

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Étude de l'action de la PMSG sur les mécanismes d'ovulation chez la brebis Suffolk

Noël, Bénédicte

Award date:
1989

Awarding institution:
Universite de Namur

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

1989



FACULTÉS UNIVERSITAIRES N.D. DE LA PAIX
NAMUR
FACULTÉ DES SCIENCES

ETUDE DE L'ACTION DE LA PMSG
SUR LES MÉCANISMES D'OVULATION
CHEZ LA BREBIS *SUFFOLK*.

Mémoire présenté pour l'obtention du grade
de Licencié en Sciences
biologiques
par

NOEL BENEDICTE

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
Faculté des Sciences
rue de Bruxelles 61, B-5000 NAMUR
Tél. 081-22.90.61 Télex 59222 facnam-b Téléfax 081-23.03.91

**ETUDE DE L'ACTION DE LA PMSG SUR LES MECANISMES
D'OVULATION DE LA BREBIS SUFFOLK.**

NOEL BENEDICTE .

Résumé.

L'objectif de ce travail a été de déterminer, en fonction de la saison de reproduction, les effets de deux doses de PMSG (500 et 800 UI) sur l'efficacité de l'induction et de la synchronisation des cycles, sur le moment de l'ovulation et sur le taux d'ovulation chez la brebis Suffolk.

Nous en tirons les conclusions suivantes.

- Les doses utilisées ne présentent pas un effet superovulatoire.
- Les brebis de race Suffolk fortement saisonnière offrent une réponse variable à la stimulation hormonale. Le nombre de femelles réfractaires augmente d'autant plus que l'on s'éloigne de la pleine saison de reproduction.
- Les brebis ovulent en moyenne 58 à 63 heures après la fin du traitement. Cependant la variabilité individuelle est très grande.
- Les taux d'ovulation obtenus sont élevés en saison sexuelle, diminuent en anoestrus léger et sont faibles en anoestrus profond.
- Une dose de 800 UI donne de meilleurs résultats à contre saison mais en période d'oestrus 500 UI est plus efficace.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Juin 1989

Laboratoire de Physiologie Animale

Promoteur : Prof. R. PAQUAY

Au terme de ce travail, je tiens à présenter mes remerciements à mon promoteur, le professeur R. PAQUAY qui m'a permis de travailler dans son laboratoire. Ses nombreuses remarques judicieuses lors de la rédaction me furent d'un grand secours.

Je voudrais également adresser mes remerciements au Dr J.L. BISTER pour son aide, son efficacité et sa constante disponibilité au cours de cette année.

Que tous les membres du département de Physiologie Animale ainsi que le personnel de Faulx-les-Tombes soient remerciés pour leur sympathique assistance et l'accueil qu'ils m'ont réservé.

Enfin, j'exprime toute ma reconnaissance à mes parents, mes frères et soeurs ainsi qu'à mes amis et amies qui m'ont soutenue durant ce travail.

TABLE DES MATIERES.

Remerciements.

Introduction.

Chapître I : Revue bibliographique

A. Description de la reproduction de la brebis	1
1. Le cycle oestral de la brebis.	1
1.1. Introduction.	1
1.2. Phase lutéale.	2
1.3. Phase folliculaire.	2
2. La brebis en anoestrus saisonnier.	3
2.1. Introduction.	3
2.2 Facteurs influençant la saison sexuelle de la brebis.	3
a. Variations selon la race.	4
b. Action de la photopériode.	4
c. L'effet belier.	4
2.3. Modifications au niveau ovarien.	5
2.4. Secrétions hormonales au cours de l'anoestrus saisonnier.	5
B. La croissance folliculaire.	7
1. Données générales sur la gamétogenèse femelle.	7
2. L'ovogenèse.	7
3. La folliculogénèse.	7
3.1. Follicules primordiaux.	7
a. Description.	7
b. Considérations générales.	8
3.2. Initiation de la croissance folliculaire.	8
3.3. Croissance folliculaire ou folliculogénèse.	9
4. La croissance folliculaire terminale.	10
4.1. Introduction.	10
4.2. Differentiation fonctionnelle.	11
4.3. Etapes de la croissance folliculaire terminale.	11
a. Recrutement.	11
b. Sélection et apparition du follicule dominant.	12
c. L'atrésie.	13
C. L'ovulation.	14
1. Mécanismes de l'ovulation.	14
1.1. Mécanismes hormonaux.	15
1.2. Mécanismes biochimiques.	15
2. Les facteurs de variation du taux d'ovulation.	15
2.1. Variations hormonales.	16
a. Les gonadotropines hypophysaires.	16

b. Les stéroïdes ovariens.....	17
c. L'inhibine.....	18
d. Conclusion.....	18
2.2. Variations liées à la race.....	19
a. La brebis Romanov.....	19
b. La brebis Finnoise.....	19
c. La brebis Booroola.....	20
d. Conclusions.....	20
D. Maitrise de la reproduction chez la brebis.....	21
1. Introduction.....	21
2. Le contrôle du cycle et l'ovulation.....	21
2.1. Synchronisation du cycle.....	21
a. Utilisation de prostaglandines.....	22
b. Administration de progestérone.....	22
c. Utilisation de progestérone et de prostaglandine.....	24
2.2. Induction du cycle.....	24
3. Utilisation de la PMSG.....	24
3.1. Introduction : utilité de la PMSG.....	24
3.2. Mécanisme d'action de la PMSG.....	25
3.4. Effet de la saison sur la réussite du contrôle.....	26
3.5. Facteurs qui conditionnent la dose de PMSG.....	27
a. Le potentiel génétique.....	27
b. L'état physiologique.....	28
c. L'état corporel.....	28
3.6. Résultats obtenus.....	29
3.7. Facteurs expliquant la variabilité des résultats obtenus.....	30

chapître I : Matériels et méthodes.

A. Plan expérimental.....	31
1. Objectif poursuivis.....	31
2. Conditions expérimentales.....	31
3. Animaux expérimentaux.....	31
4. Protocole expérimental suivi.....	31
B. Méthodes utilisées.....	33
1. Techniques et traitements utilisés in vivo.....	33
1.1. Synchronisation et induction des cycles.....	33
1.2. Endoscopie.....	33
1.3. Prises de sang.....	34
2. Techniques utilisées in vitro : dosages hormonaux.....	34

2.1. Principe du dosage par RIA (radio-immuno assay).....	34
2.2. Appareillage.....	35
2.3. Calcul de résultats.....	35
2.4. Dosage de la LH.....	36
a. Produits utilisés.....	36
b. Manipulation.....	37
2.5. Dosage de la progestérone.....	38
a. Produits utilisés.....	38
b. Manipulation.....	38

Chapitre III : Résultats.

A. Analyse de la population folliculaire.....	39
B. Induction et synchronisation des cycle.....	40
C. Le moment de l'ovulation.....	41
D. Taux d'ovulation.....	42
E. Relation entre la concentration en progestérone plasmatique et le.....	43
F. Poursuite de l'activité cyclique.....	43
E. Effet du poids et de l'âge des brebis.....	44

Chapitre IV : Discussion.

A. La population folliculaire.....	45
B. Induction et synchronisation des cycle.....	45
1. Effet de la saison et de la dose de PMSG.....	45
2. Effets de facteurs extérieurs.....	46
C. L'heure de l'ovulation.....	46
1. Effet de la saison.....	46
2. Effet de la dose de PMSG.....	47
3. Facteurs extérieurs.....	47
D. Taux d'ovulation.....	47
1. Effet de la saison.....	47
2. Effet de la dose de PMSG.....	48
E. Facteurs pouvant expliquer la variabilité des résultats obtenus.....	49
F. Autres facteurs.....	49
Chapitre V : Conclusions.....	51
Chapitre VI : Perspectives de recherches pour l'avenir.....	53

Bibliographie

Annexe

INTRODUCTION.

L'amélioration de la productivité et de la rentabilité des animaux domestiques a toujours préoccupé l'homme. La rentabilité de l'élevage est largement conditionnée par la capacité de maîtriser les mécanismes de la reproduction. Il en va de même pour le cheptel ovin. Mais les périodes d'anoestrus (saisonnier et post partum) et le faible taux d'ovulation limitent l'efficacité de la reproduction chez la brebis. De nombreuses tentatives ont été réalisées pour contourner ces limites imposées par la nature : manipulation de la photopériode, insémination artificielle (IA), traitements hormonaux...

Nous nous sommes intéressés à la maîtrise hormonale du cycle sexuel. Chez la brebis elle est généralement basée sur l'association d'une synchronisation ou d'une induction des cycles grâce à des progestagènes (acétate de fluorogestone : FGA) et d'une stimulation de l'ovulation par administration de Pregnant Mare Serum Gonadotropine (PMSG). D'après la littérature, cette technique décrite plus loin en détail permet d'obtenir avec un succès important des ovulations à un moment précis choisi par l'éleveur. Ceci permet la mise en place de l'insémination artificielle (IA).

Cependant chez la brebis Suffolk, dans les mêmes conditions, on observe une fertilité variable et souvent faible. Le but de notre expérience a dès lors été de déterminer, en fonction de la saison de reproduction, les effets de 2 doses de PMSG (500 et 800 UI) sur l'efficacité de l'induction et de la synchronisation des cycles, sur le moment de l'ovulation et sur le taux d'ovulation.

Le travail se divise en différents chapitres. En premier lieu, il a été nécessaire de réaliser une étude bibliographique pour synthétiser des informations sur la reproduction de la brebis, la croissance folliculaire, les facteurs de variations du taux d'ovulation et les possibilités de maîtrise du taux d'ovulation, en particulier grâce aux progestagènes et à la PMSG.

Le chapitre suivant est réservé à la description du plan expérimental et des techniques utilisées.

Dans le troisième et le quatrième chapitre nous exposerons et discuterons les résultats obtenus.

Les conclusions précèdent une liste succincte des perspectives de recherches pour l'avenir.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.

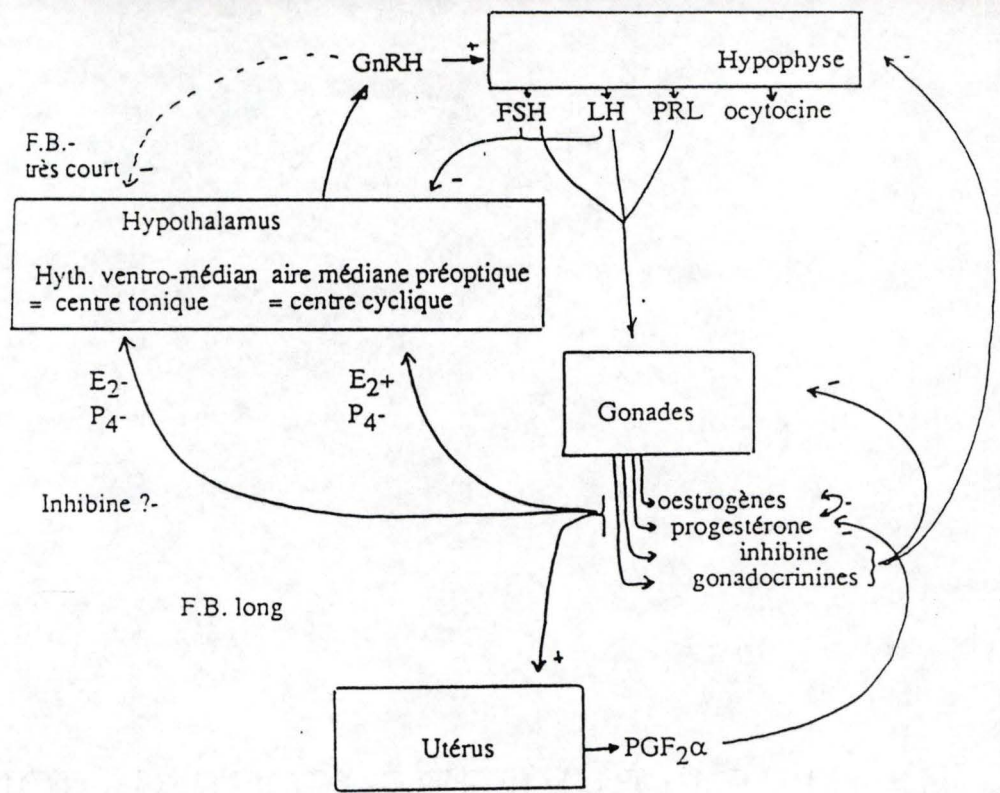


FIGURE 1 : Schéma du contrôle endocrinien du cycle sexuel (Bister, 1988).

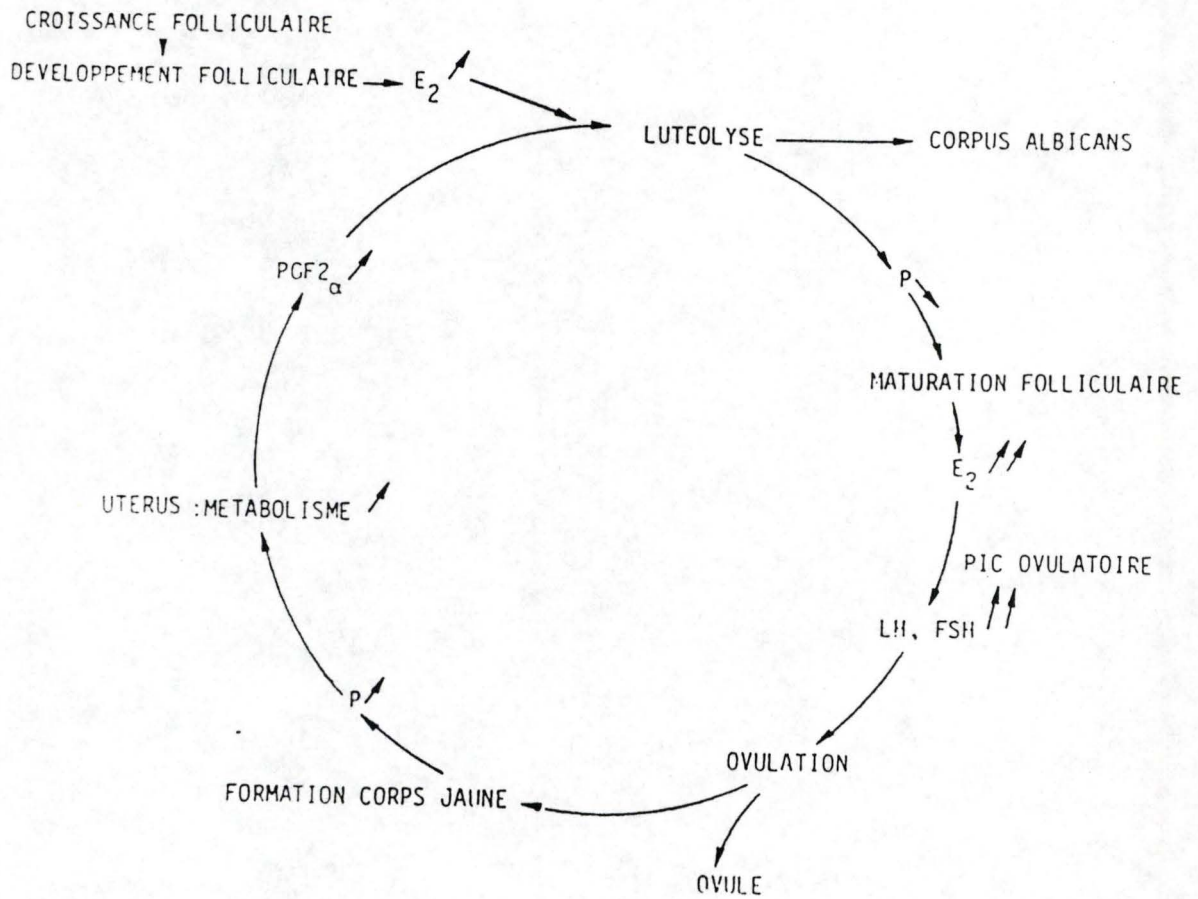


FIGURE 2 : Le cycle oestral de la brebis (Bister, 1988).

A. DESCRIPTION DE LA REPRODUCTION DE LA BREBIS.

L'activité sexuelle de la brebis est de type polyoestrus saisonnier ce qui signifie que la brebis présente une succession de cycles oestriques pendant une saison déterminée.

La brebis peut se trouver dans deux états physiologiques différents : l'activité cyclique et l'anoestrus ; ce dernier peut être prépubertaire, de gestation, de lactation ou saisonnier.

Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons uniquement à l'activité cyclique et à l'anoestrus saisonnier.

1. LE CYCLE OESTRIQUE DE LA BREBIS.

Les principales sources bibliographiques utilisées pour cette partie du travail sont puisées chez Robertson (1977), Collignon (1984) et Bister (1988).

1.1. Introduction.

Par convention, les physiologistes considèrent l'ovulation comme le début du cycle, au jour 0, quelle que soit l'espèce considérée. Un cycle s'étend donc d'une ovulation à l'autre. En gynécologie humaine, cependant, en raison de la facilité de son observation, c'est le premier jour des règles qui sert de base à la numérotation des jours du cycle, l'ovulation se situant alors vers le jour 14.

Le cycle de la brebis dure en moyenne 17 jours et peut être divisé en deux périodes d'activité : la phase folliculaire qui correspond à la croissance terminale et à la maturation des follicules ovariens après la lutéolyse et qui se termine par l'ovulation, et la phase lutéale qui correspond à la période d'activité du corps jaune et qui s'achève avec la lutéolyse (régression du corps jaune).

Tous ces événements qui se manifestent au niveau de l'ovaire sont influencés par des facteurs hormonaux sécrétés par l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaire-utérus et qui interagissent l'un sur l'autre par différents mécanismes rétroactifs (fig. 1).

En partant du jour de l'ovulation, il est possible de schématiser les événements hormonaux et fonctionnels se succédant au cours du cycle de la brebis de la façon suivante (fig 2).

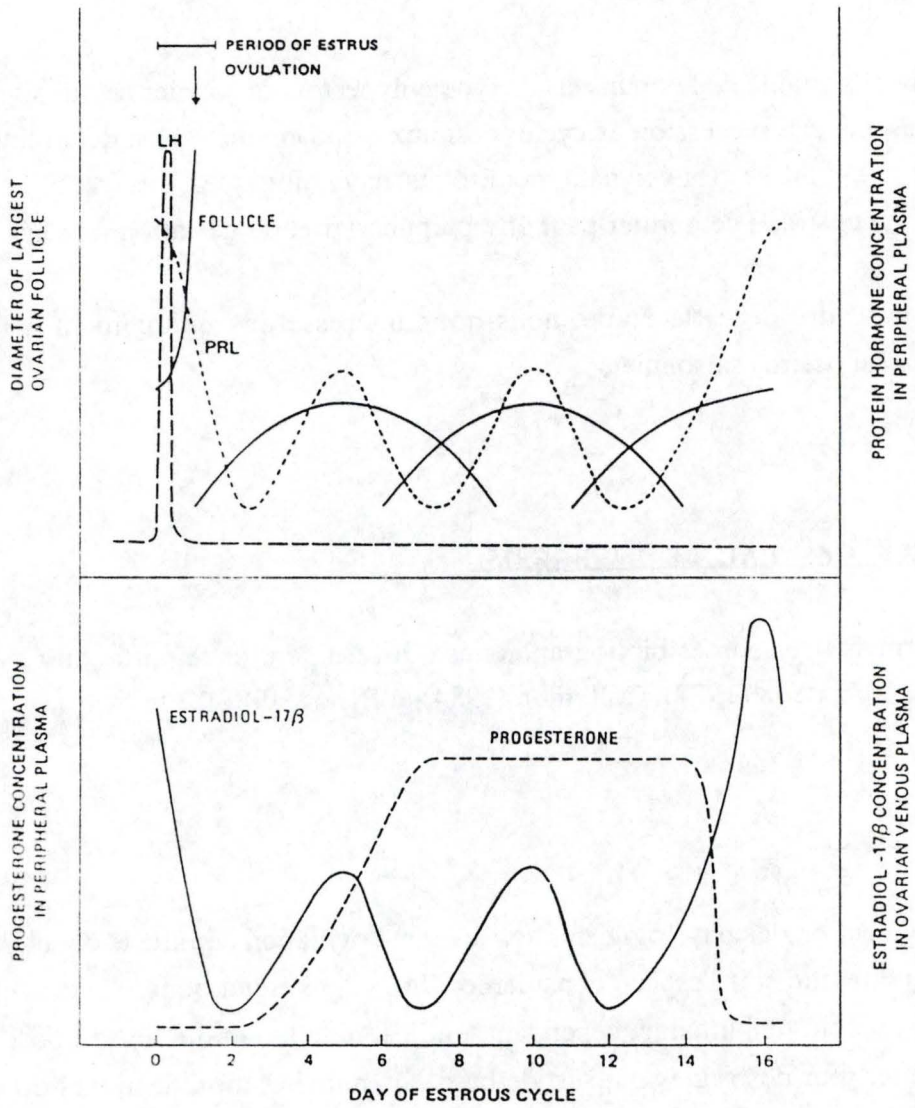


FIGURE 3 : Evolutions hormonales au cours du cycle oestral de la brebis (Robertson, 1977).

1.2. Phase lutéale.

La phase lutéale dure environ 12 à 13 jours. Suite à l'émission de l'ovule par le follicule (jour 0), les cellules folliculaires subissent des modifications structurales et fonctionnelles qui aboutissent à la formation du corps jaune : les cellules lutéales et paraluteales s'édifient respectivement à partir de la granulosa et de la théque interne sous l'action de la LH (Luteinizing Hormone), de la FSH (Follicle Stimulating Hormone) et des oestrogènes (Mc Natty et Thurkey, 1974, cités par Collignon, 1984).

Les cellules lutéales synthétisent de la progestérone à partir du cholestérol ; la PRL active la synthèse du cholestérol et la LH stimule sa conversion en Progestérone (P4) par les cellules lutéales . Le taux sanguin de P4 augmente après l'ovulation et pendant une bonne moitié de la phase lutéale puis atteint des valeurs plus ou moins constantes jusque la lutéolyse.

