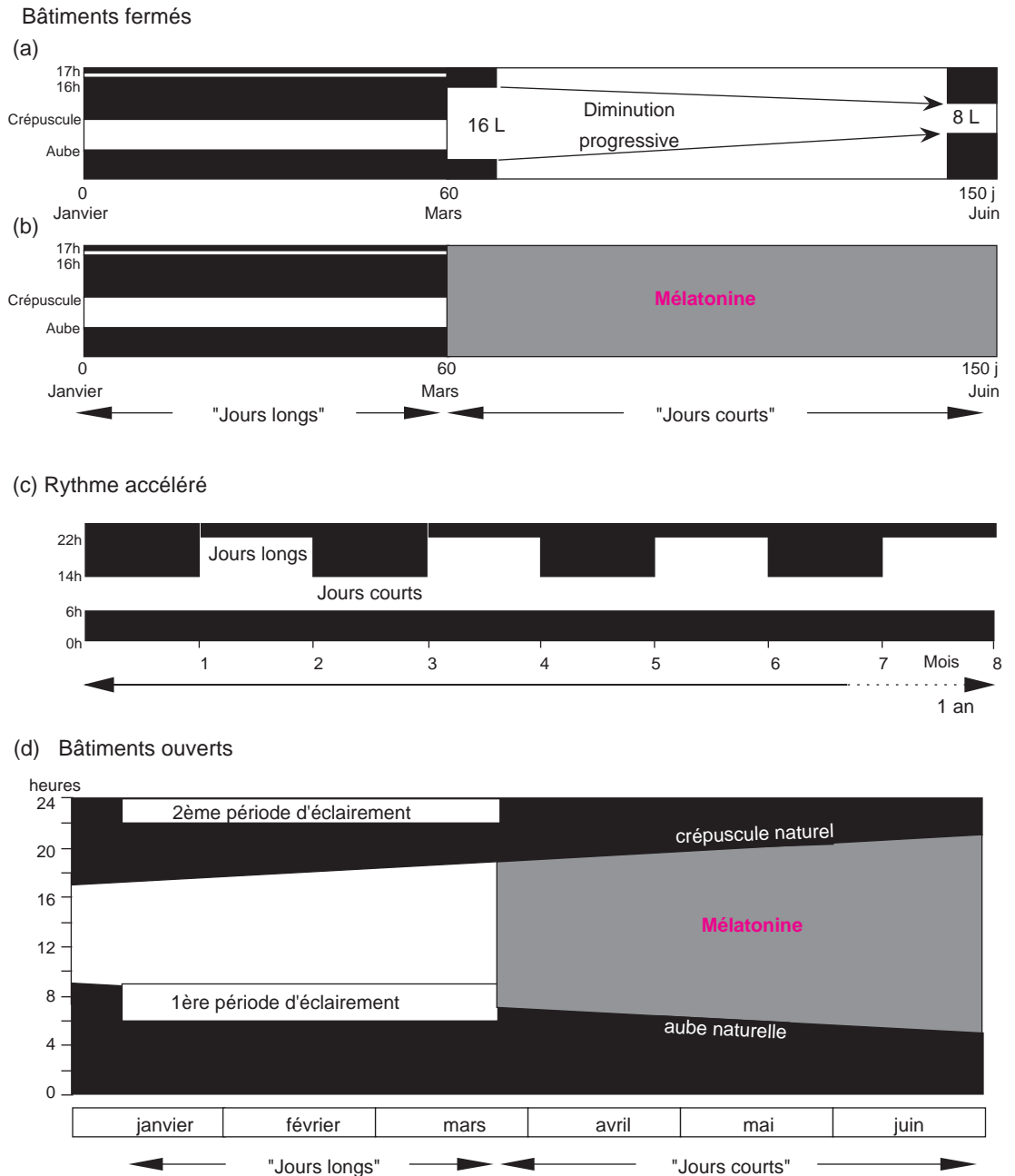
Ce régime lumineux appliqué aux béliers permet la production d'une quantité et d'une qualité élevées de semence au printemps/été, c'est-à-dire à la période de plus forte demande de semence pour l'IA. Il est utilisé depuis plus de 15 ans maintenant par un des plus grands centres d'IA français (Insem Ovins). Le second type de traitement utili-