Sous l'effet de l'émission par vagues de FSH, des follicules antraux entrent en croissance et en maturation. L'oestradiol (E2) est un des stéroïdes sécrétés par les follicules ovariens, sa production est en relation avec la taille des follicules. L'E2 assure un feed back négatif sur l'hypotalamus en synergie avec la P4. Ces hormones sont responsables du maintien des hormones hypophysaires, LH et FSH, à un niveau sanguin moyen au cours de la phase lutéale (fig 3).

La baisse du taux de FSH due au développement des follicules provoque l'atrésie de ces follicules et donc une diminution de la sécrétion d'E2; on observe alors une levée de l'inhibition du centre de sécrétion tonique d'émission de GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone). Le taux de FSH augmente à nouveau, provoquant la maturation d'une seconde vague folliculaire. Les follicules sécrètent de plus en plus d'E2 qui toujours en synergie avec la P4 inhibe une deuxième fois la sécrétion de FSH et provoque l'atrésie des follicules en développement.

La combinaison de l'action préparatrice de la P4 et de la stimulation de l'E2 sur l'endomètre utérin entraîne une sécrétion de prostaglandine F2a (PGF2a). La PGF2a et l'E2 agissent ensemble pour induire la lutéolyse. Le corps jaune perd alors ses capacités sécrétrices et se transforme en corpus albicans, trace blanchâtre à la surface de l'ovaire. Cette structure ne semble jouer aucun rôle physiologique.

1.3. Phase folliculaire.

La baisse de sécrétion d'oestradiol suite à l'atrésie et la chute du taux de P4 consécutive à la lutéolyse permettent l'augmentation de l'émission de FSH et le démarrage de la troisième vague de maturation folliculaire.

Dès lors le taux d'E2 augmente à nouveau; cette hormone présente normalement une action inhibitrice sur la production d'hormones hypophysaires mais lorsque son émission

atteint une certaine valeur, le phénomène de feed back s'inverse. Il devient positif et stimule le centre cyclique d'émission de GnRH: ce centre est en effet inhibé par la progestérone mais, contrairement au centre tonique, il est stimulé par les oestrogènes. Ces variations entraînent la libération brutale de LH et de FSH (pics préovulatoires) menant à l'ovulation. Le pic de LH provoque de profondes modifications dans les follicules; il stoppe les mitoses et stimule les cellules de la thèque interne à sécréter différents facteurs dont une collagénase qui attaque la paroi. Les membranes thécales et granulosales s'affinent en surface de l'ovaire en un point appelé stigma. Finalement le stigma se rompt et laisse échapper le fluide folliculaire qui entraîne avec lui l'ovule.

Après la libération, la cavité s'emplit d'un caillot sanguin puis se restructure en corps jaune. L'ovocyte est recueilli par le pavillon de l'oviducte et se déplace vers l'ampoule (au premier tiers de l'oviducte) où il sera éventuellement fécondé. Si c'est le cas, le zygote formé par la fusion des noyaux de l'ovule et du spermatozoïde descend vers l'utérus, se développe et finit par s'y implanter.

2. LA BREBIS EN ANOESTRUS SAISONNIER.

2.1. Introduction.

Chez la plupart des espèces de mammifères, la femelle n'entre en cycle que pendant une période déterminée de l'année. Il se produit alors un seul cycle (monoœstrus annuel) ou, comme dans le cas de la brebis, plusieurs cycles consécutifs (polyœstrus saisonnier). Entre deux périodes de reproduction, si elle n'a pas été fécondée, la brebis est en état d'anoœstrus saisonnier.

L'anoœstrus saisonnier provient d'une adaptation aux variations climatiques caractéristiques de l'endroit où vit la race envisagée. Il a pour but de ne permettre la naissance des jeunes qu'à la période la plus favorable à leur survie et à leur développement, c'est à dire lorsque les conditions climatiques ne sont pas trop dures et lorsque la nourriture est abondante. Le mouton se reproduit donc en automne de façon à ce que les agneaux naissent au printemps à la poussée de l'herbe.

2.2 Facteurs influençant la saison sexuelle de la brebis.

Chez la brebis adulte, les facteurs agissant de manière prépondérante sur la saison sexuelle sont la race, l'individu et l'environnement. Parmi les facteurs environnementaux, les principaux sont sans doute la photopériode et la présence ou l'absence de bélier.

TABLEAU 1: Durée de la saison de reproduction (Craplet et Thibier, p 163, 1980).

RACE	Nbre de cycles	Nbre de jours
BLACFACE ^k	6.9	139
WELSH MOUNTAIN	7.0	133
BORDEA LEICESTER	7.2	131
ROMNEY MARSH	9.7	171
SUFFOLK	10.2	189
WELSH X DORSET HORN	10.4	179
DORSET HORN	12.4	223

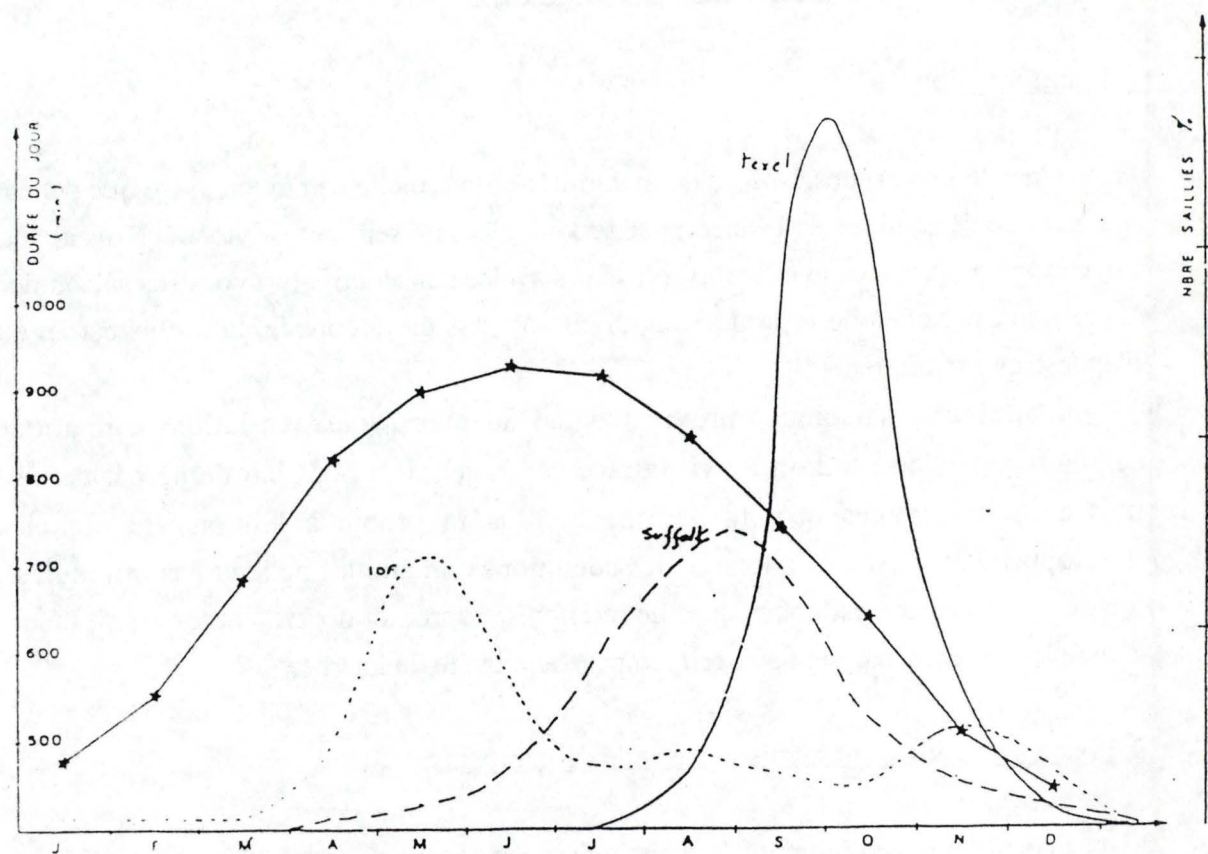


FIGURE 4 : Durée du jour (moyennes mensuelles) au cours de l'année (*) et saison de reproduction estimée par le nombre de saillies observées par période de 10 jours pendant 3 mois (Bister, 1980).

a. Variation selon la race.

La durée de la saison de reproduction de la brebis est très variable suivant les races comme le montrent les chiffres de Hafez cité par Craplet et Thibier (1980, tableau 1). On remarque que les races rustiques, nordiques ou d'altitude élevée (Black Face) ont une courte saison de reproduction allant d'octobre à février, tandis que les races améliorées, méridionales ou de plaine (Dorset Horn) ont une longue période de reproduction s'étendant de juillet à avril.

Les races que nous connaissons en Belgique sont saisonnières à l'extrême en ce sens que en dehors d'une période très limitée de l'année aucune reproduction naturelle ne peut être observée. La race la plus saisonnière est la Texel mais Suffolk et Hampshire lui sont très proches.

Pour la brebis Texel, la saison de reproduction s'étend du début septembre à la fin décembre avec un maximum de fécondations vers le 15 octobre (fig 4, Bister, 1980). Cette race a donc une saison de reproduction relativement courte. Il faut cependant remarquer que ce graphique a été réalisé grâce à des données provenant des fréquences des mises-bas au cours de différents mois de l'année; il est donc probable que ces courbes ne soient pas tout-à-fait représentatives des périodes de reproduction des espèces considérées.

La brebis Suffolk présente des capacités reproductrices maximales de ~~juin~~ juin-juillet à octobre-novembre (fig 4).

La saison de reproduction de la brebis Iles-de-France présente trois pics d'intensité variable avec un maximum de fécondation en mai (fig 4).

b. Action de la photopériode.

Le facteur essentiel déterminant la saison sexuelle de la brebis est la photopériode, c'est-à-dire la longueur du jour par rapport à la longueur de la nuit. L'entrée en cycle se fait assez rapidement après que la photopériode ait commencé à décroître tandis que le passage en anoestrus a lieu en photopériode croissante. Ces observations sont strictes pour les espèces fortement saisonnées, moins pour d'autres (fig 4).

c. L'effet belier.

L'introduction d'un bélier dans un groupe de brebis en fin d'anoestrus avance la saison de reproduction et provoque une synchronisation partielle des chaleurs (Collignon, 1984).

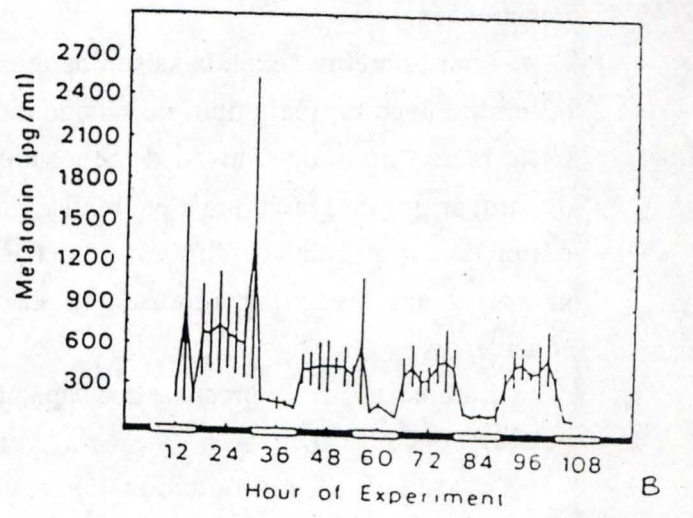
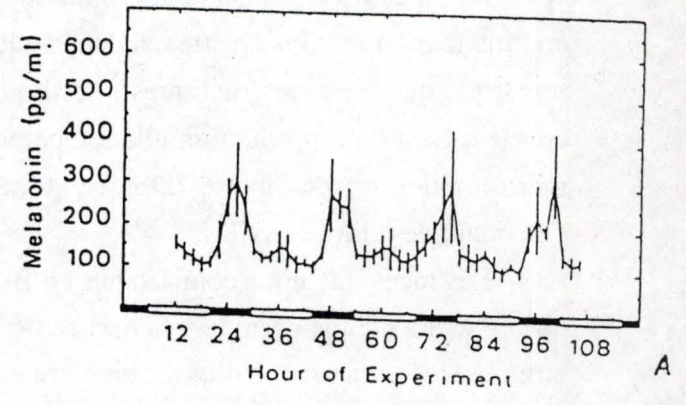
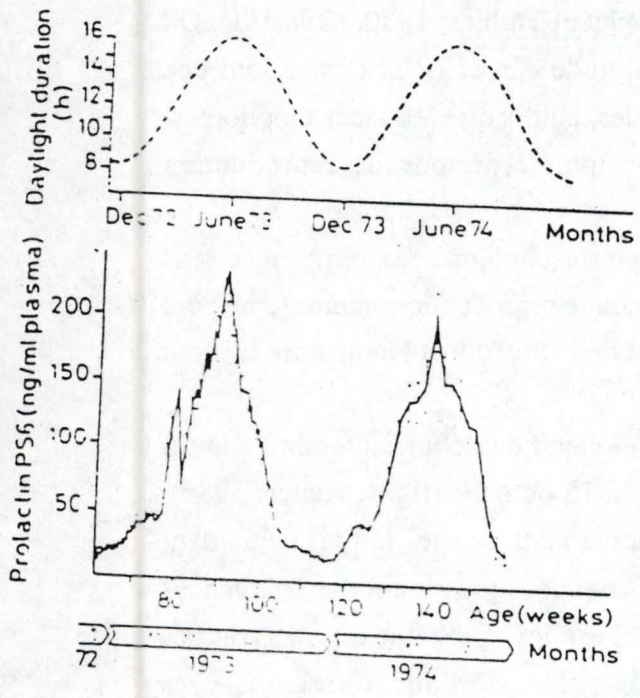


FIGURE 5 : Variation de la prolactinémie en fonction de la durée du jour et de la mélatonine en fonction de l'heure (Bister, 1988).

A : Novembre.
 B : Juin.

2.3. Modifications au niveau ovarien.

En anoestrus saisonnier, le fonctionnement ovarien est ralenti et la croissance folliculaire est lente, mais la déplétion ovarienne n'est pas totale. Il subsiste une certaine activité sécrétrice qui peut être réduite par hypophysectomie (Young, 1961) et de gros follicules peuvent être trouvés tout au long de l'anoestrus (Kammerlade et al, 1952).

Cependant Cahill et Mauléon (1980) soulignent que si le nombre de follicules avec plus de trois couches de cellules granuleuses est le même en anoestrus et en saison de reproduction on observe quand même plus de follicules antraux en période de reproduction.

En fait, des follicules croissent régulièrement sous forme de trois vagues semblables à celles du cycle, mais aucun n'ovule. Ils sécrètent des oestrogènes mais les taux de progestérone plasmatiques sont minimaux puisque aucun corps jaune ne résulte d'une ovulation. (Bister, 1988). Selon certains auteurs, l'anoestrus se composerait en réalité de deux périodes très différentes physiologiquement (Craplet et Thibier, 1980): une période d'anoestrus vrai caractérisée par un arrêt total de l'activité cyclique sexuelle, d'une durée de deux mois, et une période d'anoestrus faux caractérisée par des chaleurs silencieuses ; il y a ovulation tous les 17 jours mais pas de manifestations extérieures de l'oestrus. Les chaleurs peuvent cependant devenir apparentes par une légère modification du milieu extérieur (un changement de régime alimentaire, l'introduction d'un bélier dans le groupe...). Cette période est observée en début et fin d'anoestrus.

2.4. Secrétions hormonales au cours de l'anoestrus saisonnier.

L'analyse des sécrétions hormonales montrent que l'ovaire n'est pas quiescent en anoestrus saisonnier et que l'hypophyse sécrète des gonadotropines.

Le taux et les fluctuations de FSH sont peu modifiées par rapport à ceux décrits pendant le cycle (Bister et Paquay, 1983)

La LH présente un taux basal; on observe cependant quelques pics sporadiques d'intensité variable (Walton et al, 1977, cités par Bister, 1980). Ces pics sont le reflet de la pulsativité de l'émission tonique ou le signe d'une ovulation silencieuse. Une injection d'oestradiol qui, en période de reproduction, entraîne une décharge ovulatoire de LH, a, au contraire un effet de feed back négatif pendant l'anoestrus (Legan et al, 1977). Il est donc évident que la réceptibilité de l'hypothalamus est complètement modifiée pendant l'anoestrus saisonnier.

Les recherches concernant cette variation de sensibilité hypothalamo-hypophysaire laissent entrevoir un effet des hormones épiphysaires (mélatonine principalement) et de la prolactine. Ces hormones sont contrôlées par la photopériode tant au point de vue circadien que saisonnier (fig 5).

L'évolution annuelle de prolactinémie est chez la brebis en anoestrus saisonnier, comparable à celle de la durée de la luminosité ; les taux sont élevés en jours longs et faibles en jours courts (Piroux, 1985). La mélatonine est par contre secrétée pendant l'obscurité.

Bittman et al (1985, cités par Piroux, 1985) ont démontré le rôle médiateur de la mélatonine entre la photopériode artificielle et la fréquence des pulses de LH. En effet, la mélatonine agirait sur l'hypotalamus pour contrôler la sécrétion épisodique de GnRH. De plus l'épiphyse inhibe la sécrétion de PRL, ce qui a conduit à l'hypothèse qu'en jours longs, la haute concentration en PRL serait associée à l'anoestrus saisonnier (Bister, 1980). Mais d'autres expériences utilisant des inhibiteurs spécifiques de la PRL montrent que celle-ci n'est pas directement impliquée dans le contrôle de l'anoestrus (Ectors et al, 1983, cités par Fossion, 1986).

TABLEAU 2: Les différentes étapes de la vie folliculaire. (Titeca, 1987)

CELLULES REPRODUCTRICES	MODIFICATIONS INTERVENANT ENTRE LES DIVERS STADES	CELLULES DES COUCHES PROTECTRICES
-------------------------	---	-----------------------------------

FECUNDATION

EMBRYOGENESE

Ovogenèses

Cellules diffuses du stroma ovarien

Phase de MULTIPLICATION

Ovocyte de 1er ordre

Follicule primordial

Une couche diffuse de cellules

Initiation de la croissance

FOLLICULOGENESE (croissance primaire)

Ovocyte de 1er ordre

Follicule primaire

10 à 20 cellules cuboïdales sur 1 à 2 couches

Ovocyte de 1er ordre qui grossit

Follicule secondaire

Formation de la zone pellucide
Arrangement des cellules de la granulosa

Ovocyte de 1er ordre à sa taille maximum

Follicule tertiaire ou préantral

Développement des cellules thécales externes et internes

Ovocyte de 1er ordre

Follicule antral

Formation de la cavité antrale

MATURATION (croissance terminale)

1. recrutement

Ovocyte de 1er ordre isolé dans un cumulus oophorus

Granulosa et théques fonctionnelles
Formation du fluide folliculaire

2. sélection

atrésie <-----



-----> dominance

Follicule atrophique
Resorption par le stroma

Follicule préovulatoire

ovulation

Ovocyte de 1er ordre expulsé



Corps jaune

pénétration du spermatozoïde

lutéolyse

Formation de l'ovule

Corpus albicans

fécundation

B. LA CROISSANCE FOLLICULAIRE.

1. DONNÉES GÉNÉRALES SUR LA GAMÉTOGENESE FEMELLE.

(tableau 2)

Chez les mammifères femelles, la gamétogenèse est un phénomène discontinu : à l'**OVOGENESE** (établissement d'un stock de follicules primordiaux) fait suite la **FOLLICULOGENESE** qui amène certains de ces follicules à leur différenciation complète; cette étape est permanente et indépendante de l'état physiologique de l'animal. Ensuite les follicules peuvent être recrutés pour entamer la maturation; pendant cette **CROISSANCE TERMINALE**, les follicules subissent le jeu de la sélection; la plupart sont réduits à l'atrésie tandis que les autres continuent à se développer pour enfin arriver à l'ovulation. Cette dernière étape est fortement influencée par les modifications des concentrations d'hormones gonadotropes.

2. L'OVOGENESE. (FIG 6)

Dès la vie foetale, les cellules ovariennes se différencient en cellules reproductrices, cellules de protection et cellules de soutien.

Les ovogonies qui sont les cellules souches de la lignée séminale femelle n'existent que pendant la vie foetale et possèdent encore 46 chromosomes ; ensuite la division réductionnelle méiotique donne des ovocytes de premier ordre qui s'entourent d'une assise de cellules folliculaires (follicules primordiaux) et restent au stade diploténe jusque la puberté.

Il est important de noter que la méiose ne reprend qu'au moment de l'ovulation pour se terminer à la fécondation.

3. LA FOLLICULOGENESE.

3.1. follicules primordiaux.

a. Description.

Le follicule primordial est une structure sphérique constituée d'une couche discontinue de cellules de granulosa entourée par la membrane basale et contenant en son

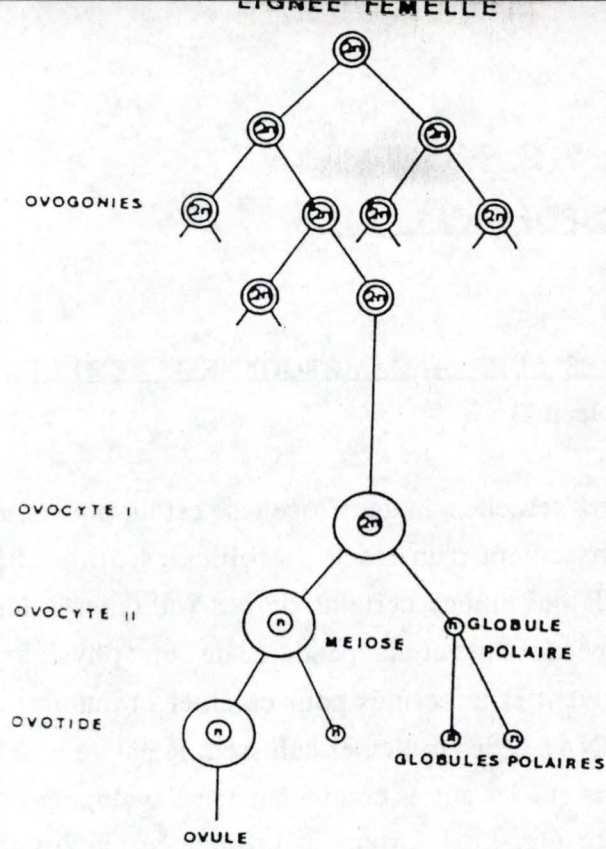


FIGURE 6 Ovogenèse.