sable pour contrôler la production de semence à contre-saison a été développé spécifiquement pour les besoins de la filière « ovins lait » du rayon de Roquefort. Les deux centres d'IA de cette région (Ovitest et Confédération des Producteurs de lait de brebis et de fromage de Roquefort) souhaitaient, en effet, disposer d'un plus grand nombre de jeunes béliers à mettre en testage sur descendance lors de leur 1^{re} année de vie. Pour coïncider avec le système de production existant, il fallait que les jeunes mâles nés en novembre-décembre, soient capables de produire suffisamment de doses d'IA dès juillet-août pour engendrer une vingtaine de filles chacun, nombre nécessaire pour une indexation génétique précoce. Il fallait donc non seulement décaler la saison de pleine activité sexuelle, mais encore avancer la puberté. L'utilisation de la succession d'une période d'éclairage simulant des jours longs puis d'une période de jours décroissants (figure 2), directement issue des recherches du laboratoire, a permis assez vite de proposer un schéma efficace puis d'améliorer ses conditions de mise en place. Ce schéma est actuellement utilisé pour traiter la totalité des jeunes béliers des schémas de sélection des deux centres d'IA, soit plus de 550 béliers par an. Il permet d'améliorer très sensiblement le nombre de doses produites par mâle. Depuis la mise en œuvre de ces traitements, 80 à 90 % des béliers sont mis en testage sur descendance dès leur première année, contre environ 30 % auparavant.

La poursuite des recherches de base au laboratoire sur l'importance de la mélatonine, hormone de la glande pinéale qui intervient dans la perception des changements photopériodiques, de façon concomitante à l'association, au niveau mondial, entre les chercheurs et les industriels capables de développer de nouveaux modes de distribution de cette molécule, ont permis de franchir une étape supplémentaire.

Dès 1988, la démonstration était faite qu'il était possible de remplacer la seconde partie du traitement photopériodique (les jours décroissants) par un traitement pharmacologique (la mélatonine) ; celui-ci induit une perception de jours courts quand les animaux sont en réalité soumis aux jours longs du printemps et de l'été. Cette étape, fort importante, a permis de s'affranchir de la contrainte du bâtiment fermé, coûteux en investissement et en fonctionnement (frais de ventilation et éventuellement de climatisation). Il suffit donc désormais de maintenir les animaux en bâtiments ouverts toute l'année, en leur laissant percevoir les variations photopériodiques naturelles, puis de leur fournir un éclairage supplémentaire pendant au moins 2 mois en hiver, suivis de l'insertion d'un implant de mélatonine (figure 2). Ce traitement permet d'augmenter fortement le nombre de doses de semence produites par bélier et d'accroître la fertilité de ces doses. Il est actuellement en phase de développement dans plusieurs centres d'IA français où son

Figure 2. Traitements photopériodiques des mâles des centres d'IA ovins et caprins. Les traitements a, b et c sont applicables en bâtiment complètement fermé (= où il est possible de faire l'obscurité complète), le traitement d est applicable en bâtiment ouvert. Les parties noires correspondent à la période obscure du nyctémère ; les parties grisées correspondent à l'application d'un traitement avec de la mélatonine alors que les animaux sont éclairés.