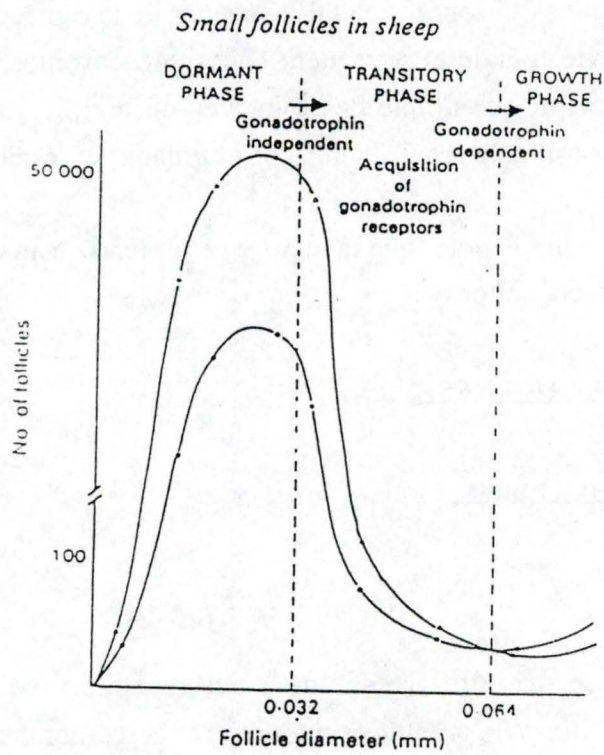


FIGURE 7 La population de petits follicules chez une brebis à taux d'ovulation élevé Romanov (▲) et chez une brebis à taux d'ovulation faible (●) (Cahill et Mauléon, 1981).

centre un ovocyte dont la division s'est arrêtée au stade diplotène de la première prophase meiotique.

b. Considérations générales.

Au moment de la naissance, l'ovaire compte chez la brebis un nombre approximatif de 12.000 à 86.000 follicules primordiaux (Cahill et al, 1979). Ce nombre ne fait que décroître par la suite. En fait, plus aucun follicule n'est formé après la naissance et la dégénérescence commence dès l'apparition des premiers follicules primordiaux (Mauléon et Mariana, 1977). Le nombre de follicules primordiaux varie donc selon l'âge mais aussi selon la race. En comparant des ovaires d'animaux de souches différentes par leur taux d'ovulation certains auteurs soulignent l'existence d'une corrélation négative entre le taux d'ovulation et la population totale de follicules primordiaux (Driancourt et al, 1984).

Les travaux de Cahill et Mauléon (1981) sur la brebis ont montré que la population de petits follicules est morphologiquement hétérogène. Ces auteurs distinguent une population de follicules "dormants" (de 25 à 40.000 selon l'espèce et en relation négative avec la prolificité) de petites tailles et n'évoluant pas et une population de follicules "transitoires" (de 500 à 1.500) plus gros et aptes à commencer la folliculogénèse.

3.2. Initiation de la croissance folliculaire.

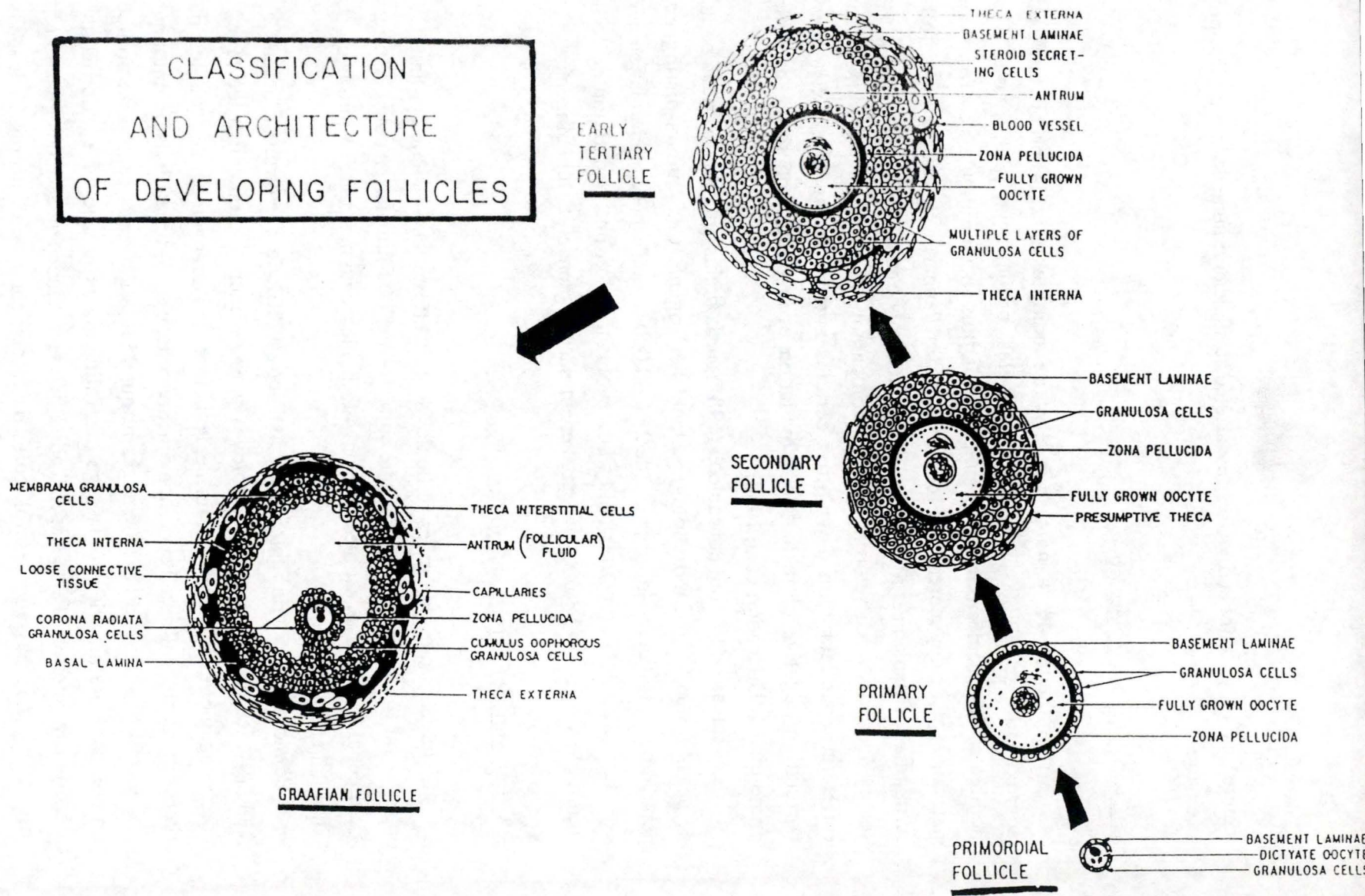
L'entrée en croissance des follicules semble être un phénomène continu. On peut observer sur l'ovaire d'une brebis adulte entre 100 et 500 follicules en cours de croissance (Cahill et al, 1979) et on estime que 3 ou 4 follicules entament chaque jour la croissance (Turnbull et al, 1977).

Le moment exact de l'entrée en croissance est difficile à déterminer. Selon Cahill et al (1979), les critères les plus employés pour estimer le moment de ce réveil sont morphologiques et concernent la forme, le nombre et l'arrangement des cellules; mais le critère le plus objectif reste l'évolution fonctionnelle, c'est-à-dire la division mitotique.

Cahill et Mauléon (1981) suggèrent que l'initiation de la croissance folliculaire comprend en premier lieu le passage des follicules de la catégorie "dormants" à la catégorie "transitoires". Cette étape, si elle a lieu serait indépendante des gonadotropines. Ensuite il y a le passage des follicules de la catégorie "transitoires" à la phase de croissance qui se trouve sous la dépendance des gonadotropines. Ce passage serait plus important chez les brebis avec un taux d'ovulation élevé (fig 7).

Cependant Cahill et Mauléon (1981) précisent que la réserve de follicules transitoires suffit à toute la vie sexuelle de la brebis; il est donc improbable qu'en conditions normales, des follicules dormants entrent en croissance.

FIGURE 8 Structure et classification des follicules en développement (Titeca,1987).



3.3. Croissance folliculaire ou folliculogenese.

Selon Peters (1976, cité par Titeca, 1987), la croissance folliculaire est un phénomène irréversible ; une fois entamée elle va jusque l'ovulation ou l'atrésie.

La croissance folliculaire concerne principalement les cellules folliculaires mais aussi l'ovocyte et le stroma entourant le follicule.

On distingue classiquement les follicules primordiaux, primaires, secondaires, tertiaires et antraux (fig 8).

Les follicules primordiaux comprennent un ovocyte entouré par une seule assise de cellules folliculaires aplaties, elle-même entourée d'une membrane basale.

Les follicules primaires constituent le premier stade de la croissance des follicules. L'ovocyte croît et les cellules folliculaires deviennent cubiques. Une zone acellulaire appelée zone pellucide apparaît autour de l'ovocyte. Elle contient des glycoprotéines et on pense que l'ovocyte et les cellules folliculaires participent conjointement à sa formation.

Dans les follicules secondaires, les cellules folliculaires (ou granulosa) forment un épithélium stratifié par division mitotique. Le diamètre de l'ovocyte et de sa zone pellucide augmente.

Pour atteindre le stade de follicule tertiaire, le stroma entourant le follicule se modifie et forme les thèques folliculaires. Cette zone se différencie ensuite en thèque interne et thèque externe. La thèque interne est richement vascularisée et peut être considérée comme une glande endocrine car elle synthétise des androgènes qui sont convertis en oestrogènes par la granulosa. La thèque externe est faite principalement de tissus conjonctif.

Les follicules antraux ont comme particularité, des cavités remplies de liquide folliculaire sécrété par les cellules de la granulosa. Ces cavités grandissent et finissent par fusionner pour ne former qu'un grand antrum dans lequel fait intrusion le cumulus oophorus qui est une excroissance de la granulosa, formée de quelques assises de cellules folliculeuses entourant l'ovocyte et la membrane pellucide.

Le stade ultime de la croissance du follicule est ainsi atteint. Le follicule porte alors le nom de follicule de De Graaf ou follicule préovulatoire.

Le passage d'un follicule du stade primaire au stade de maturité, est relativement long. Selon Cahill et Mauléon (1980), le temps nécessaire à un follicule pour passer de trois couches de cellules granuleuses (environ 200 cellules) à la taille préovulatoire (3 millions de cellules) est d'environ 6 mois chez la brebis (fig 9).

Il est important de souligner que presque tous les follicules disparaissent par atrésie en cours de croissance, le pourcentage d'atrésies augmentant avec la taille des follicules (Byskov, 1978).

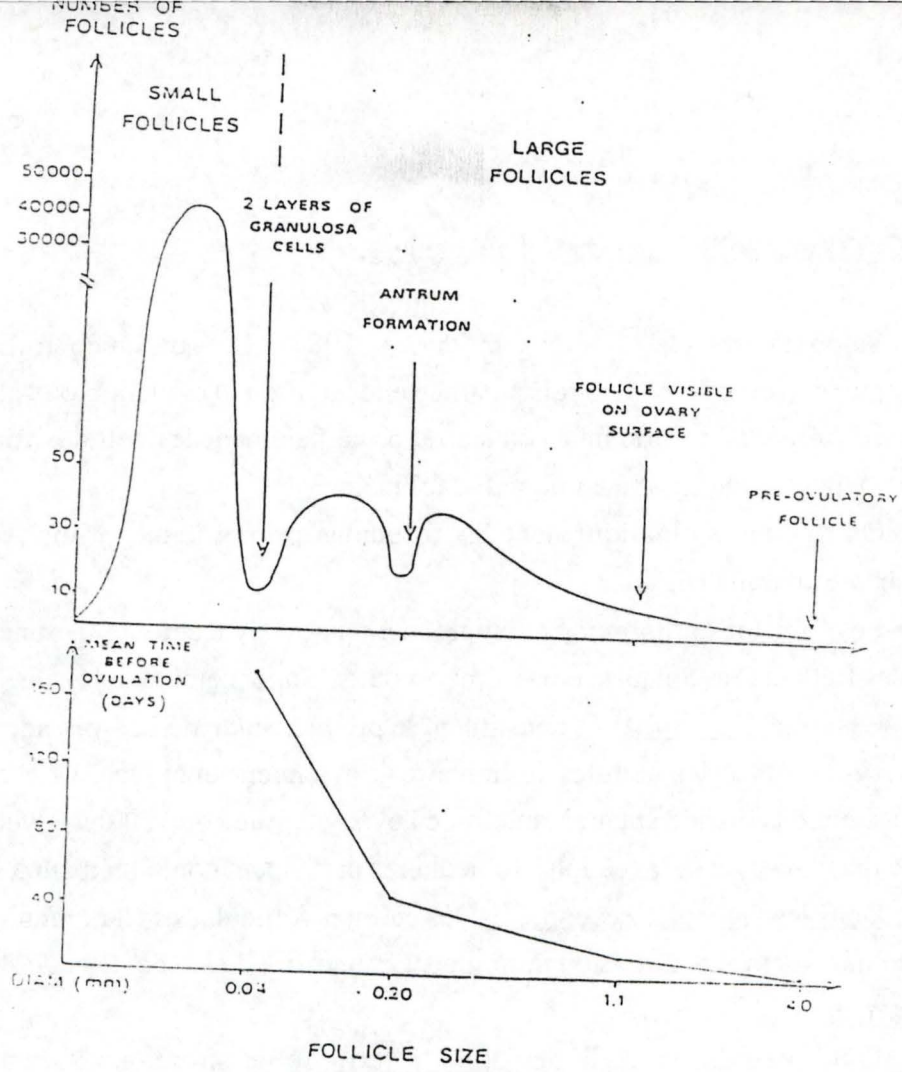


FIGURE 9 : La population folliculaire et les temps de croissance (Cahill et al, 1979).

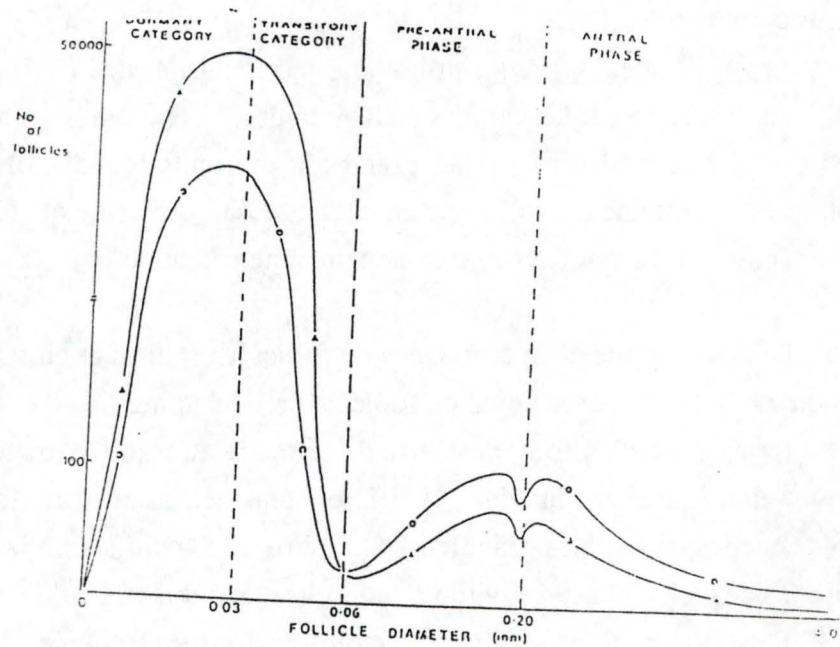


FIGURE 10 : Représentation schématique de la population folliculaire totale de brebis à haut (-o-) et bas (•) taux d'ovulation (Cahill et al, 1979).

Une étude de la population totale des follicules chez des brebis à haut et bas taux d'ovulation a montré qu'il y a plus de follicules à chaque stade et ce pendant l'entièreté de la phase de croissance chez des brebis à taux d'ovulation élevé (Cahill et al, 1979), (fig 10).

4. LA CROISSANCE FOLLICULAIRE TERMINALE.

4.1. Introduction.

La différenciation du follicule qui va ovuler se déroule en deux étapes (Di Zerega et Hodgen, 1981).

LE RECRUTEMENT : c'est le choix d'un ou de plusieurs follicules antraux qui, à un moment donné, vont entamer un processus de croissance rapide.

Parmi tous les follicules recrutés au cours du cycle, quelques-uns seulement atteignent une taille préovulatoire; les autres subissent l'atrésie et disparaissent. Ce phénomène est appelé **LA SELECTION**.

La majorité des follicules dits dominants et qui atteignent en quelques jours une taille préovulatoire vont également régresser et subir l'atrésie. Seulement un ou quelques-uns d'entre eux, qui se développent au cours de la phase folliculaire, vont entamer un processus de **MATURATION** qui les conduira à **L'OVULATION**. Seul le nombre de follicules correspondant au quota ovulatoire de l'espèce considérée échappe à l'atrésie.

Cette phase de croissance terminale des follicules antraux se caractérise par une grande sensibilité de ces derniers aux régulations hormonales et par une nette augmentation de leur activité sécrétoire.

Au cours d'un même cycle, il semble évident que l'on retrouve à certains moments, trois fois par cycle chez la brebis, de plus gros follicules. Il y aurait donc trois vagues de croissance folliculaire. Les follicules appartenant aux deux premières sont voués à l'atrésie et seul ceux de la troisième évoluent jusqu'à l'ovulation (Bister et Paquay, 1983, fig 11). Cette observation est corroborée par la mesure de l'oestradiol plasmatique; ce stéroïde sécrété par les gros follicules apparaît également sous forme de trois vagues au cours du cycle (Bister, 1980).

Pendant la phase lutéale, des follicules atteignent 4 à 7 mm au cours de deux vagues de croissance puis régressent. Ceci démontre que des follicules de taille préovulatoire peuvent se développer en présence de niveaux hormonaux très différents de ceux de la

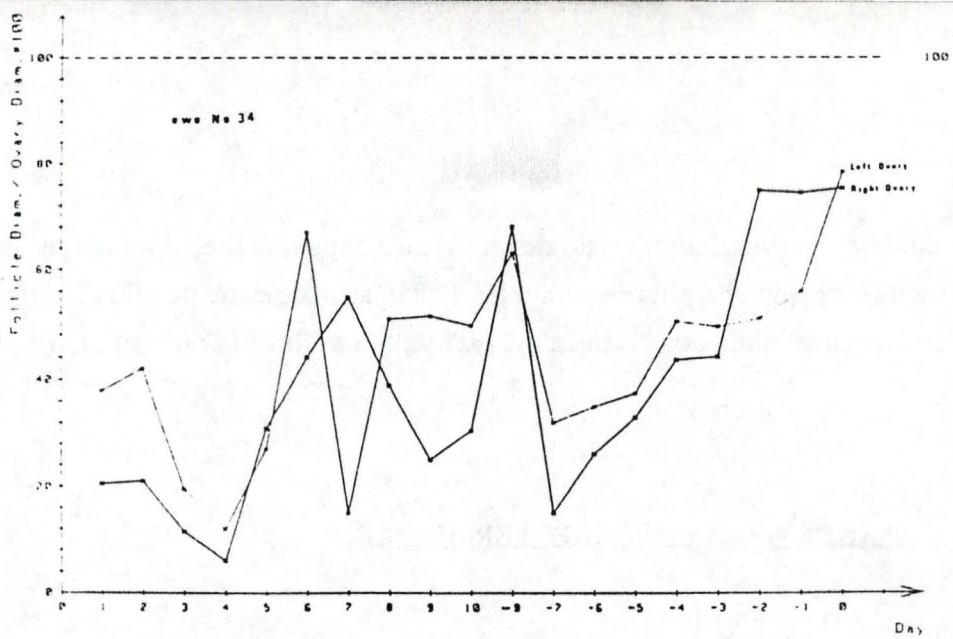


FIGURE 11 : Croissance folliculaire pendant le cycle sexuel de la brebis Texel (Bister et al 1983).

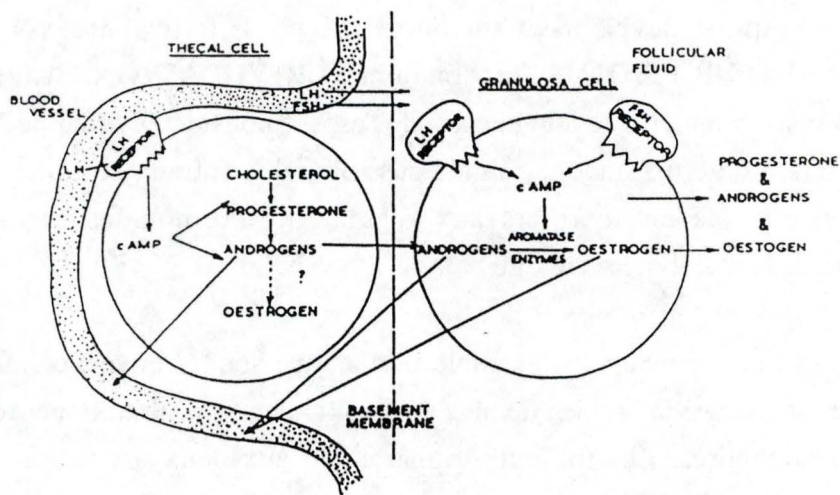


FIGURE 12: Biosynthèse des stéroïdes chez un follicule ovulatoire (Webb et Gauld, 1984).

phase folliculaire (Smeaton et Robinson, 1971). Mais le recrutement du groupe de follicules parmi lesquels se trouve celui (ceux) qui ovulera (ront) se produit pendant la phase folliculaire.

Notre intérêt se portera donc essentiellement sur cette dernière vague de croissance.

4.2. Differentiation fonctionnelle.

Au cours de la croissance terminale, le follicule antral passe par deux stades déterminés en fonction du principal stéroïde sécrété (Webb et Gauld, 1984; fig 12).

- Le stade **ANDROGENIQUE** : le follicule possède des récepteurs membranaires spécifiques à la FSH (au niveau de la granulosa) et à la LH (au niveau de la thèque) La capacité de convertir les androgènes en oestrogènes est limitée.

- Le stade **OESTROGENIQUE** : le follicule acquiert des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa et la capacité de convertir les androgènes en oestrogènes grâce à une aromatasase.

4.3. Etapes de la croissance folliculaire terminale.

a. Recrutement.

En ce qui concerne la nature des follicules recrutés plusieurs résultats suggèrent que seuls les follicules de plus de 2 mm de diamètre peuvent entamer leur croissance terminale: d'une part, le suivi de la croissance individuelle des follicules par marquage à l'encre de chine montre que le(s) follicule(s) qui ovule(nt) a (ont) au moins 2mm de diamètre au moment de la lutéolyse naturelle (Driancourt et al, 1984). D'autre part, la cautérisation des gros follicules n'affecte pas l'ovulation si quelques follicules de plus de 2 mm sont laissés sur l'ovaire mais la retarde si tous les follicules de plus de 2 mm sont supprimés (Tsonis et al, 1984).

Le moment du recrutement a fait l'objet de nombreuses recherches. Chez la brebis, une hémicastration au 14ème jour du cycle n'affecte ni le moment, ni le nombre d'ovulations alors que la même opération réalisée le 16ème jour retarde l'ovulation (Land et al, 1973).

D'autre part, si on induit la régression du corps jaune par une injection de prostaglandines, un follicule capable de générer un pic de LH est présent 48 heures plus tard (Acritopoulou et al, 1977).

Ces résultats montrent que le recrutement commence aux environs de 48 heures avant le pic préovulatoire de LH et suggèrent qu'il coïncide avec la lutéolyse. Des résultats comparables ont été observés chez la femme (Nillson et al, 1982; cités par Driancourt et

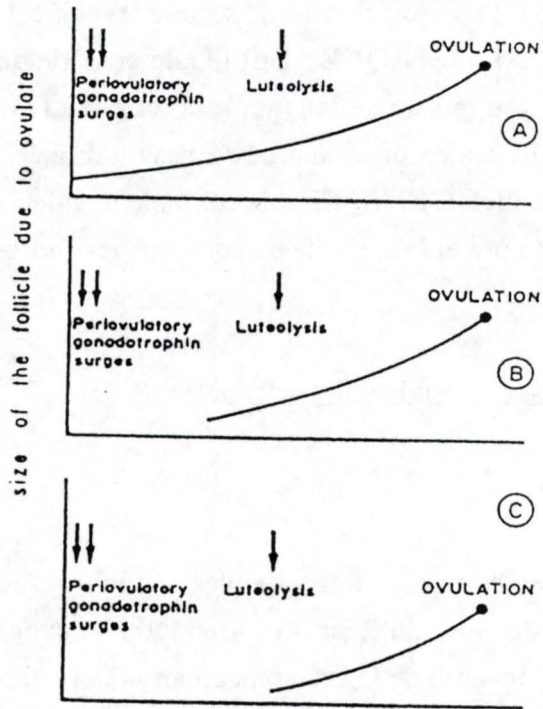


FIGURE 13 : Les différents moment du recrutement : A. Chez le rat.

(Driancourt et al,1984)

B. Chez la jument.

C. Chez la femme, la brebis et le singe.

al, 1984) et chez le singe (Goodman et Hodgen, 1979, cités par Driancourt et al, 1984). Mais chez le rat, le recrutement commence au moment de l'ovulation précédente (Hirschfield et Midgley, 1978; cités par Driancourt et al, 1984) et chez la jument, il commence pendant la fin de la phase lutéale (Driancourt et al, 1984, fig 13).

Le nombre de follicules recrutés semble dépendant du taux sanguin de FSH au cours des 24 heures précédant la lutéolyse (Baud et Webb, cités par Driancourt et al, 1985).

Cependant, comme nous l'avons vu, le recrutement est centré sur la lutéolyse. Or, pour la FSH, il n'y a pas de modifications majeures du taux sanguin après la lutéolyse (Cahill et al, 1981), tandis que les pulses de LH s'accroissent; ceci laisse penser que la LH joue un rôle primordial dans le recrutement (Goodman et Karsh, 1980). Il semble que les follicules doivent d'abord être imprégnés avec de la FSH avant d'être capables de répondre à la LH. En effet, chez la brebis Ile-de-France, une injection de LH seule est incapable d'induire l'ovulation pendant l'anoestrus profond. Par contre une séquence FSH puis LH est efficace (Oussaid, 1982).

Des produits de sécrétion ovarienne peuvent moduler l'action des gonadotropines. Cahill et al (1985; cités par Philippon, 1988) ont montré que chez la brebis, il existe dans le fluide folliculaire un facteur antimitotique empêchant les follicules de dépasser le stade de 2mm de diamètre. Mais le fluide folliculaire utilisé provenait d'un pool de follicules prélevés à l'abattoir ce qui rend difficile l'interprétation physiologique.

Le recrutement serait aussi limité par une protéine du fluide folliculaire appelée FGI (Follicular Growth Inhibiting factor); elle serait synthétisée par les gros follicules sains et agirait en modulant l'action des gonadotropines (Driancourt et al, 1985).

b. Sélection et apparition du follicule dominant.

Les follicules recrutés sécrètent d'avantage d'oestrogènes et d'inhibine. Ces hormones exercent un feed back négatif sur la sécrétion de FSH avec comme conséquence une diminution de la concentration plasmatique de FSH et donc l'apparition d'un milieu défavorable à la croissance folliculaire.

L'hypothèse de **LA STABILITE** suggère que lorsque un follicule est assez grand ou a atteint un taux suffisant de maturation, il reste à un stade d'équilibre, et ne répond plus à une diminution du taux de FSH qui conduit les autres à l'atrésie. Les follicules destinés à ovuler seraient protégés par la présence de FSH et d'oestradiol dans le fluide antral (Ireland, 1987).

L'hypothèse de **L'ELIMINATION** préconise qu'un follicule d'une taille donnée et à un état de maturation avancé inhibe la croissance des autres. Ce follicule sécréterait un

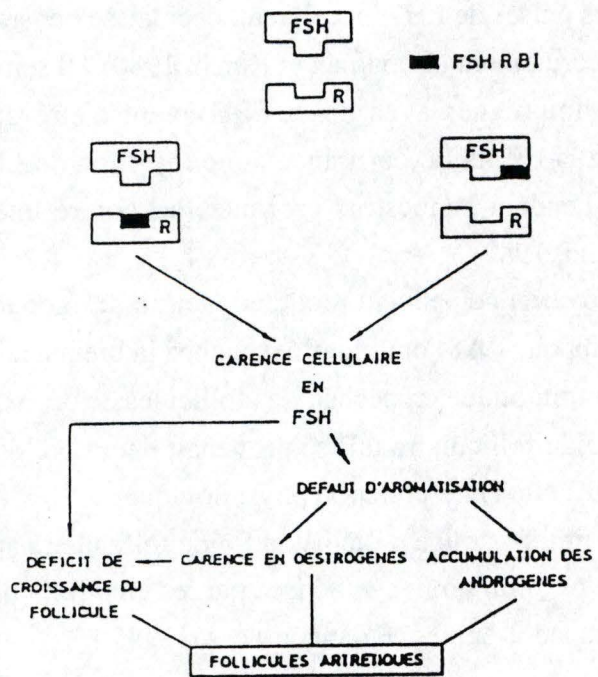


FIGURE 14 : Action de la FSH-RBI (Darga et Reichert, 1979).

facteur agissant directement au niveau ovarien en inhibant la réponse des autres follicules aux gonadotropines (Di Zerega et Hodgen, 1980). Cette hypothèse a été prouvée par Di Zerega et Hodgen (1981) sur le singe. Ces auteurs ont en effet montré qu'une supplémentation par FSH en milieu et fin de phase folliculaire, au moment de la sélection chez le rhésus, n'est pas suffisante pour abolir la sélection. Au lieu d'être strictement passive, la sélection aurait donc une composante active.

Quelques substances pouvant être impliquées dans le processus de sélection ont été trouvées dans le fluide du follicule dominant (Di Zerega et al, 1983) chez la femme, dans le sang de la veine ovarienne drainant ce follicule (Di Zerega et al, 1982) et dans le fluide folliculaire de la brebis (Cahill et al, cités par Driancourt et al, 1985).

Ces composés sont principalement des protéines au rôle antiaromatisant, comme par exemple: la FSH-RBI (FSH-Receptor binding inhibitor) mise en évidence par Darga et Reichert (1979) qui empêche la fixation de la FSH sur son récepteur (fig 14), ou la FRP (Follicular Regulator Protein) qui supprime la réponse folliculaire aux gonadotropines circulantes.

c. L'atrésie.

L'atrésie peut être définie comme un arrêt de la croissance suivi de la dégénérescence cellulaire jusqu'à résorption du stroma ovarien.

Selon Webb et Gauld (1984), les signes de l'atrésie sont la picnose des noyaux des cellules de la granulosa suivie de la dégénérescence de ces cellules, l'effondrement de la théque interne, la diminution du nombre de récepteurs aux gonadotropines et la diminution de l'activité de l'aromatase, ce qui a pour conséquence une diminution de la production d'androgènes.

L'activité aromatasase des follicules est diminuée par un médiateur local (une protéine du fluide folliculaire du gros follicule) ou par une sensibilité plus grande des follicules au taux de FSH qui diminue. Ces follicules produisent donc des androgènes qui ne sont plus transformés en oestrogènes. Cette accumulation d'androgènes au sein du follicule inhibe la division des cellules de la granulosa (Hiller et Ross, 1979, cités par Titeca, 1987), réduit la sensibilité du follicule aux hormones gonadotropes (Farookhi, 1980) et diminue encore l'activité de l'aromatase (Hillier et al, 1980).

L'atrésie des follicules peut donc être déclenchée par toute une série de protéines anti-aromatases du follicule dominant et entretenue par la synthèse des androgènes.

C. L'OVULATION.

L'ovulation est un phénomène biologique complexe correspondant à la transformation meiotique de l'ovocyte, à la rupture du follicule et à la libération d'un ou plusieurs gamètes prêts à être fécondés.

1. MÉCANISMES DE L'OVULATION.

1.1. Mécanismes hormonaux.

Puisque les follicules se développent jusqu'à une taille proche de la taille préovulatoire même en période d'anoestrus saisonnier, les mécanismes contrôlant l'ovulation sont différents de ceux contrôlant la croissance folliculaire.

L'ovulation est le résultat de l'action des gonadotropines hypophysaires au niveau ovarien; en effet, l'hypophysectomie de la brebis adulte a pour résultat une réduction de la population et du taux de croissance folliculaire ainsi qu'une inhibition de l'ovulation (Dufour et al, 1979).

De plus, l'injection de gonadotropines exogènes (PMSG par exemple) est connue depuis longtemps comme ayant un effet stimulateur sur l'ovaire (Cole et Hart, 1930; cités par Cahill et al, 1981).

La LH est considérée comme étant le principal facteur déclenchant l'ovulation (Brännström, 1988) mais l'émission concomitante de FSH semble être cruciale pour le recrutement des follicules (Hoak et Schwartz, 1980 ; cités par Brännström, 1988).

Le rôle du pic préovulatoire de LH a été confirmé par différents types d'expériences. L'ovulation peut être bloquée *in vivo* chez la ratte par de l'antisérum contre la LH (Swartz et al, 1975 cités par Brännström, 1988). De même en immunisant des rattes contre la GnRH, Koch et al (cités par Philippon, 1988) suppriment la LH et la FSH et bloquent l'ovulation mais une injection de LH seule suffit à rétablir l'ovulation.

De nombreuses expériences d'induction de l'ovulation en situation d'anoestrus léger vont dans le même sens: Goodman et Karsh (1981) et Mc Natty et al (1981) induisent des ovulations à contre saison chez la brebis en injectant de la LH ou de l'hCG (gonadotropine chorionique humaine qui a une action comparable à la LH) .

Cependant il existe une période où l'injection de LH seule ne peut pas induire l'ovulation ; cette période dite d'anoestrus profond est associée à une faible sécrétion endogène de FSH (Oussaid, 1982 chez la brebis ; Bour et al, 1984, chez la jument) .

L'ovulation est donc déclenchée par le niveau élevé de LH observé au moment de l'oestrus, la FSH n'intervenant indirectement que pour permettre la différenciation du follicule préovulatoire.

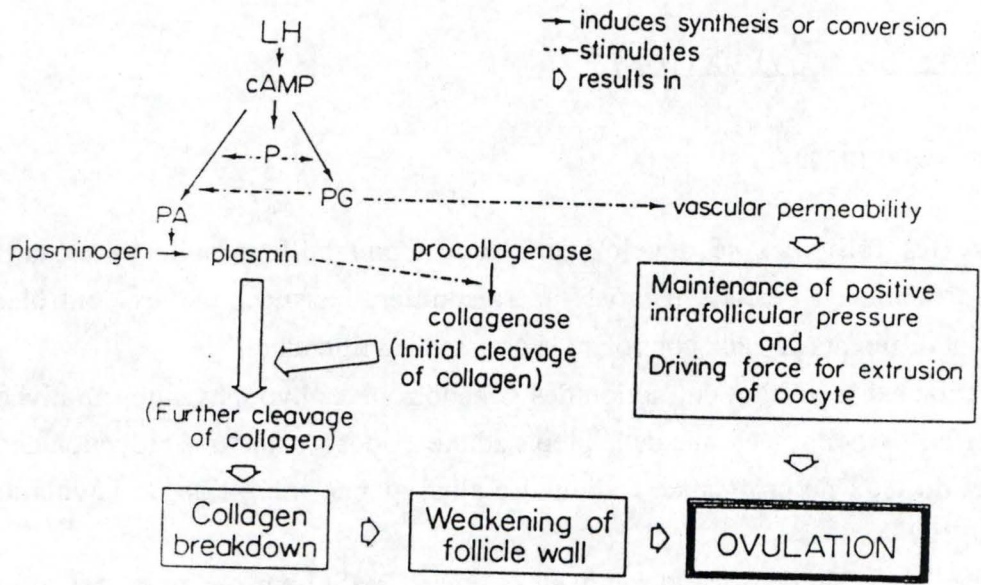


FIGURE 15 : Modèle simplifié du processus ovulatoire. (Bränström, 1988).

1.2. Mécanismes biochimiques.

Le pic préovulatoire de LH induit au niveau du follicule une cascade de phénomènes biochimique qui le conduisent à l'ovulation.

Cette cascade ovulatrice fait intervenir l'AMPcyclique (Brännström et al, 1987), la PGF2a (Brännstöm et al, 1987), la progestérone et la collagénase (Brännström et al, 1988) comme médiateurs essentiels.

Un schéma simplifié des mécanismes qui conduisent à l'ovulation a été proposé par Brännström (1988, fig 15) : la LH agit en se liant à un récepteur spécifique présent sur la thèque interne et sur les cellules de la granulosa. Cette liaison active certains systèmes de seconds messagers qui sont responsables de l'initiation des événements qui interviennent dans le processus ovulatoire.

Actuellement, deux voies différentes sont connues; celle de l'AMPcyclique et celle des phosphoinosides. La voie de l'AMPc semble primordiale car son activation directe , par de la forskoline, conduit à l'ovulation. Cependant les deux voies semblent se croiser dans le processus ovulatoire.

L'AMPc , en initiant une cascade de phosphorylation, induit la synthèse de l'activateur du plasminogène (PA), de progestérone (P4) et de prostaglandines (PG). Le rôle essentiel de la P4 est d'amplifier la synthèse de PA et de PG induite par la LH.

Le PA scinde le plasminogène en plasmine et cette dernière a pour propriétés de convertir la protocollagénase en collagénase . Les enzymes protéolytiques (collagénase et plasmine) attaquent les liens intercellulaires et permettent l'amincissement de la paroi folliculaire.

Les PG ont pour rôle principal d'augmenter la perméabilité vasculaire ce qui est important pour maintenir la pression intrafolliculaire à un niveau suffisamment élevé pour permettre la rupture de la paroi folliculaire et l'expulsion de l'ovocyte.

2. LES FACTEURS DE VARIATION DU TAUX D'OVULATION.

De nombreux facteurs physiologiques et environnementaux influencent le taux d'ovulation. Nous nous limiterons ici à l'étude des variations hormonales et des variations dues à la race.

TABLEAU 3 : Différents composés non stéroïdaux mis en évidence dans le fluide folliculaire et modulant la différenciation terminale du follicule (Philippon, 1988).

Facteur	Origine - espèces	Action	Références
Inhibine	granulosa des gros follicules toutes espèces	- inhibe la sécrétion de FSH - inhibe la sécrétion d'E2 due à FSH	de Jong & Sharpe 1976 Ying et al. 1986b
Gn Surge Inhibiting Factor	? - porc	- inhibe le pic préovulatoire de gonadotrophines	Littman & Hodgen, 1984 Danforth et al 1987
Facteurs de croissance - EGF	? - toutes espèces	- inhibe la sécrétion d'E2 basale et due à FSH - inhibe l'acquisition de récepteurs à LH due à FSH - stimule la multiplication des cellules granuleuses	Hsueh et al. 1981 Shomberg et al. 1983 Knecht & Catt. 1983 Gospodarowicz & Bialecki 1979 Hsueh et al. 1984
- FGF	? - toutes espèces	- inhibe l'acquisition de récepteurs à LH due à FSH - stimule la multiplication des cellules granuleuses	Gospodarowicz & Bialecki 1979 Hammond & Biswas 1987

toutes espèces : porcins, ruminants domestiques, rongeurs de laboratoire et primates.

2.1. Variations hormonales.

a. Les gonadotropines hypophysaires.

Le rôle des gonadotropines dans la détermination du nombre d'ovulations est difficile à cerner.

Une approche de ce problème consiste à chercher des associations entre des taux d'ovulation supérieurs à la normale (races prolifiques) et la sécrétion de gonadotropines de ces animaux. Cette approche est cependant limitée car, si elle permet de mettre en évidence une association, elle ne peut pas déterminer une relation de cause à effet entre un niveau de gonadotropines élevé et un taux d'ovulation supérieur à la normale.

a.1. La FSH.

La FSH a une action positive sur tous les stades de la croissance folliculaire et semble protéger les follicules contre l'atrésie. De plus, comme il sera développé plus tard, l'injection de FSH exogène augmente le taux d'ovulation. Cependant son rôle dans la détermination du nombre d'ovulations est difficile à cerner.

Lahlou-Kassi et al (1984) ont observé que la brebis D'Man (race prolifique) a une concentration plasmatique en FSH plus élevée que la Thimadhite en fin de phase folliculaire, pendant le pic préovulatoire et le second pic de FSH.

De même Cahill et al (1984) ont montré que le second pic de FSH qui apparaît 20 à 30 heures après le pic préovulatoire est significativement plus grand chez la brebis Romanov (race prolifique) que chez l'Ile-de-France. Ils soulignent en plus une corrélation entre l'amplitude de ce second pic et le nombre de follicules à antrum présents sur l'ovaire 15 jours plus tard.

Mais toutes les races prolifiques ne sont pas caractérisées par un taux élevé de FSH en phase folliculaire; Webb et England (1982) ne relèvent aucune différence entre la brebis Finnoise et la race témoin.

Aucune corrélation entre le taux de FSH plasmatique et le taux d'ovulation n'a été mise en évidence entre brebis d'une même race (Cahill et al, 1979; Findlay et Cumming, 1976).

Mc Natty et al (1985, cités par Philippon, 1988) montrent cependant que les brebis Romney ayant 2 ovulations ont un taux de FSH plus élevé pendant les 48 heures précédant la lutéolyse que celles n'ayant qu'une ovulation.

TABLEAU 3 : suite.

- TGF α		toutes espèces	- inhibe la production d'E2 due à FSH	Adashi & Resnick 1986
- TGF β	antagonisme	toutes espèces	- stimule la production d'E2 due à FSH - stimule l'acquisition des récepteurs à LH - stimule la sécrétion de FSH	Adashi & Resnick 1986 Ying et al. 1986 a et b Kim et al. 1987 Dobson & Shomberg 1986
- IGF		granulosa des gros follicules (truite > 6 mm)	- stimule la multiplication des cellules granuleuses	Barano & Hammond 1983 Adashi et al. 1985 Hammond et al. 1985
Facteurs angiogéniques		granulosa et cellules lutéales porc-rongeurs de laboratoire	- stimule la vascularisation	Makris et al. 1984 Blake & Koos 1987 Rone et al. 1987 Halvorson et al. 1987
VIP		ovaire rats - primates	- stimule la production d'E2 basale et de P4	Davoren & Hsueh 1985 Silavin 1987
GnRH-like		granulosa, corps jaune rats-bovins-ovins-homme	- inhibe la production d'E2 en réponse à FSH - inhibe l'acquisition de récepteurs à LH due à FSH	Aten et al. 1987 Hsueh & Erickson 1979 Hsueh et al. 1984 Sharpe 1982 Ireland et al. 1987

a.2. La LH.

L'intervalle entre le début de l'oestrus et le pic préovulatoire de LH a souvent été corrélé avec le taux d'ovulation (Land et al, 1973). Mais cet intervalle ne peut vraisemblablement pas être déterminant du taux d'ovulation puisque au début de l'oestrus les follicules qui vont ovuler ont déjà été déterminés (Cahill et al, 1979).