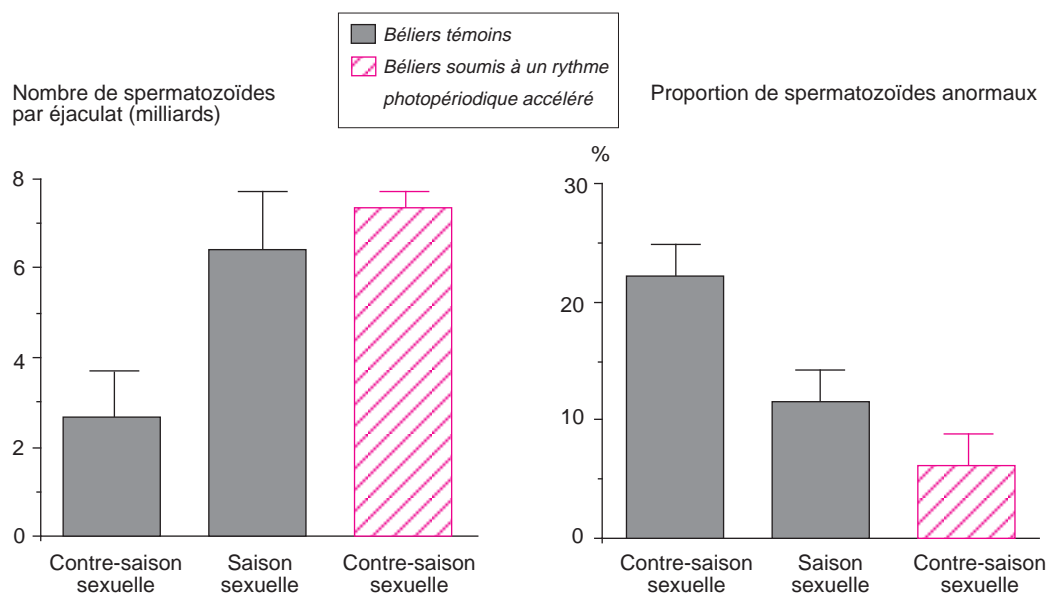


adaptation aux génotypes exploités est en cours (SICA-CREOM Pyrénées-Atlantiques, Ovitest et Confédération Rayon de Roquefort, ADEO Hautes-Alpes).

Cependant, les trois types de traitements décrits ci-dessus, quoique pleinement efficaces pour une production de semence en pleine contre-saison, ne permettent cependant pas de s'affranchir totalement des variations saisonnières puisqu'ils ne font que déplacer les périodes d'activité et donc aussi d'inactivité sexuelles. En effet, après leur période de pleine activité sexuelle en contre-saison, les mâles traités subissent une dimi-

nution de cette activité située à la période où les animaux non traités sont pleinement actifs. Ce contrecoup du traitement n'est pas gênant pour les Centres qui ont une forte demande de semence seulement au printemps puisque les mâles ne sont alors pas utilisés à l'automne. Dans les Centres ayant une demande à peu près constante sur l'année, il fallait jusqu'à présent entretenir deux groupes de mâles, l'un utilisable au printemps, l'autre à l'automne. Les travaux du laboratoire continuant à progresser, un nouveau schéma photopériodique a été proposé. L'observation détaillée des relations endocri-

Figure 3. Production spermatique de béliers Ile-de-France soumis à un rythme photopériodique accéléré (régime c de la figure 2).



niennes existant entre les différents compartiments de l'axe hypothalamus-hypophyse-testicules conduisait en effet à postuler qu'une accélération du rythme des changements photopériodiques pourrait permettre une atténuation de la rétroaction négative des gonades et, par là, une abolition des variations saisonnières d'activité sexuelle. Après plusieurs essais en Station Expérimentale permettant de vérifier cette hypothèse, l'alternance d'un mois de jours longs et d'un mois de jours courts était appliquée à des béliers de centres d'IA, en comparaison avec des mâles laissés en photopériode naturelle. Cette comparaison a permis de mettre en évidence que les béliers traités produisaient 45 % de spermatozoïdes utiles en plus que les témoins (figure 3). L'application de ce type de rythme chez le bouc a abouti au même résultat, conduisant à produire de 50 à 70 % de doses d'IA en plus par rapport au témoin selon le schéma imposé (1 mois jours longs/1 mois jours courts ou 2 mois jours longs/2 mois jours courts) (Chemineau *et al* 1992). Ces schémas photopériodiques sont désormais également utilisés dans les centres d'IA ovins (Rayon de Roquefort) et caprins (Capri I.A.). Ce travail de recherche-développement a été récompensé fin 1995 par l'attribution du prix R. Cassou de l'Académie d'Agriculture de France, à Jean Pelletier, pour sa contribution à la mise au point de ces traitements photopériodiques.

Le suivi de l'efficacité des différents traitements photopériodiques mentionnés ci-dessus est assuré et les essais d'adaptation sont effectués par le laboratoire d'origine. Les protocoles d'application sont discutés avec les centres d'IA concernés, des mesures sont effectuées par les centres d'IA ou par l'INRA afin d'apprécier les effets du traitement appliqué (ex : mesures des concentrations plasmatiques de mélatonine et de testosté-

rone). Certaines hypothèses de simplification des schémas sont mises à l'épreuve au sein du laboratoire. Il s'agit par exemple du remplacement de l'alternance 1 mois jours longs/1 mois jours courts, qui ne peut se faire qu'en bâtiment fermé, par 1 mois jours longs/1 mois de mélatonine, qui peut se faire en bâtiment ouvert. Ce dernier schéma est efficace. Il reste cependant à mettre au point un mode d'administration de la mélatonine dont on maîtriserait le moment de fin de libération de l'hormone.

Actuellement, la recherche de solutions alternatives pour contrôler la reproduction s'oriente vers de nouvelles pistes : immunisation contre certaines substances endogènes, comme la mélatonine et la thyroxine, ou emploi d'antagonistes de la mélatonine, ou bien encore exploration de la variabilité génétique du saisonnement. Cette nouvelle génération de traitements ou ces nouvelles approches pourraient offrir une technique d'abolition des variations saisonnières de l'activité sexuelle des mâles sans recours à des traitements photopériodiques, ce qui serait intéressant pour les animaux élevés en plein air (Malpaux *et al* 1995).

3 / L'irrésistible ascension de la place de l'embryon dans les techniques de reproduction et de sélection bovine

La transplantation d'embryons est une méthode de reproduction qui consiste à faire naître par des vaches porteuses (appelées receveuses) des veaux issus d'une même mère génétique sélectionnée comme donneuse

d'embryons, dans le but d'augmenter sa descendance. Chez les bovins, cette technologie est devenue familière à bon nombre d'éleveurs, qui l'utilisent désormais. Environ 30 000 transplantations d'embryons sont maintenant réalisées chaque année en France. Si l'on considère qu'il y a seulement une vingtaine d'années les veaux nés de transplantation embryonnaire se comptaient encore sur les doigts de la main, on peut mesurer le chemin parcouru au cours des deux dernières décennies grâce aux travaux de l'INRA (Renard *et al* 1982, Chupin 1985 et 1988, Heyman 1988).

Rappelons tout d'abord que les recherches sur la transplantation d'embryons ont été initiées à l'INRA dans les années soixante et que les premiers veaux issus de mère porteuse ont été obtenus en 1971. Mais nous étions à ce moment-là encore bien loin d'une application pratique en élevage et les problèmes à résoudre étaient fort nombreux.

De la chirurgie à la non-chirurgie

Dans les expériences décrites par les pionniers du transfert d'embryons chez les bovins, après l'induction hormonale d'une polyovulation chez la vache sélectionnée comme donneuse, les très jeunes embryons étaient prélevés 3 ou 4 jours après la fécondation. Ils ne sont alors constitués que de quelques cellules et continuent leur migration à travers les trompes (oviductes) avant d'atteindre l'utérus. Le prélèvement était effectué sous anesthésie générale, par laparotomie ventrale, pour accéder aux oviductes et perfuser ceux-ci avec une solution physiologique stérile. Il s'agissait alors de rechercher, dans le liquide de perfusion, grâce à un microscope binoculaire, ces embryons dont le diamètre est de l'ordre du dixième de millimètre, puis de les réimplanter un à un, également par voie chirurgicale, dans l'oviducte de vaches receveuses dont le stade du cycle œstrien correspond à l'âge de l'embryon. Ce type d'intervention lourde nécessitait un bloc opératoire pour gros animaux et une équipe vétérinaire chevronnée.

L'un des premiers objectifs de l'INRA fut de mettre au point, pour les bovins, des techniques de prélèvement d'embryons et de réimplantation relativement simples, utilisant les voies naturelles via le vagin et le col de l'utérus (cervix) pour atteindre celui-ci, afin de pouvoir intervenir directement dans les élevages. Une première approche, via la voie transvaginale, pour « court-circuiter » le passage du cervix, a permis de réduire considérablement les inconvénients de la chirurgie. En effet il était alors communément admis que le franchissement du col utérin chez la vache était impossible en dehors de la période des chaleurs, et que sa stimulation pouvait provoquer des contractions de l'utérus susceptibles de réexpulser les embryons.