La LH montre uniquement une variation significative entre les races au jour 9 et 11 après le pic de LH ; les niveaux sont significativement plus élevés chez la Romanov que chez l'Ile-de-France (Cahill et al, 1981). Un niveau élevé de LH à ce moment du cycle, chez les brebis a taux d'ovulation élevé a aussi été souligné par d'autres publications (Land et al, 1973).

Une relation entre la LH, l'atrésie et le taux d'ovulation a également été montré par Cahill et al (1981). Ceci suggère que la sélection finale des follicules qui vont ovuler ou qui deviennent atrétiques est sous la dépendance de la LH. Cependant la relation entre le nombre de follicules atrétiques et le taux d'ovulation est positive et non pas négative comme on pourrait s'y attendre (Cahill et al, 1981).

La concentration moyenne basale de la LH ainsi que la valeur maximale du pic préovulatoire est significativement plus grande chez la Thimadhite que chez la D'Man (Lahlou-Kassi et al, 1984). Cette différence observée pour le pic de LH entre les 2 races peut être expliquée par l'hypothèse de Land (1976) et de Baird et Mc Neilly (1981) qui dit que les races prolifiques sont moins sensibles au feed back des oestrogènes que les races peu prolifiques.

b. Les stéroïdes ovariens.

b.1. Les oestrogènes.

Les oestrogènes agissent en synergie avec la FSH pour favoriser certains stades de la croissance folliculaire et protéger les follicules contre l'atrésie. Il existe des récepteurs aux oestrogènes sur les cellules des follicules chez la brebis (Philippon, 1983). Il n'est donc pas improbable que les oestrogènes aient une influence sur le taux d'ovulation.

La concentration en oestrogènes et le taux d'ovulation peuvent présenter une importante corrélation car il a été suggéré que la sensibilité du feed back des oestrogènes sur la sécrétion de LH pourrait être en relation avec le taux d'ovulation (Land, 1976).

Scaramuzzi et Land (1976) n'ont pas trouvé de différence au point de vue concentration en oestrogènes chez des brebis a taux d'ovulation différent. Par contre, Cahill et al (1981) ont établi une corrélation positive entre le niveau plasmatique d' E217b, plus élevé chez la Romanov que chez l'Ile-de-France et le nombre élevé de follicules

TABLEAU 3 fin.

FSH binding inhibitor	petits follicules bovins-porcins-homme	- inhibe la fixation de FSH à ses récepteurs → inhibe la production d'AMPc et l'acquisition de récepteurs à LH	Darga & Reichert 1978 Sluss & Reichert 1984 Sluss et al. 1983 Flechter et al. 1982
Follicular Regulatory Protein	granulosa des gros follicules porcins-bovins-homme	- inhibe l'augmentation de poids ovarien et la production d'E2 due à hMG - inhibe l'activité aromatase	di Zerega et al. 1982, 1983a,b Kling et al. 1984 di Zerega & Wilks 1984 Chicz et al. 1984
Follicular Growth Inhibitor	? "facteur(s)" non déterminé brebis	- diminue l'index mitotique des cellules granuleuses des folli- cules de plus de 2 mm de dia- mètre	Cahill et al. 1985
"Maturation stimulator"	? gros follicules - facteur(s) non déterminé - truie	- stimule la sécrétion basale d'E2	Ledwitz-Rigby & Rigby 1981 Ledwitz-Rigby et al. 1982 Ledwitz-Rigby 1983
"Maturation inhibitor"	? petits follicules- facteur(s) non déterminé - truie	- inhibe l'activité adénylate cyclase	Ledwitz-Rigby & Rigby 1981 Ledwitz-Rigby et al. 1981 Rigby et al. 1983
Protéine de faible P.M	? petits follicules truie	- inhibe les productions d'E2 et de P4 dues à FSH	Kigawa et al. 1986
Composés d'origine thécale	thèque	- stimule la prolifération des cellules granuleuses	Makris et al. 1983 Mc Natty et al. 1980

préovulatoires. Mais ce taux semble être une conséquence plutôt qu'une cause puisque ce sont les gros follicules qui sécrètent cette hormone (Baird et Scaramuzzi, 1976).

b.2. Les androgènes.

Les androgènes renforcent l'atrésie chez la ratte (Louvét et al, cités par Phillipon, 1983) et inhibent l'apparition de récepteurs à la LH (Farooki, 1980).

En général, les androgènes s'opposent à l'action de la FSH et des oestrogènes sur les cellules de la granulosa du follicule en croissance (Farookhi, 1980). De plus, ils exercent un contrôle positif sur la sécrétion d'inhibine (voir ci dessous, Henderson et Franchimont, 1981 et 1983, cités par Henderson et al, 1984). Les androgènes ont donc probablement une influence négative sur le taux d'ovulation.

La concentration de protéines plasmatiques liant les androgènes est plus élevée chez la brebis Romanov que chez la brebis Ile-de-France (Terqui et al, 1973). Le taux d'androgènes libres semble donc corrélé négativement avec la prolificité.

Scaramuzzi et Radford (1983) notent un niveau élevé d'androstènedione pendant la période périovulatoire chez la brebis Booroola Mérino; la signification de ce niveau élevé n'est pas clair mais peut être mise en relation avec une diminution de la capacité des cellules de la granulosa à aromatiser les précurseurs des androgènes (Scaramuzzi et Radford, 1983).

c. L'inhibine.

L'inhibine est produite par les cellules de la granulosa et est présente en grande concentration dans le fluide folliculaire.

Cummins et al (1980) ont montré que le contenu en inhibine des ovaires des Booroola Mérinos est seulement le tiers de celui des Mérinos (moins prolifiques).

Lorsque des brebis Mérinos sont immunisées contre une préparation purifiée de fluide folliculaire bovin, le taux d'ovulation est supérieur (Cummins et al, 1986). Ces résultats suggèrent que l'inhibine est impliquée dans la régulation du taux d'ovulation, mais on ne sait si son action est directe ou passe par l'intermédiaire de la baisse du taux de FSH (Scaramuzzi et Radford, 1983); en effet, l'inhibine exogène a pour effet de diminuer le taux de FSH mais pas celui de LH (Findlay et al, 1981) chez la brebis.

d. Conclusion.

Les facteurs qui agissent dans la régulation du taux d'ovulation sont difficiles à cerner. Les différentes données sur les variations hormonales ne semblent pas fournir de renseignements satisfaisants ; c'est pourquoi de nombreux chercheurs se sont orientés

RACE	ORIGINE	TAUX D'OVULATION
BOORoola (Mérinos)	AUSTRALIE	2.68±0.11
D'MAN	MAROC	2.50±0.45
FINNOISE	FINLANDE/RUSSIE	3.31±0.17
HU YANG	CHINE	3.11±0.18
ROMANOV	RUSSIE	2.86±0.23

TABLEAU 4 : Les différentes races de Brebis prolifiques connues et leurs taux d'ovulation (Scaramuzzy et Radford, 1983).

vers l'étude des protéines du fluide folliculaire. Ces protéines sont les moteurs profonds de la régulation du taux d'ovulation et entraînent les hormones classiques dans leur sillage puis leur laissent le contrôle final de l'ovulation. (tableau 3).

2.2. Variations liées à la race.

La grande majorité des races domestiques ont un taux d'ovulation compris entre 1 et 2, et 5 races seulement ont un taux d'ovulation approchant ou pouvant dépasser 3 (Scaramuzzi et Radford, 1983; tableau 4).

L'augmentation du taux d'ovulation est souvent accompagnée d'une élévation de la variabilité individuelle du nombre d'ovulations ; en effet des brebis présentant 5 ou 6 ovulations ont été observées en races prolifiques (Lahlou-Kassi et Marie, 1981)

Différentes observations réalisées sur les brebis Booroola, Romanov et Finnoises ont permis de constater que ces races diffèrent dans les mécanismes physiologiques aboutissant à un taux d'ovulation élevé.

a. La brebis Romanov.

Driancourt et al (1985) a étudié la cinétique de la croissance folliculaire par endoscopies répétées et tatouage des follicules; ils ont pu constater que le nombre de follicules de plus de 2mm de diamètre entamant une phase de croissance rapide entre le 13ème et le 15ème jour du cycle (lutéolyse provoquée le 14ème jour) est 3 fois plus élevé chez la Romanov que chez l'Ile-de-France.

Par contre le pourcentage de perte par atresie parmi ces follicules entre le 15ème jour et le début de l'oestrus est le même (Driancourt et al, 1985).

La brebis Romanov est donc caractérisée par une croissance folliculaire de type recrutement d'un nombre élevé de follicules suivi d'une sélection normale (fig 16).

b. La brebis Finnoise.

L'examen d'ovaires prélevés 2 jours après la lutéolyse induite ne montre aucune différence du nombre total de follicules de plus de 2mm de diamètre entre la brebis Finnoise et les races témoins (Driancourt et al, 1986)

Le nombre de gros follicules qui entament la croissance terminale est le même mais la perte par atresie est moindre (Driancourt et al, 1986)

La brebis Finnoise atteint donc un taux d'ovulation élevé grâce à une croissance folliculaire terminale de type recrutement normal suivi d'une sélection diminuée (fig 16).

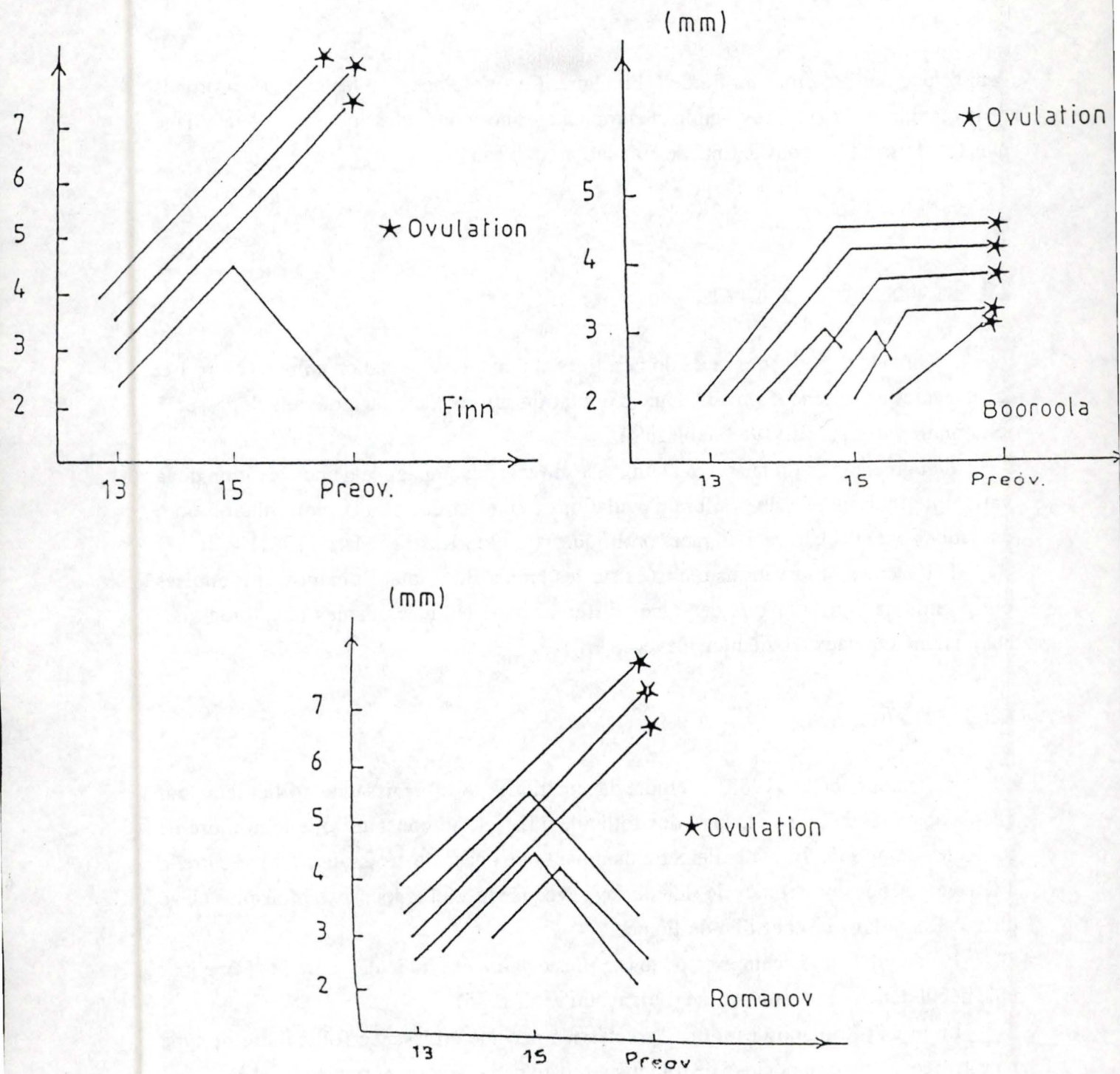


FIGURE 16 : La croissance folliculaire terminale de différents modèles de brebis prolifiques (Driancourt et al 1985 et 1986).

c. La brebis Booroola.

Contrairement aux races précédentes, la brebis Booroola a un taux d'ovulation élevé qui n'est pas dû à un ensemble de gènes à effet additifs mais à la présence d'un seul gène majeur (ou groupe de gènes liés) appelé gène de fécondité (gène F), (Bindon, 1984).

La cinétique de la croissance folliculaire terminale a été étudiée par Driancourt et al (1985). Le nombre de follicules antraux qui entament la croissance terminale est le même chez la Booroola que chez la Mérinos témoin, mais ce recrutement concerne les follicules de taille légèrement inférieure (1.5mm au lieu de 2mm). La perte par atresie est nettement inférieure, les follicules atteignent très tôt la taille préovulatoire et peuvent se maintenir jusqu'au pic préovulatoire de gonadotropines. Il peut également y avoir recrutement de nouveaux follicules en présence de follicules déjà préovulatoires.

Le taux d'ovulation des brebis Booroola résulte donc d'une croissance folliculaire terminale de type recrutement inchangé à la lutéolyse mais prolongé jusqu'à l'oestrus suivi d'une faible sélection, associée à la capacité des follicules mûrs d'attendre le signal préovulatoire. Le phénomène de dominance n'existe pas chez la Booroola (fig 16).

La comparaison des brebis Booroola homozygote pour le gène F (FF) et des brebis homozygotes non porteuses du gène F (++) a permis l'observation suivante : les homozygotes FF ont des follicules avec un niveau d'AMPc supérieur à celui observé dans les follicules de même taille présents sur l'ovaire d'une homozygote ++ (Mc Natty et al, 1986). De plus les follicules des brebis FF sont plus sensibles à la FSH et à la LH (Henderson et al, cités par Mc Natty et al, 1987; Mc Natty et al, 1986). Bindon (1984) a émis l'hypothèse que l'hypophyse est le site d'expression principal du gène F.

d. Conclusions.

Les différentes races prolifiques connues atteignent des taux d'ovulation élevés grâce à des stratégies différentes. Elles ont en commun la petite taille de leurs follicules préovulatoires (Romanov: Driancourt et al, 1986; Finnoise : Webb et Gauld, 1985; Booroola : Mc Natty et al 1987).

Land (1979) pense que les variations génétiques naturelles du taux d'ovulation proviennent des variations de la sensibilité de l'hypothalamus et de l'hypophyse à l'effet feed-back des stéroïdes gonadiens.

D. MAITRISE DE LA REPRODUCTION CHEZ LA BREBIS.

1. INTRODUCTION.

La connaissance du cycle sexuel de la brebis permet d'envisager divers traitements dont le but est de provoquer une ovulation fertile à un moment choisi. Cela permet de synchroniser les cycles des animaux du troupeau, d'induire en cours d'anoestrus une ovulation fertile accompagnée de chaleurs et d'augmenter le nombre d'ovulations par brebis .

La séquence des événements intervenant dans le contrôle naturel du cycle oestral montre qu'il devrait théoriquement être possible d'agir à différents niveaux afin de provoquer l'ovulation artificiellement :

- L'injection de PGF2a pourrait induire la lutéolyse chez la brebis en cycle et provoquer une ovulation précoce.
- L'injection de progestérone entraînerait une inhibition de l'ovulation jusque la cessation du traitement.
- L'injection de LH et de FSH ou d'un analogue induirait l'ovulation au moment souhaité.
- L'injection de GnRH provoquerait un pic de LH et de FSH et par là l'ovulation.
- Les facteurs environnementaux provoqueraient, via le système nerveux, des modifications dans la sécrétion de GNRH.

Nous nous limiterons ici à l'étude des trois premiers points.

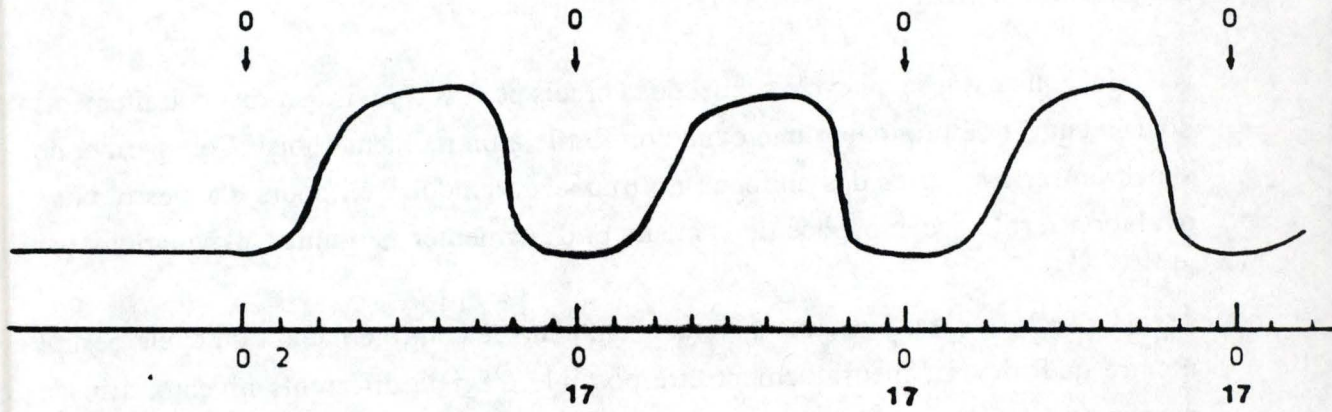
2. LE CONTROLE DU CYCLE ET L'OVULATION.

Lorsqu'on envisage le contrôle artificiel de l'ovulation, il faut distinguer une synchronisation chez les animaux en cycle et une induction chez les animaux en anoestrus.

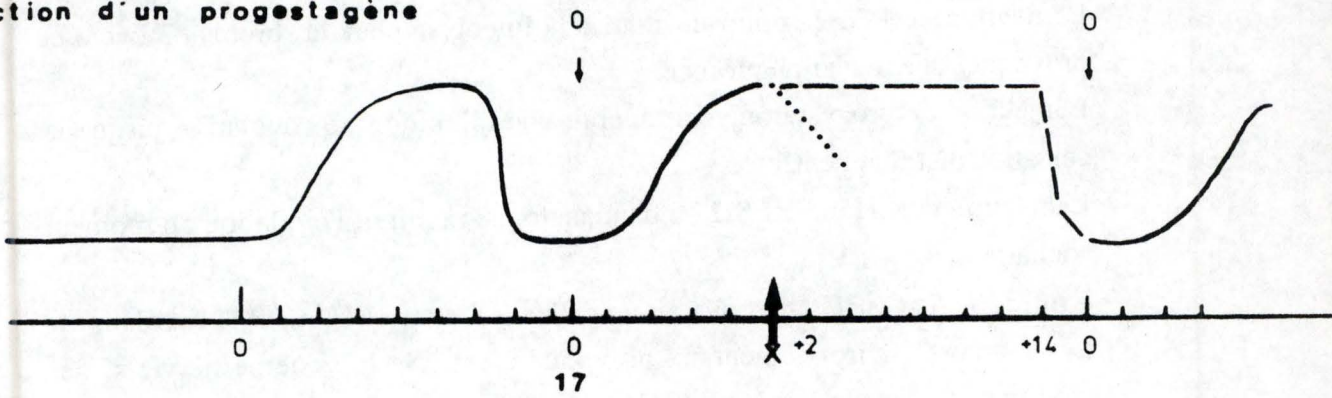
2.1. Synchronisation du cycle.

La synchronisation des cycles est basée sur l'action inhibitrice de la progestérone sur la maturation folliculaire et l'ovulation. (Robertson, 1977).

cycles normaux



action d'un progestagène



action des prostaglandines F_{2α}

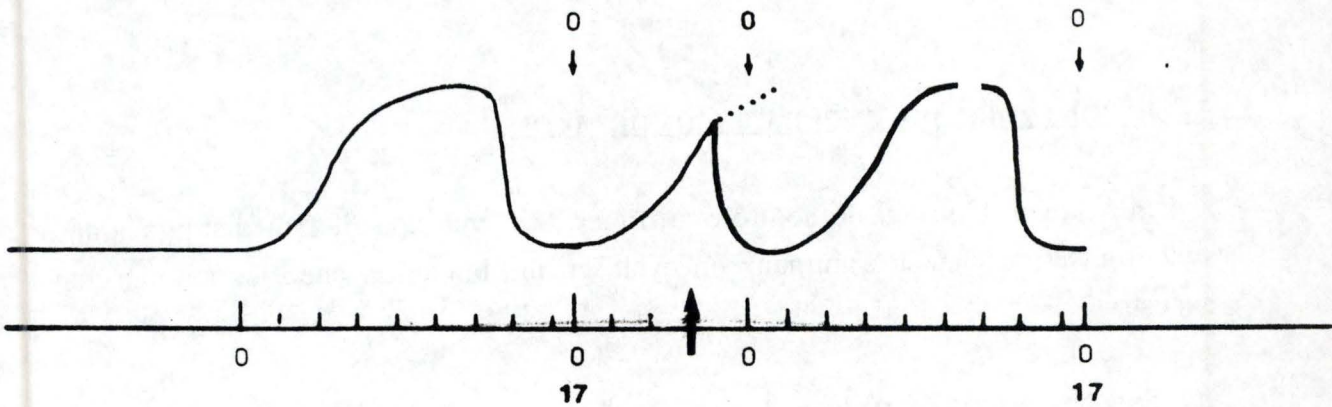


FIGURE 17 · Schéma de l'utilisation d'un agent lutéolytique administré en 2 injections distantes de 11 jours à différents moments du cycle.

a. Utilisation de prostaglandines.