Pour mettre au point une méthode entièrement non-chirurgicale, le laboratoire de Phy-

siologie Animale de l'INRA s'est appuyé sur deux données physiologiques essentielles chez les bovins : d'une part le tout jeune embryon atteint l'utérus le 5^e jour après les chaleurs et il y séjourne « à l'état libre » pendant plusieurs jours puisque l'implantation ne commence que vers le 17^e jour. D'autre part, il avait été montré que l'activité électrique et mécanique du myomètre (utérus) variait en fonction du cycle ovarien et donc des niveaux hormonaux ; cette activité étant minimale en phase lutéale quand les niveaux de progestérone plasmatique sont élevés. Dans les années 74-75, le prélèvement et le transfert d'embryons à un stade assez tardif (10 à 12 jours après l'insémination, stade blastocyste) furent donc tentés au laboratoire. En se plaçant délibérément dans ce créneau de temps, il devait être possible à la fois d'aller prélever des blastocystes directement dans les cornes utérines en introduisant une sonde à travers le col, puis de les réimplanter par la même approche sans provoquer de contractions utérines susceptibles de les expulser.

Pour le prélèvement d'embryons, une sonde originale fut mise au point au laboratoire de Physiologie Animale et brevetée (brevet INRA). Il s'agit d'une sonde télescopique à 3 voies dont la particularité est de pouvoir accéder, par un cathéter interne souple, à la partie supérieure des cornes utérines et « laver » efficacement l'utérus : plus de 80 % des embryons sont ainsi récupérés en moins de 30 minutes sur la vache donneuse. Ces sondes sont fabriquées par un industriel français (IMV L'aigle) et exportées dans le monde entier.

Pour la réimplantation des blastocystes âgés de 10 jours, nous avons choisi le pistolet d'insémination type « Cassou ». Il permet de mettre en place chaque embryon dans l'utérus des receveuses dont le cycle a été synchronisé par les analogues de prostaglandines disponibles depuis 1975. Le laboratoire de Physiologie Animale de l'INRA a été le premier, avec une petite équipe irlandaise, à publier en 1978 la technique de transplantation à travers le col utérin avec des taux de gestation supérieurs à 50 %.

C'est grâce à ces résultats préliminaires obtenus à l'INRA qu'un programme national pour l'Etude et le Développement de la Transplantation Embryonnaire en France a été mis en place de 1979 à 1981. Il a permis de faire travailler ensemble l'INRA, l'UNCEIA et 4 unités de sélection, de confronter et d'analyser les résultats de plus de 2 000 transplantations. C'est probablement grâce à un tel programme, soutenu au niveau national, qu'aujourd'hui la France est toujours en tête au niveau européen, devant les Pays-Bas et l'Allemagne pour son activité de transfert d'embryons. D'après les statistiques de l'AETE (Association Européenne de Transfert Embryonnaire) 102 000 transplantations d'embryons bovins ont été réalisées en Europe en 1994, dont un tiers dans notre pays.

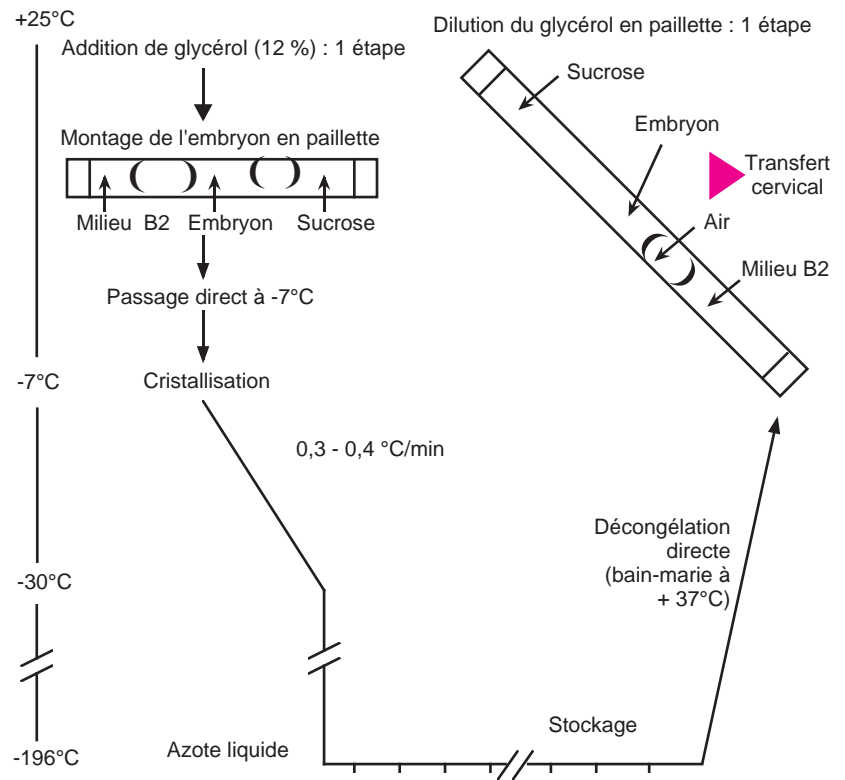
La congélation des embryons : un atout pour le développement de la transplantation

L'une des difficultés majeures pour développer la transplantation embryonnaire sur le terrain était liée à l'impossibilité de prévoir à l'avance le nombre d'embryons produits par chaque donneuse en raison de la très grande variabilité individuelle de réponse à la superovulation. En conséquence il était nécessaire de préparer, par un traitement de synchronisation des cycles, un excès de femelles receveuses de façon à pouvoir effectuer la transplantation très rapidement après la collecte (pendant les quelques heures qui suivent celle-ci).

La possibilité de congeler les embryons à très basse température (azote liquide -196°C) pendant une longue période est un facteur important pour le développement des transplantations d'embryons. En effet, la congélation présente de nombreux intérêts. En dissociant à la fois dans le temps et dans l'espace les opérations de collecte et de transfert, elle permet le commerce d'embryons à l'échelon international tout en diminuant considérablement les coûts d'exportation de la génétique. La création de banques d'embryons congelés peut être un moyen efficace pour sauvegarder certaines races menacées de disparition. C'est en 1976 que les recherches sur la cryoconservation de l'embryon ont été entreprises à l'INRA. L'objectif était d'appliquer les données fondamentales de la cryobiologie (élaborées sur de nombreux modèles cellulaires simples) à ce modèle complexe qu'est un jeune embryon au stade blastocyste, c'est-à-dire en début de différenciation. Quelques données existaient déjà depuis 1972 pour l'embryon de souris. Mais il a fallu déterminer, pour l'embryon de mammifère domestique, le composé organique cryoprotecteur qui limiterait la formation de cristaux de glace intracellulaire au cours du refroidissement et sa concentration optimale, compatible avec une faible toxicité. L'étude des vitesses de refroidissement et de réchauffement, après équilibration de l'embryon dans le cryoprotecteur, fut également déterminante car elle conditionnait la cinétique des mouvements d'eau à travers la cellule et donc sa survie. Enfin, le stade optimal de développement de l'embryon compatible avec une bonne survie après décongélation a dû être déterminé : il s'est avéré que le stade 7 jours (jeune blastocyste) était particulièrement favorable. Ce stade est retenu dorénavant pour toutes les interventions de collecte et de transplantation d'embryons chez les bovins.

Un bon équilibre entre les recherches à caractère fondamental en cryobiologie et les recherches appliquées prenant en compte les spécificités de l'embryon des espèces domestiques, ont permis à l'INRA de proposer, simultanément avec les américains, une méthode originale et efficace de congélation de l'embryon bovin (Brevets INRA n° 8200645 et n° 8211603, figure 4).

Figure 4. Congélation de l'embryon bovin conditionné en paillette (méthode INRA - d'après Renard et al 1982).



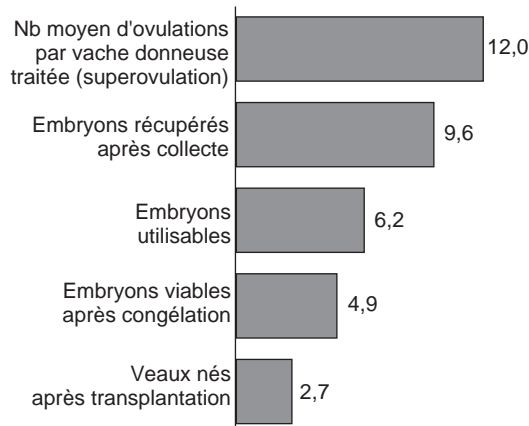
Dès les premiers essais de congélation d'embryons bovins au laboratoire de Jouy-en-Josas, le souci d'une application sur le terrain a été présent. C'est en décembre 1978 que naquit en France le premier veau issu d'un embryon de race Charolaise congelé un an auparavant à la station de Physiologie Animale. Quinze ans plus tard, la congélation des blastocystes bovins se fait en routine et constitue un des maillons indispensables du transfert d'embryons. En effet, plus de la moitié des embryons récoltés dans les élevages sont maintenant systématiquement congelés dans des paillettes dûment identifiées et stockées dans l'azote liquide avant d'être transplantés pour donner naissance à des veaux. Le taux de vêlage après mise en place d'un embryon congelé est supérieur à 50 % et donc très proche de celui obtenu en l'absence de congélation (figure 5).