Il est possible chez les brebis en cycle d'injecter de la PGF_{2a} ou un analogue de synthèse pour provoquer la lutéolyse et donc l'ovulation. La substance la plus utilisée est un dérivé de synthèse de la PGF_{2a}, le cloprosténol commercialisé par ICI sous le nom d'ESTRUMATE.

Mais ce traitement n'est pas efficace sur le corps jaune en formation c'est-à-dire du jour 0 au jour 3 du cycle. De plus, il n'est plus d'aucune utilité à partir du moment où les prostaglandines endogènes sont secrétées c'est-à-dire du jour 14 au jour 17 du cycle (Acritopoulou et Haresign, 1980). Les animaux qui se trouvent en début et en fin d'anoestrus échappent donc au contrôle. Pour surmonter cette période de non réponse 2 injections de cloprosténol sont réalisées (fig 17).

Greyling et Van der Westhuysen (1980) ont traité des brebis Mérinos avec 2 injections de 125 µg de cloprosténol administrées à des intervalles de 9, 10 et 11 jours, le taux de fertilité obtenu est respectivement de 11.1%, 40.0% et 70.0%. L'intervalle devrait donc être de 11 jours minimum et ne devrait pas dépasser 13 ou 14 jours. La raison est obscure mais il semblerait que les événements hormonaux précédant l'oestrus jouent un rôle important. Fairnie et al (1977) ont démontré qu'un intervalle de 8 jours réduit la durée de vie du corps jaune et limite donc l'exposition du tractus génital à la progestérone avant l'oestrus.

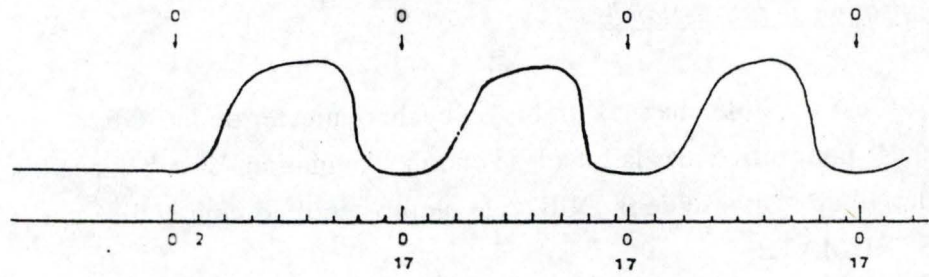
Des expériences ont également été réalisées pour étudier la quantité de produits à injecter. Le pourcentage de brebis répondant par un comportement d'oestrus est maximum pour des doses très élevées, il passe de 50% avec 31.25 µg à 100% avec 250 µg (Greyling et Van der Westhuysen, 1979). Les plus fortes doses entraîneraient une lutéolyse plus rapide et plus complète. Cependant la fertilité obtenue semble maximum pour des injections de l'ordre de 100 µg (Greyling et Van der Westhuysen, 1979).

Le début des chaleurs apparaît 37.7 heures (Acritopoulou et Haresign, 1980) à 44 heures après injection (Acricpoulou et al, 1977). Il semble que le temps de latence soit en rapport avec le jour du cycle au cours duquel l'injection a été réalisée (Haresign et Acricpoulou, 1980). Le début et la durée des chaleurs varient aussi en fonction de la race (Bindon et al, 1979).

b. Administration de progestérone ou d'un dérivé de synthèse.

L'oestrus des brebis peut être synchronisé efficacement avec des progestagènes (Greyling et Van der Westhuysen, 1979). En effet, la durée du cycle oestral est contrôlée par le corps jaune ; si on prolonge l'inhibition du corps jaune grâce à des progestagènes exogènes, l'oestrus et l'ovulation n'apparaissent plus comme une conséquence de la

cycles normaux



action d'un progestagène

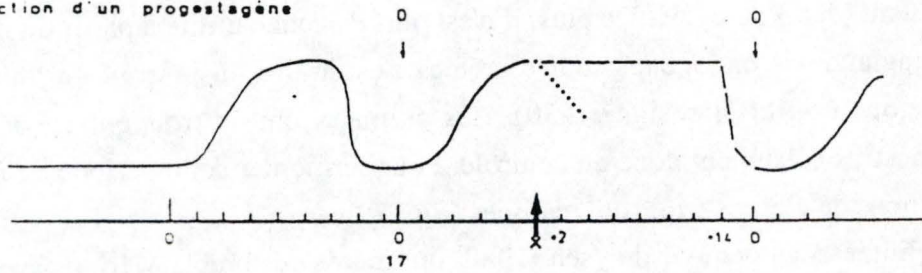


FIGURE 18 Schéma de l'action d'un progestagène sur le contrôle du cycle ovarien (représenté ici par la sécrétion de progestérone).

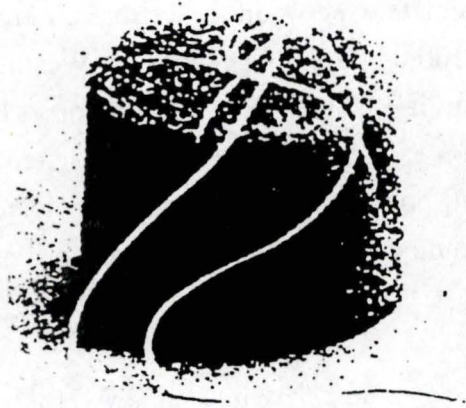


FIGURE 19: Eponge vaginale.

lutéolyse normale, mais seulement lors de la cessation du traitement (Robertson, 1977), (fig 18).

Le progestagène administré peut être de la progestérone naturelle ou un dérivé : MAP (medroxyacétate de progestérone), FGA (fluorogestoneacetate) ou CAP (chlormadinone).

L'administration peut se faire:

- par voie orale: on met de la progestérone synthétique dans l'eau de boisson.
- par injections intramusculaires ou sous-cutanées: 10 à 15 mg de progestérone en suspension sont administrés quotidiennement pendant 12 à 14 jours.
- par implant sous cutané: un implant de silastic imbibé de MAP est inséré sous la peau, souvent au niveau thoracique sous la patte avant.
- par un dispositif vaginal, une éponge (fig 19) imprégnée de progestérone est placée dans le fond du vagin.

Pour la facilité de l'emploi et la précision de la dose reçue, ce sont les éponges vaginales de MAP ou de FGA qui sont presque toujours utilisées. De plus, cette méthode permet une bonne synchronisation de l'oestrus (Robinson, 1964). Celui-ci apparaît environ 22h après le retrait de l'éponge et l'ovulation 54h après ce retrait, en raison de la dose utilisée et du temps de rétention de la substance dans le sang (Cognié et al, 1970).

Les quantités utilisées sont calculées de manière à ce que le produit se trouve dans le sang en concentration suffisante pour empêcher l'ovulation et pour provoquer une bonne imprégnation du système nerveux mais aussi en dose suffisamment faible pour que l'élimination du produit puisse se faire rapidement et entraîner une bonne synchronisation des chaleurs et de l'ovulation chez tous les animaux.

La durée de l'administration doit être au moins aussi longue que la durée de vie naturelle du corps jaune. Il est donc évident qu'en fonction de la physiologie de chaque espèce, le traitement devra être adapté en dose et en durée .

Chez la brebis, on utilise une éponge vaginale imbibée de 60 mg de MAP pendant 13 jours quel que soit l'état physiologique de l'animal ou une éponge de FGA pendant 14 jours, en dose variable de 40 mg pour synchroniser des brebis en saison sexuelle et des agnelles et de 30 mg pour les brebis en anoestrus saisonnier ou de lactation.

Derycke et al (1987) n'ont trouvé aucune différence de fertilité chez des brebis Texel traitées avec des éponges de FGA ou de MAP en saison de reproduction. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Gordon (1977) et Alifakiotis (1982), (tableau 5).

TABLEAU 5 : Différence de fertilité chez des brebis Texel traitées avec des éponges de MAP ou de FGA (Derycke et al, 1987).

Sponges	n	A.I.		Returns		A.I. & Ret.	
		Fert.	L.S.	Fert.	L.S.	Fert.	L.S.
FGA	20	60%	1,42	88%	1,29	95%	1,37
MAP	18	61%	1,64	100%	1,29	100%	1,50

Fert. = Fertility , L.S. = Litter size at birth
 FGA = 9 fluoro-11 hydroxy-17 acetoxy-progesteron
 MAP = 6 methyl-17 acetoxy-progesteron

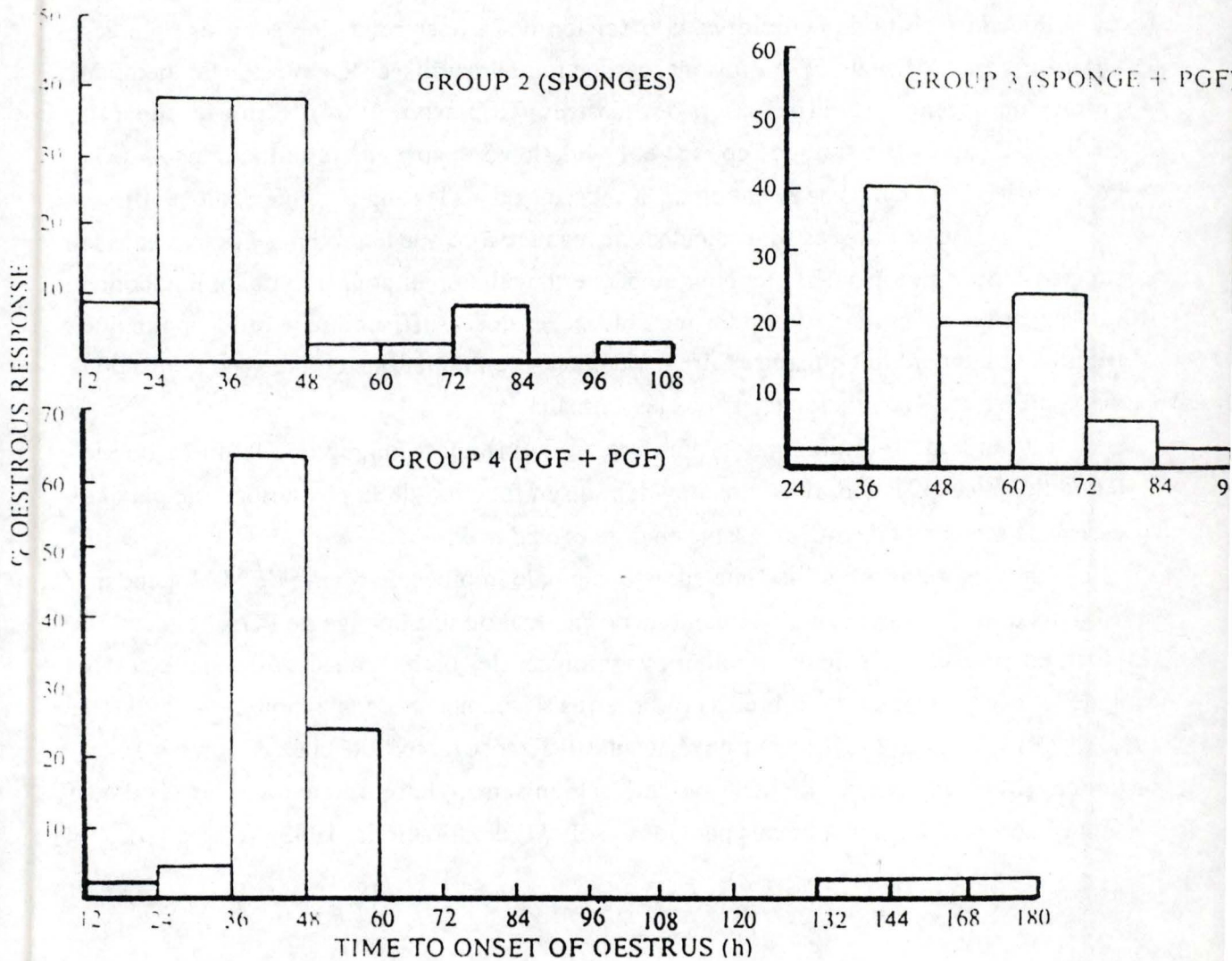


FIGURE 20 Distribution montrant le % d'oestrus chez des brebis recevant des éponges de MAP, du MAP et du Cloprosténol et 2 injections de Cloprosténol à 9 jours d'intervalle (Greyling et al, 1979)

c. Utilisation de progestérone et de prostaglandines.

Le corps jaune des brebis est sensible aux prostaglandines uniquement pendant une période limitée de la phase lutéale du cycle (Acritopoulou et al, 1977). Pour surmonter cette période refractaire, on peut produire une phase progestéronique artificielle d'une durée suffisante pour permettre une bonne stimulation du système nerveux (8 jours) puis injecter des prostaglandines qui se chargeront de provoquer la lutéolyse (Greyling et al, 1979), (fig 20).

Greyling et al (1979) ont montré que la dose optimale de cloprosténol est de 62.5 µg. Cependant d'autres auteurs préconisent des doses de 100 µg ou même de 125 µg (Fairnie et al, 1976, cités par Greyling et al, 1979).

Le moment de l'administration de cloprosténol par rapport au retrait de l'éponge n'exerce pas d'effet significatif sur la durée de l'oestrus. Par contre le moment du cycle auquel on a commencé le traitement tend à avoir un effet sur l'intervalle qu'il existe entre l'arrêt du traitement et le début du pic de LH (Greyling et al, 1979).

2.2. Induction du cycle.

L'induction du cycle peut être réalisé également grâce à des progestagènes. Il apparaît, en effet, que si les progestagènes sont inhibiteurs de la maturation folliculaire et de l'ovulation ils ont au contraire un effet stimulateur via l'hypothalamus sur le comportement oestral et sur les fonctions de reproduction (Bister, 1988). Une administration de progestérone ou de dérivés est donc capable d'induire un comportement oestral accompagné d'ovulation.

Pour parfaire ce traitement, une stimulation ovarienne est réalisée par l'administration de PMSG. L'avantage de cette méthode d'induction de l'ovulation est la facilité et l'excellente synchronisation obtenue mais l'inconvénient est que, le plus souvent, le cycle induit n'est pas suivi d'autres. Il est donc généralement impossible de profiter d'un éventuel retour en chaleurs.

3. UTILISATION DE LA PMSG.

3.1. Introduction : utilité de la PMSG.

Un des avantages de la synchronisation des cycles est de permettre un traitement superovulatoire. Si on souhaite augmenter le nombre d'ovulations et par là la prolificité du

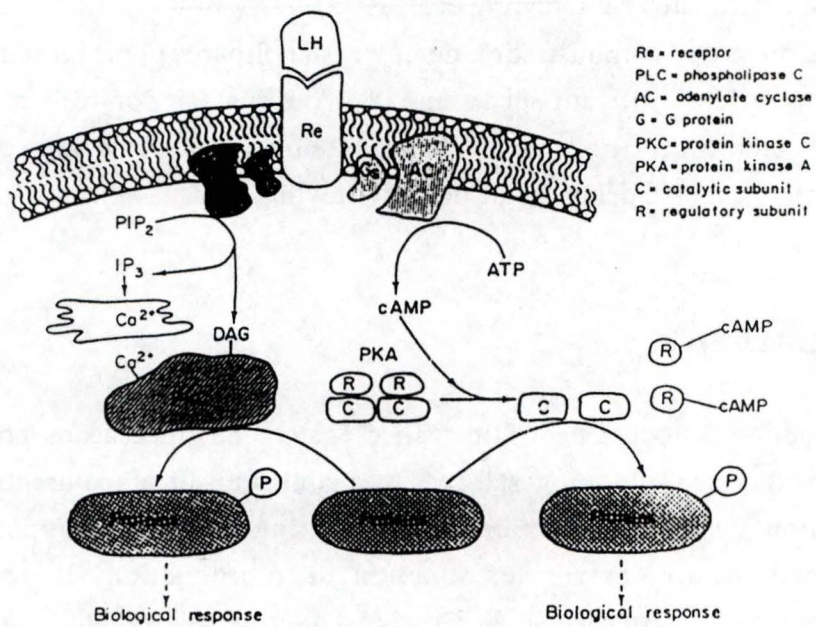


FIGURE 21 : Système de second messager activé par la LH (Bränstrom, 1988).

troupeau, il est possible d'injecter à la fin du traitement par progestérone ou au moment de l'injection de prostaglandines des substances à action gonadotrope comme la PMSG.

La PMSG (Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin) est une hormone secrétée par le placenta de la jument gravide ; elle possède une action hormonale de type LH et FSH (Sherwood et Mc Shan, 1977) et a pour propriété d'activer la croissance folliculaire ovarienne (Heins et al, 1986).

Le traitement progestatif seul est insuffisant pour provoquer l'apparition de l'oestrus chez la totalité des animaux traités pendant la période d'anoestrus (Thimonier et al, 1968; Robertson, 1977). Ceci peut provenir du fait que les teneurs hypophysaires en LH et FSH sont faibles en période d'anoestrus (Thimonier et Mauléon, 1969); une injection de PMSG est donc indispensable (Cognié et al, 1979).

3.2. Mécanisme d'action de la PMSG.

Les hormones interagissent avec les cellules cibles en se liant à des récepteurs spécifiques localisés sur la face externe de la membrane cellulaire (Brännström, 1988, chez le rat), (fig 21). La voie de l'AMPc est alors activée : l'adénylate cyclase synthétise de l'AMPc à partir du stock cytosolique d'ATP. L'AMPc active une protéine kinase qui catalyse la phosphorylation des protéines ce qui permet d'engendrer une réponse cellulaire. La LH et la FSH agissent de cette façon (Catt et Dufau, 1976, cités par Gosling et al, 1979) mais chaque hormone agit sur des récepteurs spécifiques différents.

La PMSG est très proche de la LH et de la FSH au point de vue structure moléculaire générale (Sherwood et Mc Shan, 1977) et certains auteurs (Gosling et al, 1979) pensent même que ces trois hormones proviennent d'une gonadotropine ancestrale commune.

Carbanous et al (cités par Gosling et al, 1979) ont examiné l'affinité relative de la FSH et de la LH porcines ainsi que de la PMSG pour des récepteurs spécifiques à la LH et à la FSH situés sur des cellules testiculaires de porc. Ils en conclurent que la PMSG est quatre fois plus active comme LH que comme FSH.

Les caractéristiques " LH-like " sont la stimulation des cellules intersticielles de l'ovaire, l'induction de l'ovulation et la luteinisation des cellules de la granulosa tandis que les caractéristiques "FSH-like" sont la stimulation de la croissance folliculaire ovarienne et l'augmentation du niveau d'oestradiol dans le sang (Sherwood et Mc Shan, 1977).

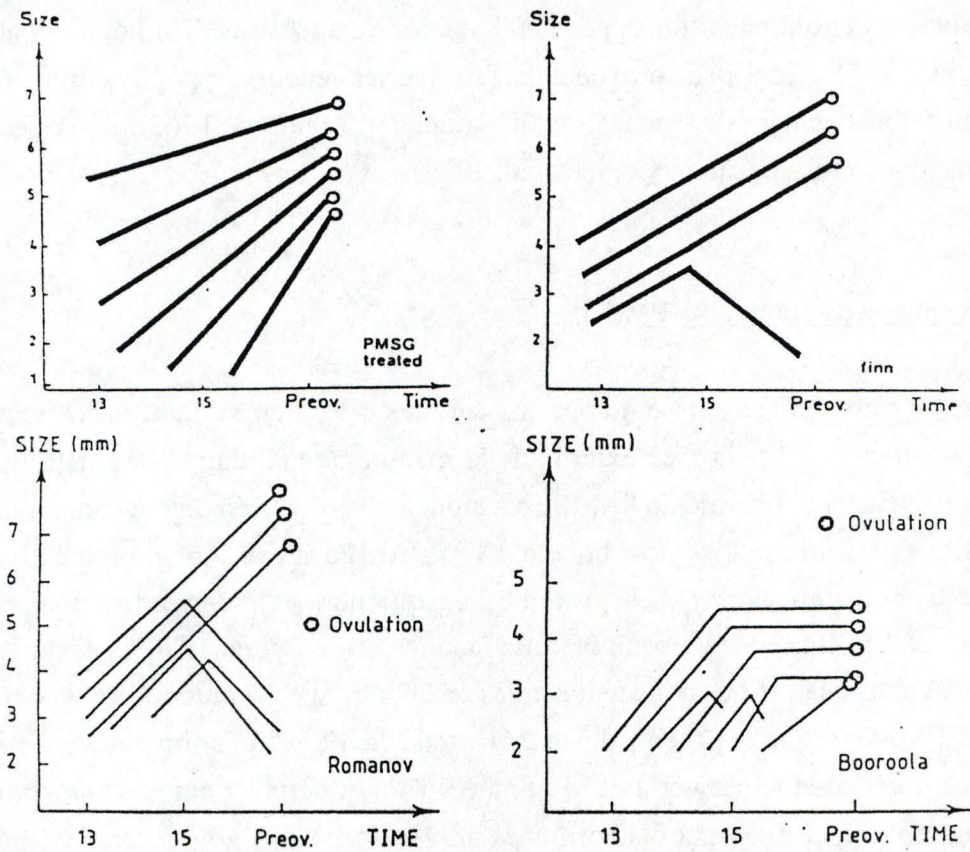


FIGURE 22 : Stratégies ovariennes utilisées pour obtenir un taux d'ovulation élevé chez trois races de brebis prolifiques et des brebis traitées au PMSG (Philippon,1987).

3.3. Effet de la PMSG sur la croissance folliculaire.

L'effet de la PMSG se fait sentir en fin de folliculogénèse mais il est difficile de savoir à quel moment précis il se produit (Mac Intosh et al, 1975, cités par Philippon, 1983).