Ces travaux de l'INRA sur la congélation des embryons ne se sont pas limités à l'espèce bovine mais ont été étendus avec succès à d'autres espèces comme le lapin, les ovins et les caprins. Une cryobanque d'embryons de lapin est en cours de constitution pour sauvegarder des races en voie de disparition. Rappelons également que les travaux sur la congélation de l'embryon réalisés à l'INRA ont été à l'origine d'applications en médecine humaine, après fécondation *in vitro*.

De la micromanipulation au clonage

Le transfert d'embryons est avant tout un outil pour multiplier les descendants des animaux d'élite, notamment les « mères à tau-

Figure 5. Rendement des différentes étapes de la production et du transfert des embryons chez les bovins (d'après Heyman et al 1983).



reaux » dans les schémas de sélection. Cependant, il est très vite apparu que le facteur limitant était le faible nombre d'embryons disponibles par donneuse après un traitement de superovulation. Le nombre moyen d'embryons transplantables par collecte est de l'ordre de 5, mais avec de grandes variations selon les animaux. Pour les donneuses d'intérêt génétique qui répondent mal aux traitements de stimulation ovarienne, il peut être intéressant malgré tout d'augmenter le nombre de leurs embryons aptes à être transplantés. Une première approche a été proposée il y a une dizaine d'années avec la bissection de blastocystes par micromanipulation. La scission d'un blastocyste en deux parties égales, suivie de la transplantation de chacune des 2 moitiés a permis d'augmenter de façon importante le rendement. Ainsi, en partant de 100 embryons entiers il devient possible de faire naître plus de 100 veaux par cette voie alors que ces 100 embryons transplantés directe-

Photo 1. Clone de 4 veaux mâle Charolais issus d'un embryon sexé. Veaux nés au Domaine expérimental INRA de Bressonvilliers en mars 1994. Cliché INRA/Y. Heyman.



ment sans bissection auraient donné en moyenne 60 veaux. Outre l'accroissement du rendement de la transplantation embryonnaire, la microchirurgie de l'embryon permet de produire expérimentalement des jumeaux bovins identiques génétiquement. De tels animaux, très rares dans les conditions naturelles, intéressent l'INRA depuis fort longtemps. Des paires de jumeaux monozygotes de bovins, ovins ou caprins sont maintenant « fabriquées » par bissection d'embryons pour plusieurs laboratoires de l'INRA.

Cependant, cette méthode de duplication connaît des limites, puisqu'il n'est pas possible de répéter l'opération sur chaque demi-embryon de façon à obtenir 4 individus identiques. Les recherches sur le clonage embryonnaire développées au cours de ces dernières années viennent d'apporter une réponse : par transfert des noyaux issus d'un même embryon, dans une série d'ovocytes receveurs préalablement énucléés, on peut reconstituer *in vitro* toute une série d'embryons identiques génétiquement qui aboutissent, après 7 jours de culture *in vitro* puis réimplantation dans des femelles porteuses, à la naissance de veaux clonés. Actuellement, 9 clones de 2 à 5 veaux sont déjà nés à l'INRA (un record en Europe) et sont utilisés comme modèles pour l'expérimentation en nutrition, comportement ou pathologie. De plus, il est possible aujourd'hui, au cours d'une opération de clonage embryonnaire, d'isoler l'une des cellules de l'embryon donneur de noyaux et de connaître le sexe du futur veau à naître, par l'utilisation de sondes spécifiques du chromosome Y. On peut produire au choix, selon les besoins, des clones mâles ou femelles (photo 1).

Demain, les possibilités offertes par la greffe de noyaux pourront être associées au diagnostic génétique grâce aux progrès réalisés dans la connaissance de la carte génétique bovine. La localisation des marqueurs permettra de repérer, à partir d'une seule cellule embryonnaire, la présence ou l'absence de caractères intéressants pour la sélection. L'embryon de bovin, ovin, caprin, produit *in vitro*, congelé, sexé, garanti indemne de toute anomalie deviendra un nouveau produit à forte valeur ajoutée pour l'élevage.

Conclusion

Les trois exemples ci-dessus montrent parfaitement que le développement et la maîtrise d'une technique de contrôle de la fonction de reproduction requiert l'utilisation de connaissances scientifiques en même temps que la mise en place d'expérimentations fines en station et en ferme. Dans ces trois exemples, par ailleurs, il apparaît clairement que ces techniques sont au service de chaque éleveur pour l'aider à maîtriser la conduite de son troupeau et de son temps de travail, mais également et surtout au service d'une collectivité d'éleveurs à qui elles permettent de « fabriquer » du progrès génétique à un rythme accéléré. L'enjeu

économique est important et le maintien d'une activité agricole dans les zones difficiles en dépend partiellement.

Remerciements

Les auteurs ne peuvent remercier nominativement toutes les personnes (chercheurs, techniciens, anima-

liers, administratifs) qui, au long de toutes ces années, ont participé au développement des recherches et à la mise au point des techniques décrites dans cet article. Ils souhaitent cependant indiquer que ces recherches ont été initiées et dirigées au sein du Département de Physiologie Animale, par le Professeur Charles Thibault, et les Docteurs Robert Ortavant, Pierre Mauléon, Michel Courot et Jean-Pierre Signoret.

Références bibliographiques

- Chemineau P., Pelletier J., Guérin Y., Colas G., Ravault J.P., Toure G., Almeida G., Thimonier J., Ortavant R., 1988. Photoperiodic and melatonin treatments for the control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reprod. Nutr. Develop.*, 28, 409-422.
- Chemineau P., Malpoux B., Guérin Y., Maurice F., Daveau A., Pelletier J., 1992. Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins. *Ann. Zoot.*, 41, 247-261.
- Chupin D., 1985. Applications pratiques du transfert d'embryons chez les bovins. *Elev. et Insemin.*, 206, 3-15.
- Chupin D., 1988. Superovulation par PMSG ou FSH pour le transfert embryonnaire. *Coll. Soc. Fr. Étude Fertil.*, 26, 213-232.
- Cognié Y., 1988. Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. *INRA Prod. Anim.*, 1, 83-92.
- Corteel J.M., Lebœuf B., Baril G., 1988. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rumin. Res.*, 1, 19-35.
- De Fontaubert Y., 1988. La maîtrise des cycles sexuels chez les bovins. Le point en 1988. *INRA Prod. Anim.*, 1, 179-185.
- Heyman Y., 1988. Moment de la retransplantation et succès de la gestation chez les mammifères. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28, 1747-1752.
- Malpoux B., Maurice-Mandon F., Daveau A., Chemineau P., 1995. Utilisation de la lumière et de la mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins. 2^{es} Rencontres Recherches Ruminants Paris, 13-14 décembre 1995 (sous presse).
- Martinat-Botté F., Bariteau F., Badouard B., Terqui M., 1985. Control of pig reproduction in a breeding programme. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 33, 211-228.
- Morstin J., De Fontaubert Y., Aguer D., 1988. Ovarian activity and fertility after Synchronate B Plus (SMB+) treatment of large dairy herds in Poland. 11th Int. Cong. Anim. Reprod. & A.I., Dublin, 4, 450.
- Ortavant R., Bocquier F., Pelletier J., Ravault J.P., Thimonier J., Volland-Nail P., 1988. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. *Aust. J. Biol.*, 41, 69-85.
- Renard J.P., Heyman Y., Ozil J.P., 1982. Congélation de l'embryon bovin : une nouvelle méthode de décongélation pour le transfert cervical d'embryons conditionnés en paillette. *Ann. Méd. Vét.*, 126, 23-32.
- Thimonier J., 1979. Hormonal control of oestrous cycle in the ewe (a review). *Livest. Prod. Sci.*, 6, 39-50.
- Thimonier J., Chupin D., Pelot J., 1975. Synchronization of oestrus in heifers and cyclic cows with prostaglandins and prostaglandins analogues alone or in combination. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 15, 437-449.