Moore et al (1981, cités par Titeca, 1987) ont observé que la PMSG sauve les follicules en début d'atrésie et empêche les follicules antraux de dégénérer (fig 22); par contre Driancourt (1987) relève une corrélation non significative entre la population de follicules antraux et le taux d'ovulation obtenu après traitement à la PMSG.

De plus lorsqu'on réduit par ovariectomie unilatérale le nombre de follicules antraux susceptibles de répondre à la stimulation de la PMSG, le taux d'ovulation ne varie pratiquement pas (un ovaire : 3.7 ; deux ovaires 3.9, Driancourt, 1987).

Il existe néanmoins une corrélation très importante entre le nombre de follicules sains de 0.8 à 2 mm de diamètre présents sur l'ovaire au moment de l'injection et le taux d'ovulation (Driancourt, 1987). Ceci suggère donc que les follicules recrutés par la PMSG sont plus petits que ceux recrutés à la lutéolyse d'un cycle normal (supérieur à 2 mm, Driancourt et Cahill, 1984). Le processus par lequel ces petits follicules, qui normalement ont besoin de 10 à 15 jours pour arriver à maturation (Cahill et Mauléon, 1980), arrivent à surmonter la faible augmentation d'index mitotique des cellules granulosales induite par le PMSG (Turnbull et al, 1977) et ovulent avec un nombre adéquat de cellules granulosales est encore inconnu (Driancourt, 1987).

3.4. Effet de la saison sur la réussite du contrôle artificiel de l'ovulation.

Comme nous l'avons vu, la photopériode est le facteur qui domine le contrôle naturel de l'activité cyclique ovarienne chez la brebis. Le taux d'ovulation est maximum à la fin de l'été et diminue ensuite progressivement jusqu'au retour en anoestrus (Scaramuzzi et Radford, 1983). La réponse à la saison n'est cependant pas observée chez les antennaises, ni, chez les adultes à poids corporel élevé (Scaramuzzi et Radford, 1983).

Il existe cependant une relation directe entre la réussite du contrôle artificiel de l'ovulation et la saison. Lorsqu'on considère les différents résultats obtenus avec des brebis Texel ou croisées Texel, on observe que la fertilité après traitement aux progestagènes et à la PMSG est élevée en saison sexuelle (octobre-novembre) mais diminue déjà en anoestrus léger (février-mars et août-septembre) et est faible en anoestrus profond (avril-juillet), (Muurling et al, 1969, Holtz et al, 1977).

La réponse ovarienne totale (calculée en faisant la somme de tous les corps jaunes et de tous les follicules de plus de 5 mm de diamètre) de brebis Border Leicester-Merino traitées aux progestagènes et à la PMSG est la même au printemps et en automne (Evans et Robinson, 1980). Cependant les follicules qui se développent au printemps sécrètent

mois d'oestradiol que ceux qui se développent en automne. Deux hypothèses ont été formulées pour expliquer ceci ; soit tous les follicules de De Graaf ont une capacité relativement faible de produire de l'E2 au printemps, soit en automne une quantité importante d'E2 est produite par des petits follicules (< 5mm) dont on ne tient pas compte (Evans et Robinson, 1980).

La période de l'année a également une influence sur l'intervalle fin du traitement-début observé de l'oestrus. Cette influence peut être reliée à la variation saisonnière de sensibilité du système nerveux central aux oestrogènes (Cognié et al, 1970 ; Evans et Robinson, 1980). Chez les brebis Border Leicester Mérino, le début de l'oestrus est en effet déplacé de 6.4 h au printemps par rapport à l'automne et ce pour des doses de PMSG allant de 0 à 1600 UI (Evans et Robinson, 1980).

Aussi bien pendant la période d'anoestrus que pendant la période habituelle de reproduction, une injection de PMSG réduit considérablement l'intervalle moyen fin du traitement-début présumé de l'oestrus (Cognié et al, 1970).

3.5. Facteurs qui conditionnent la dose de PMSG à utiliser.

Divers paramètres relatifs à la brebis (le potentiel génétique, l'état physiologique, l'état corporel, etc) peuvent influencer les résultats et notamment conditionner la dose de PMSG à utiliser.

a. Le potentiel génétique.

En raison de l'aptitude au désaisonnement, le facteur race de la brebis présente une grande importance. Les tentatives de reproduction à différents moments de l'année réalisées par Robinson (1980) avec des brebis croisées Border Leicester-Mérino montrent que cette race présente 2 périodes privilégiées, une se situant en avril et l'autre en novembre-décembre.

La PMSG est trois fois plus efficace pour élever le taux d'ovulation dans la partie d'un troupeau de Mérino sélectionnées pendant plusieurs générations pour une augmentation de la prolificité que dans l'autre partie non sélectionnée dans ce sens (Bindon et al, 1975). Les lignées prolifiques semblent donc mieux répondre à une stimulation par la PMSG. De plus, chez les races naturellement prolifiques, l'administration de faibles doses de PMSG a un effet superovulatoire (Prud'hon et al, 1975). Par contre chez des races peu fécondes et fortement saisonnées (Romney), même avec des fortes doses de PMSG de l'ordre de 750 à 1000 UI cet effet n'est pas toujours constaté.

b. L'état physiologique.

L'état physiologique des brebis est un critère fondamental de la réussite du contrôle de la reproduction. Il dépend de la date du dernier agnelage et de la lactation .

b.1. Date du dernier agnelage.

Les chances d'enregistrer une fertilité valable sont faibles si les tentatives de reproduction sont réalisées moins de 50 à 60 jours post-partum. Ceci est dû au fait que l'utérus n'a pas encore eu le temps de retrouver un état normal mais aussi à une réponse inadéquate de l'hypotalamus au stimuli hormonaux.

Whright et al (1980) ont montré que 64 % des brebis ne présentent pas de pic de LH après une administration d'oestradiol 30 jours post partum. La sécrétion de GnRH serait anormale.

b.2. La lactation.

La lactation se superpose généralement à l'anoestrus post-partum. L'effet défavorable pourrait être dû à une hyperprolactinémie maintenue par la tétée de l'agneau (Wright et al, 1980)

On observe également une moins bonne réponse de l'hypophyse à une injection de GnRH chez la brebis en lactation (Pelletier, 1974) et on a pu mettre en évidence que l'environnement utérin était nettement défavorable à la nidation et au maintien de la gestation chez les brebis allaitantes.

c. L'état corporel.

Indépendamment de l'état physiologique de la brebis un autre facteur important pour la réussite de la reproduction contrôlée artificiellement comme de la reproduction naturelle est l'état corporel de l'animal et son alimentation.

Fertilité et prolificité sont fortement liées à l'état des brebis. Selon Morley et al (1978, cités par Scaramuzzi et Radford, 1983) les relations existant entre le poids des brebis et leur taux d'ovulation seraient linéaires et positives au sein d'une même race.

Allison (1974) compare un troupeau qui reçoit pendant 4 mois une alimentation qui provoque un gain de 15 kg de poids vif avec une autre moitié recevant une alimentation normale. Les 2 troupeaux subissent un traitement hormonal de progestérone avec 3 doses de PMSG (0, 600 et 1000 UI). L'auteur observe dans le troupeau maigre des taux d'ovulation de 1.35, 1.97 et 3.88 avec les 3 doses de PMSG et, dans le troupeau gras, des taux de 1.54, 2.95 et 5.34. La technique du "flushing", apport momentané d'un

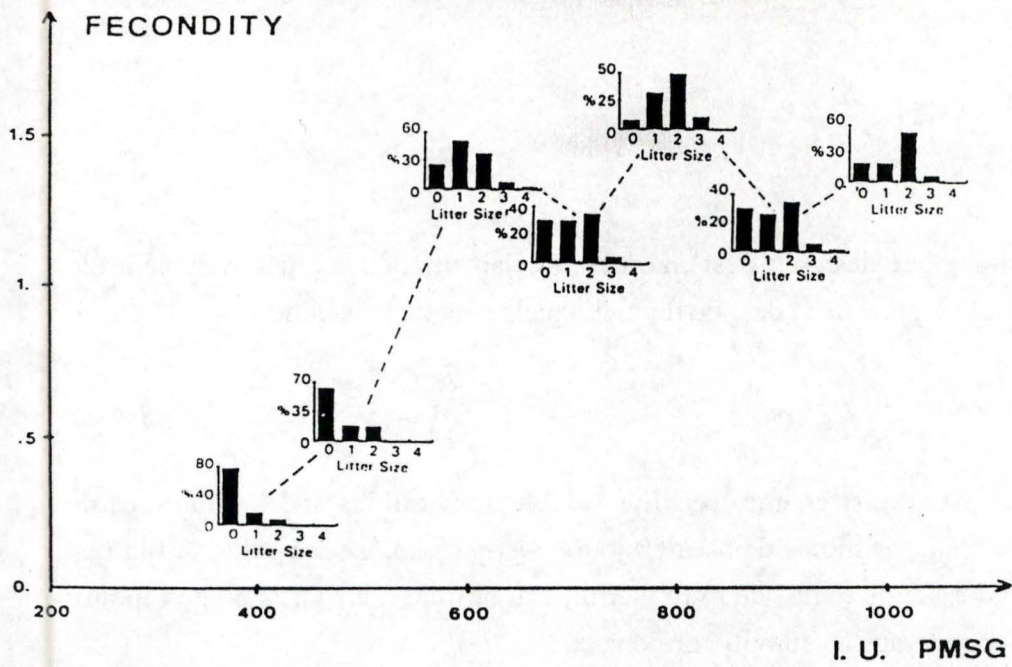


FIGURE 23 : Fécondité des brebis après injections de différentes doses de PMSG en période d'oestrus. Les histogrammes montrent la fréquence des naissances multiples (Bister et al,1986).

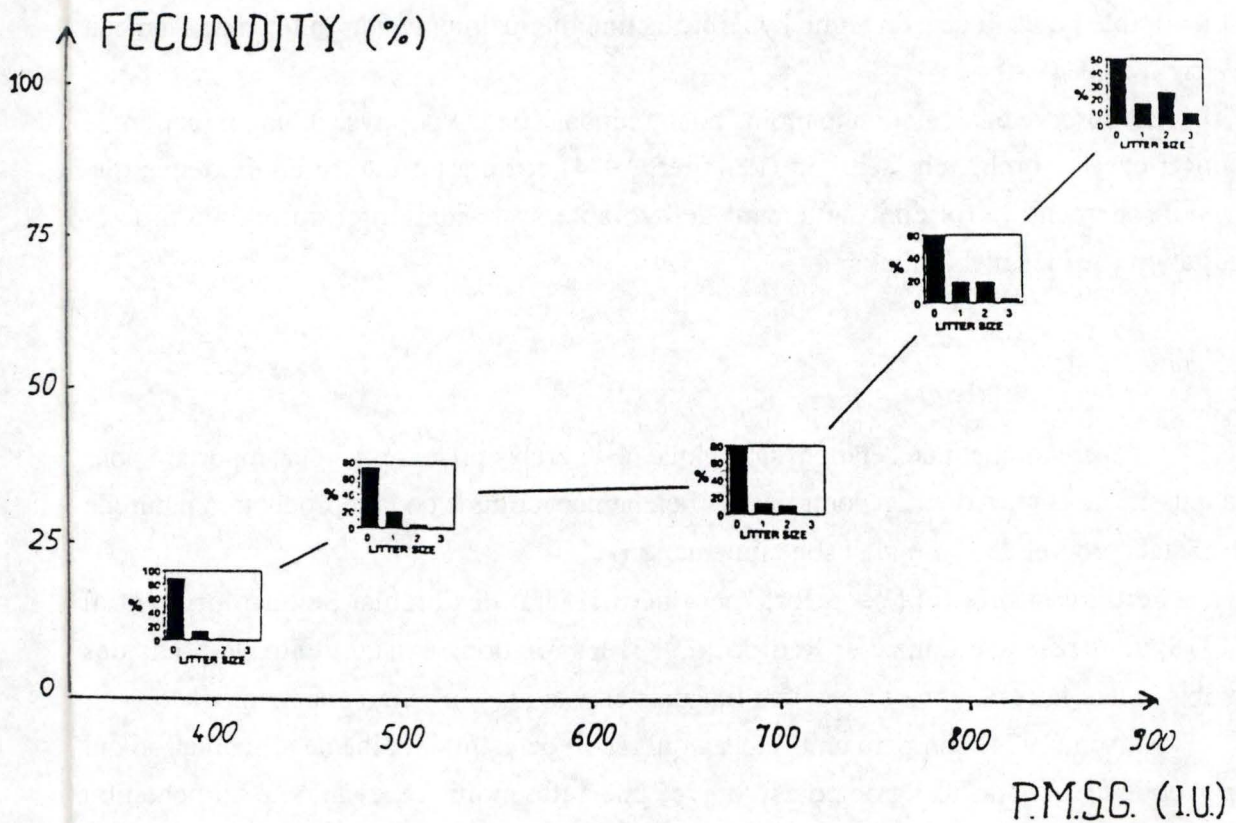


FIGURE 24 : Fécondité des brebis après injections de différentes doses de PMSG en anoestrus. Les histogrammes montrent la fréquence des naissances multiples (Bister et al,1986).

aliment hautement énergétique destiné à produire une augmentation du poids des animaux avant la lutte, est basée sur le même principe.

3.6. Résultats obtenus.

En race Texel, les résultats obtenus après traitement à la PMSG sont controversés. Des expériences réalisées sur des brebis préalablement synchronisées aux progestagènes ont démontré qu'une injection de 500 UI de PMSG augmente la prolificité de 18.5% (Robinson, 1980). Par contre, Bister et al (1983) ne mettent pas d'effet favorable en évidence avec des doses variant entre 350, 800 et même 900 UI (Heins et al, 1986).

Plusieurs auteurs ont montré que l'effet superovulatoire obtenu par une injection de PMSG se traduit par un gain de prolificité mais qu'au delà d'une certaine dose, le taux de mortalité embryonnaire s'élève considérablement et conduit à une diminution des performances (Allison, 1974; Dyrmondson, 1980, cité par Heins et al, 1986). En effet, il semble qu'une trop forte injection de PMSG provoque la libération d'un trop grand nombre d'ovules et la formation d'un trop grand nombre d'embryons (Allison, 1974). Ceux-ci ne pourront disposer que d'un trop faible nombre de cotylédons et leur développement ne pourra se faire convenablement.

Ceci explique les résultats obtenus par Hackett (1982) chez des brebis croisées de races prolifiques, pour des doses de 0, 250, 500 et 750 UI de PMSG; il obtient une fertilité de 73%, 77%, 55% et 55% et une prolificité de 190%, 200%, 270% et 220%. La brebis Texel plus lourde devrait recevoir des injections de 600 à 800 UI en saison sexuelle, cependant des doses allant jusque 1000 UI ne sont pas excessives et ne produisent aucune diminution de fécondité pendant la saison sexuelle (fig 23, Bister et al, 1986). Par contre d'autres auteurs ont montré qu'une dose de 750 UI était excessive, cette dose diminue la fertilité de 9.4% en saison sexuelle par rapport à l'utilisation de progestagènes seuls (Muurling et al, 1969).

Au début et à la fin de l'anoestrus saisonnier, 750 UI semblent efficaces pour maintenir une bonne fertilité à l'oestrus induit (Muurling et al, 1969) et il semble possible que des doses allant jusque 1000 UI puissent être envisagées en anoestrus profond (mai-juin). A ce propos, Bister et al (1986) ont montré que les fortes doses donnaient les meilleurs résultats (fig 24).

3.7. Facteurs expliquant la variabilité des résultats obtenus.

Différentes hypothèses ont été émises pour expliquer la grande variabilité dans les résultats obtenus avec la PMSG.

Selon Mauléon (1975) lorsqu'on fait des traitements rapprochés tous les 17 jours par exemple, il y a formation d'anticorps contre la PMSG, ce qui nécessite, si on désire une réponse constante, une augmentation de la dose à injecter. Mais avec un rythme d'utilisation tel que celui de 3 doses de 1000 UI en 2 ans il n'y a pas de diminution de la réponse pendant la vie de la brebis (Mauléon, 1975).

La PMSG a une très longue demi-vie; elle pourrait donc provoquer une perte de réceptivité et une désensibilisation des cellules ovariennes aux hormones gonadotropes et principalement à la LH (Gosling et al, 1979). Il s'en suivrait un manque de lutéinisation des cellules et l'environnement hormonal ne serait plus favorable à la survie et au développement des embryons. Les expériences qui diminuent le temps d'action de la PMSG par injection d'anticorps contre la PMSG améliorent les résultats de superovulation (Dhont et al, 1978, cités par Gosling et al, 1979).

Plusieurs composés agissant directement ou indirectement sur l'ovaire ont été identifiés dans le fluide folliculaire : anti aromatizing protein (Di Zerega et al, 1982), follicular growth inhibitor (Cahill et al, 1984), inhibine (Tsonis et al, 1983). L'hypersensibilité à quelques uns de ces composés pourrait expliquer la réponse décroissante à des traitement superovulatoires répétés (Hulet et Foote, 1969, cités par Driancourt, 1987).

La qualité des lots de production de PMSG pourrait être inégale mais Quilliardsen et al (cités par Steward et al, 1976) ont montré que le taux d'ovulation induit par la PMSG ne varie pas entre lots.

CHAPITRE II : PLAN EXPÉRIMENTAL,
MATÉRIEL ET MÉTHODE.

A. PLAN EXPÉRIMENTAL.

1. OBJECTIF POURSUIVIS.

Cette expérience a été réalisée en raison de la faible fertilité obtenue après une insémination effectuée 54 heures après le retrait de l'éponge de progestagène chez la brebis Suffolk. Notre but est de déterminer, en fonction de la saison de reproduction les effets de deux doses de PMSG (500 et 800 UI) sur l'efficacité de l'induction et de la synchronisation des cycles, sur le moment de l'ovulation et sur le taux d'ovulation. Nous analyserons aussi le moment de la décharge ovulatoire de LH et chercherons à estimer la qualité du corps jaune induit grâce à sa sécrétion de progestérone.

2. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES.

Les expériences *in vivo* ont été réalisées au Centre de Recherches Ovines de Faulx-les Tombes. Les dosages hormonaux et les analyses des résultats ont été effectués au Laboratoire de Physiologie animale des Facultés. L'expérience se déroulant en 4 phases, les brebis sont laissées en prairie pendant toute l'année et sont ensuite rassemblées pour les expériences dans une étable tout en continuant à être soumises à une photopériode naturelle. Une salle annexe sert de salle d'opération.

3. ANIMAUX EXPÉRIMENTAUX.

Vingt brebis Suffolk adultes sont réservées à cette expérience et ne sont pas mises à la lutte. Elles sont partagées en 3 lots de 4, 8 et 8. Le lot A est constitué des brebis n° 9, 25, 27 et 37. Le lot B comprend les brebis n° 42, 47, 48, 51, 55, 58, 63, 64 et le lot C des brebis n° 69, 70, 74, 76, 86, 89, 92 et 103.

4. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.

L'expérience se déroule selon le plan suivant. Tous les 4 mois (juillet, octobre, janvier et février), les brebis sont soumises à un traitement hormonal consistant en l'application pendant 14 jours d'une éponge vaginale de 40 mg de FGA. Au retrait de l'éponge, des injections de PMSG sont réalisées, à raison de 500 UI pour 10 brebis et de 800 UI pour les 10 autres. Les brebis sont soumises ensuite à de fréquentes endoscopies

afin de déterminer l'efficacité du traitement en matière de croissance folliculaire terminale et de taux d'ovulation. L'heure de l'ovulation est étudiée par la même occasion.

Calendrier Juillet.

- 4, 5, 6/07/88 : poses des éponges aux 3 lots.
- 18, 19, 20/07/88 : retraits des éponges et injections de 500 ou 800 UI de PMSG à 04 heures.
- 20, 21, 22/07/88 : endoscopies régulières depuis 54 heures après le retrait jusqu'au moment de l'ovulation.

Calendrier octobre.

- 25, 27, 28/09/88 : poses des éponges.
- 10, 11, 12/10/88 : retraits et injections de PMSG.
- 12, 13, 14/10/88 : endoscopies.

Calendrier janvier.

- 16, 17, 18/01/89 : poses des éponges.
- 30, 31/01 et 01/02/89 : retraits et injections de PMSG.
- 01, 02, 03/02/89 : endoscopies.

Calendrier avril.

- 03, 04, 05/04/89 : poses des éponges.
- 17, 18, 19/04/89 : retraits et injections de PMSG.
- 19, 20, 21/04/89 : endoscopies.

Les résultats obtenus grâce à l'observation directe des ovaires sont confirmés et complétés par des dosages hormonaux. Les analyses de la sécrétion de la LH (amplitude et moment de la décharge ovulatoire) et de la progestérone ont pour but de mesurer la réponse hypophysaire et de la mettre en relation avec les observations ovariennes, de confirmer l'ovulation, de juger de la qualité des corps jaune induits et d'enregistrer une éventuelle poursuite de l'activité ovulatoire. Des prises de sang sont donc réalisées toutes les 8 heures à partir du retrait de l'éponge jusqu'à l'ovulation pour détecter le pic de LH.

On effectue ensuite des prises de sang 2 fois par semaine pendant 3 semaines pour mesurer les taux de progestérone.

B. MÉTHODES UTILISÉES.

1. TECHNIQUES ET TRAITEMENTS UTILISÉS IN VIVO.

1.1. Synchronisation et induction des cycles.

L'induction et la synchronisation des cycles se fait par la pose intravaginale d'éponges de polyuréthane imbibées d'un dérivé de la progestérone. Deux marques d'éponges existent sur le marché belge: Véramix (Repromap, Upjhon) contenant 60 mgr de MAP et Chronogest (Searle distribué par Intervet) contenant 30 ou 40 mgr de FGA. Toutes nos expériences sont réalisées avec des éponges Searle de 40 mgr.

L'éponge fixée au bout d'un tube en PVC est introduite jusqu'au fond du vagin et laissée en place grâce à un mandrin placé dans le tube. Avant chaque pose d'éponge, le tube en PVC est soigneusement nettoyé dans une solution désinfectante .

Le retrait se pratique simplement en tirant légèrement vers le bas la ficelle qui sort de la vulve et à laquelle est fixée l'éponge. Le retrait se fait le matin du 14^{ème} jour après la pose.

La PMSG utilisée est commercialisée par la firme Intervet sous le nom de Folligon . Le principe actif (gonadotropine sérique) est présenté dans un flacon sous forme lyophilisée ; un second flacon renferme le solvant, car le produit une fois mis en solution est de conservation limitée. Le Folligon est injecté par voie intramusculaire à raison de 500 UI ou 800 UI suivant notre plan expérimental et ce lors du retrait de l'éponge.

1.2. Endoscopie.

L'endoscopie est l'examen d'un organe interne à l'aide d'une sonde optique. L'ovaire est un organe aisé à observer par cette technique mais il faut une pratique fréquente afin de pouvoir interpréter correctement les résultats.

Le déroulement pratique peut se résumer comme suit : La brebis est disposée sur une table inclinable; elle doit être immobilisée en décubitus dorsal et l'arrière-train est soulevé un peu plus haut que la tête de façon à faciliter l'observation des ovaires grâce au tassement des viscères contre le diaphragme . La paroi abdominale est rasée et désinfectée avec une solution de teinture d'iode. Deux anesthésies locales à la xylocaïne sont pratiquées aux endroits prévus pour la pose de l'endoscope et du palpeur, c'est-à-dire à 10 cm de part et d'autre de la ligne médiane et à une quinzaine de cm de la naissance du pis, en évitant soigneusement la veine mammaire. Les instruments introduits après incision au scalpel et perforation au trocart, sont un endoscope Wolf muni d'une fibre souple qui le relie à une source lumineuse de 150 Watts et un palpeur gradué permettant la

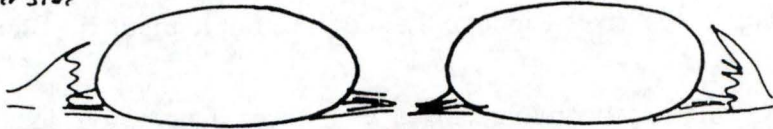
Ovary Observation Record.

Sheep :
Date :

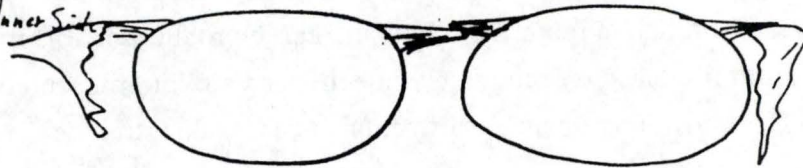
Photo :
hour :

	LEFT	RIGHT
CL		
Largest F.		
2 nd		
3 rd , other		

Outer Side



Inner Side



Observations

FIGURE 25 · Carte d'observation ovarienne.

manipulation des ovaires et la mesure de la taille des follicules. De l'air est insufflé par un petit compresseur, afin de soulever la paroi abdominale et le péritoine.

Le tractus génital est ainsi livré à l'oeil de l'observateur. Une observation rapide permet de déterminer le type d'ovaire (gauche ou droit) et sa position (externe ou interne). Ensuite le nombre, la position et la taille des follicules sont annotés sur une carte ovarienne (fig 25).

L'observateur peut cependant rencontrer différents problèmes et notamment une difficulté d'interprétation qui provient entre autres d'un changement d'apparence de l'ovaire, à un même stade du cycle ovarien, chez une même brebis et entre les brebis. Une difficulté d'estimation visuelle de l'âge du corps jaune ou des follicules est aussi possible car les variations de taille et de forme dépendent fortement de la profondeur des structures ovariennes à l'intérieur du cortex de l'ovaire.

A la fin de l'observation des ovaires d'une brebis, les instruments sont retirés et désinfectés à l'alcool. Les incisions sont désinfectées avec une poudre antiseptique, le Spitalen. La brebis reçoit ensuite une injection intramusculaire de pénicilline (PENI. DHS. 20).

1.3. Prises de sang.

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la veine jugulaire. On gonfle d'abord la veine en appliquant un garrot à la base du cou et on y introduit ensuite une aiguille stérile. Le sang est recueilli dans des tubes héparinés de manière à éviter la coagulation et immédiatement centrifugé afin de séparer les éléments figurés du plasma. Le plasma est stocké dans des tubes de polystyrène et congelé à - 20°C jusqu'au moment de l'analyse puis aussitôt recongelé.

2. TECHNIQUES UTILISÉES IN VITRO : DOSAGES HORMONAUX.

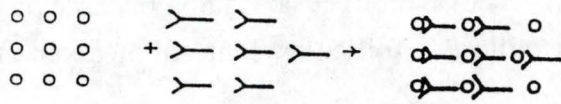
2.1. Principe du dosage par RIA (radio-immuno assay).

(Bister, 1980) (fig 26)

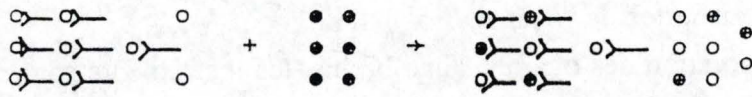
Le dosage radio immunologique est basé sur la compétition entre une quantité déterminée d'hormone marquée par la fixation d'un ou plusieurs atomes radioactifs (I131, I125, H3) et une quantité variable et inconnue de la même hormone se trouvant dans l'échantillon à analyser, vis-à-vis d'un antisérum (AS) qui leur est spécifique.

La quantité d'hormone marquée (H*) liée aux anticorps sera d'autant plus faible que la quantité d'hormone "froide" (H°) contenue dans l'échantillon sera élevée et inversement .

Fixation de l'H° sur l'As



Compétition entre l'H* et l'H°



Séparation de la fraction liée et de la fraction libre et comptage de la radioactivité de l'une des fractions.

légende

- = H°
- = H*
- > = As

FIGURE 26 Principe du dosage par RIA (Bister, 1980).

En séparant H* liée à l'antisérum de H* libre on peut calculer, par analyse de la radioactivité de l'une de ces deux fractions, la quantité de H°. Une courbe standard effectuée dans les mêmes conditions avec des quantités connues et croissantes d'H° sert de référence.

2.2. Appareillage.

La mesure de la radioactivité est effectuée par un analyseur gamma à passeur d'échantillons LKB Wallac-1280 Ultragama II. Le comptage des échantillons est programmé d'après les rayonnements qu'ils émettent dans les fenêtres d'énergie 24 à 33 du spectre d'émission obtenu avec l'I¹²⁵. Nous obtenons ainsi un rendement assez élevé (50%) tout en éliminant au maximum les émissions parasites. Le temps de comptage est fixé à 1 minute, ce qui, en fonction du nombre de coups enregistrés par minute (cpm), donne une précision de comptage suffisante (erreur < 5%). Les résultats s'inscrivent sur une imprimante Citizen 120 D.

2.3. Calcul de résultats.

Le modèle mathématique appliqué au dosage RIA est celui de Finney (1976).

$$A = A_0 \frac{C_m}{C_m + C_f} + a$$

A = la radioactivité de la fraction pour une certaine concentration d'hormone froide.

A₀ = la radioactivité maximale de la fraction.

a = la radioactivité non spécifique.

C_m = la concentration de l'hormone marquée.

C_f = la concentration de l'hormone froide.

Cette équation, permettant de transformer en ng/ ml les données obtenues en cpm, est ajustée aux données expérimentales de la courbe standard par la méthode des moindres carrés "Steepest descent", avec pondération.

2.4. Dosage de la LH.

Les gonadotropines peuvent être dosées par RIA : on réalise un dosage homologue où la compétition vis à vis de l'antisérum se fait entre LH froide et LH marquée à l'I¹²⁵ toutes deux d'origine ovine.

a. Produits utilisés.

- Tampon phosphate 0,6 M : il est préparé à partir de 7,5 g de KH₂ PO₄ et de 77,9 g de Na₂ HPO₄ par litre d'eau distillée légèrement chauffée.
- Tampon de Wide : on dilue 10 fois le tampon phosphate 0,6 M et on ajuste le pH à 7,55 par quelques gouttes de HCl.
- Tampon de Wide-NaCl : on dissout 9 g de NaCl par litre de tampon de Wide.
- Solution de Chloramine T : 40 mg de C₇H₇ Cl N NaO₂S / 10 ml d'H₂O distillée.
- Tampon egg-white (EW). Il est préparé par addition de 5 g d'albumine d'oeuf par litre de tampon de Wide. On ajoute 2 g d'azide de Na par litre pour empêcher la prolifération bactérienne.
- Traceur radioactif.
 - . Il est préparé dans la fiole conique dans laquelle l'iode 125 a été expédiée:
 - . tamponer l'I¹²⁵ avec 25 µl de tampon de wide.
 - . ajouter 40 µl de LH (4 µg).
 - . déclencher l'opération par adjonction de 20 µl de chloramine T à 4 mg/ml H₂O d.
 - . agiter légèrement le flacon.
 - . arrêter la réaction après 30 secondes par l'adjonction de 25 µl de disulfite de sodium.
 - . purifier l'hormone marquée par chromatographie liquide de 15 cm de haut et 1 cm de diamètre remplie de Séphadex G50 médium tamponé au phosphate 0.06 M, PH 7.55 + 9g NaCL/litre et préalablement saturé par 2 ml d'albumine bovine, fraction v, sigma, à 2%.
 - . recueillir des fractions d'un millilitre.
 - . repérer le pic de radioactivité et rassembler les tubes correspondant à l'activité de l'hormone marquée.

- L'immunosorbant (ARGG)

La séparation de la phase liée et de la phase libre est réalisée par la méthode du double anticorps. Il s'agit de la précipitation du complexe hormone-anticorps par liaison d'un immunoabsorbant. C'est une solution d'ARGG (anti rabbit gamma globuline) fournie par le laboratoire d'hormonologie de Marloie. Le plasma du mouton immunisé est dilué à raison de 1 ml pour 25 ml de tampon egg-white.

- La courbe standard est réalisée en remplaçant les 50 μ l de plasma par 50 μ l d'hormone froide à des concentrations croissantes et connues: 0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.75; 1.0; 2.0; 3.0; 4.0; 5.0; 10.0; et 20.0 ng/ml de tampon E.W.

b. Manipulations.

- Le dosage se réalise dans des tubes en cristal de polystyrène d'une contenance de 3 ml.
- 50 μ l d'hormone froide de concentration connue pour l'établissement de la courbe standard ou 50 μ l de plasma pour les échantillons à analyser sont déposés dans les tubes.
- 50 μ l d'antisérum y sont introduits.
- Le mélange est homogénéisé au vortex.
- La réaction antigène-anticorps s'équilibre durant un premier temps d'incubation fixé à 4 heures. Cette incubation, comme les suivantes, se fait à température ambiante.
- 50 μ l d'hormone marquée sont ensuite ajoutés dans chaque tube.
- Une nouvelle homogénéisation au vortex est réalisée.
- Une nuit d'incubation permet au nouvel équilibre de s'établir. L'hormone marquée entre en compétition avec l'hormone froide préalablement fixée sur les anticorps.
- Finalement 250 μ l d'immunosorbant sont additionnés et le tout est incubé pendant 4 h.
- La séparation de la fraction liée et de la fraction libre est possible par centrifugation pendant 15 minutes à 3000 rpm.
- Le surnageant est éliminé au moyen d'une pompe à vide reliée à une pipette pasteur.
- De plus, chaque dosage est accompagné d'une estimation de l'activité résiduelle due à la fixation spécifique de la LH* sur l'A.R.G.G (**Back Ground : BG**). Cette analyse est réalisée comme celles des échantillons mais le plasma et l'antisérum sont remplacés par du tampon.

- Nous ajoutons aussi au comptage un tube ne contenant que 50 μ l d'H* de façon à mesurer l'activité totale (**Total Count : TC**).

2.6. Dosage de la progestérone.

Le dosage de la progestérone est réalisé à partir du kit RSL I¹²⁵ progestérone commercialisé par ICN Biomédicals, Inc Diagnostic Division. La méthode pour être efficace nécessite une extraction préalable à l'hexane. Ensuite, le principe du dosage est identique à celui de la LH.

a. Produits utilisés.

Les produits sont fournis prêts à l'emploi dans le kit de dosage. La courbe standard est préparée au laboratoire en diluant de la progestérone cristalline dans du plasma de brebis ovariectomisée, à des concentrations de 0; 0.25; 0.50; 1.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0 et 10.0 ng/ml.

b. Manipulation.

La manipulation débute par une purification partielle de la progestérone plasmatique grâce à une extraction à l'hexane:

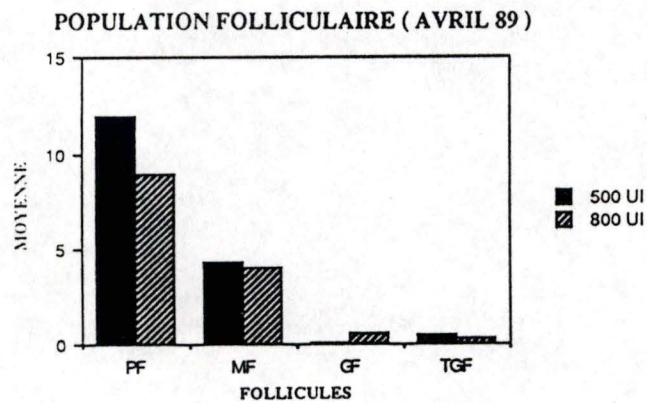
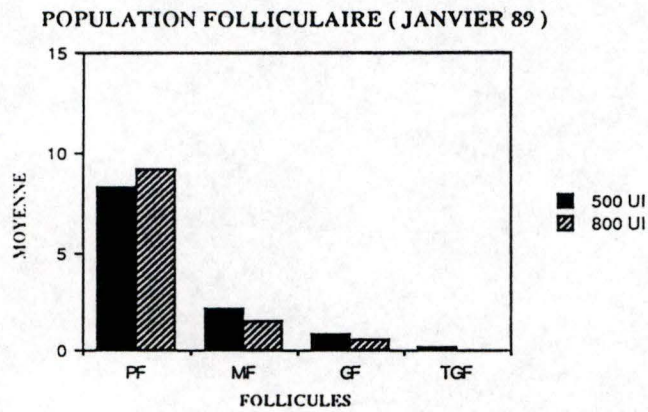
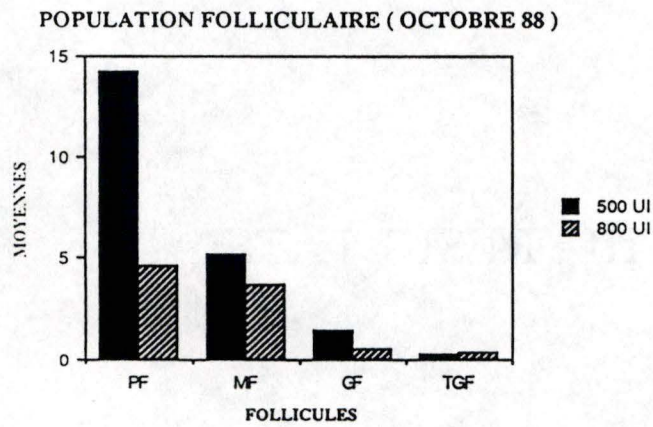
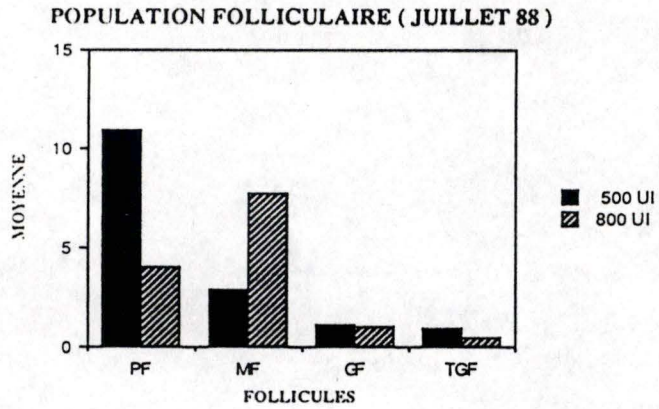
- On introduit 300 μ l de plasma et 3 ml d'hexane dans des tubes en verres de 10 cm de hauteur, le mélange des 2 solutions est important : il est donc nécessaire de vortexer les tubes pendant 2 minutes après les avoir bouchés.
- On centrifuge ensuite pendant 5 min à - 10°C et à 2000 rpm.
- 2 fois 1 ml de surnageant sont prélevés dans des tubes RIA en verre et évaporés à sec dans une étuve sous vide, à 40°C pendant au minimum 1h.

Le RIA proprement dit consiste en quelques manipulations simples:

- On ajoute 50 μ l de plasma de brebis ovariectomisée, 100 μ l de progestérone marquée et 250 μ l d'antisérum.
- Le tout est mélangé au vortex, puis laissé à incubation pendant 60 min à 37°C.
- On ajoute 250 μ l d'immunoabsorbant et on passe au vortex pour favoriser le mélange.
- La séparation est complétée par une centrifugation à 3000 rpm pendant 15 min.
- Le surnageant est éliminé au moyen d'une pompe à vide.

CHAPITRE III : RÉSULTATS.

FIGURE 1 : Histogrammes de fréquence des 4 classes de follicules selon la période de l'année et la dose de PMSG.



Avant de commencer la présentation des résultats, il est important de signaler quelques problèmes survenus en cours d'expérience. Des brebis ont été saillies accidentellement et déclarées gestantes aux endoscopies d'octobre et de janvier et nous avons donc dû les retirer de l'expérience. Ceci explique que le nombre d'animaux expérimentaux est réduit à 16 en octobre et à 14 en janvier.

Le faible nombre de brebis utilisées ne nous a pas permis de recourir à des méthodes statistiques élaborées. Seules des comparaisons de moyennes (test T de Student) et des calculs de corrélation entre deux variables ("r" et droites de régression) ont été employées.

A. ANALYSE DE LA POPULATION FOLLICULAIRE

Les endoscopies nous ont permis d'observer la population folliculaire. Nous avons arbitrairement divisé les follicules en 4 classes en fonction de leur taille :

- les petits follicules (PF), de diamètre inférieur à 2 mm.
- les moyens follicules (MF), de diamètre compris entre 2 et 4 mm.
- les gros follicules (GF), de diamètre compris entre 4 et 6 mm.
- les très gros follicules (TGF), de diamètre supérieur à 6 mm.

L'abréviation "cicov" désigne une cicatrice d'ovulation, c'est-à-dire la trace laissée par une ovulation très récente.

La figure 1 représente les histogrammes de fréquence des 4 classes de follicules selon la période de l'année et la dose de PMSG.

Les résultats sont à étudier avec circonspection car un certain chevauchement des classes a pu être le fruit de changements d'observateurs et de variations dans l'aspect des ovaires selon les circonstances.

Quelle que soit la période de l'année, une relation inverse est observée entre la taille des follicules et leur nombre par classe chez les brebis ayant reçu 500 UI de PMSG; cette constatation est en accord avec une atresie progressive en cours de développement. Avec 800 UI par contre, la distribution est plus hétérogène avec des écarts selon les saisons, ce qui semble indiquer un effet plus variable de la PMSG.

Le nombre des follicules présents sur l'ovaire est généralement, et pendant toute l'année, supérieure avec 500 UI qu'avec 800 UI de PMSG.

TABLEAU 1 : Résultats des endoscopies effectuées sur les brebis Suffolk à différentes périodes de l'année.

Période	PMSG (UI)	n	Brebis ovulant (%)	T.O.	C.V. (%)	Délai entre le retrait de l'éponge et l'ovulation (h)	C.V. (%)
Juillet 88	500	10	50	1.6 ± .6	37.5	64.7 ± 4.5	6.9
	800	10	60	2.3 ± .5	21.7	61.3 ± 2.8	4.6
		20	moy. 55				
Octobre 88	500	7	86	2.2 ± 1.3	59.1	58.7 ± .8	1.3
	800	9	67	1.8 ± .4	22.2	57.9 ± 1.3	2.2
		16	moy. 76				
Janvier 89	500	6	83	1.0 ± .0	0	58.9 ± 1.2	2.0
	800	8	50	1.75 ± .96	54.8	61.2 ± 1.1	1.8
		14	moy. 66				
Avril 89	500	10	10	1.0 ± .0	0	59.0 ± 0	0
	800	10	40	1.0 ± .0	0	60.1 ± .6	.1
		20	moy. 25				

TO = taux d'ovulation; CV = coefficient de variation.

TABLEAU 2 : pourcentage de brebis qui ont répondu au traitement (estimation à partir des dosages hormonaux).

période	PMSG (UI)	% de brebis ovulantes
Juillet 88	500	70
	800	70
	Total	70
Octobre 88	500	86
	800	78
	Total	82
Janvier 89	500	83
	800	87
	Total	85
Avril	500	40
	800	50
	Total	45

B. INDUCTION ET SYNCHRONISATION DES CYCLES

Le tableau 1 donne les résultats généraux des endoscopies pour ce qui concerne les ovulations.

La saison influence considérablement le pourcentage de brebis ovulante. La réponse moyenne est la plus faible en avril (25 %) et la plus élevée en octobre (75 %), ce qui correspond bien à l'évolution des capacités de reproduction de la brebis Suffolk.

En avril et en juillet, soit aux périodes de l'année où les pourcentages de brebis présentant une ovulation sont les plus limités, la réponse à la PMSG est augmentée par le passage de 500 à 800 UI, alors que l'inverse est observée en octobre et en janvier. Ceci confirme qu'un apport accru de PMSG a un effet variable selon le moment de l'année sur les mécanismes ovariens. L'efficacité des traitements à induire l'ovulation peut aussi être jugée à partir des dosages hormonaux.

Rappelons en effet que l'ovulation est habituellement précédée d'une décharge de LH (pic préovulatoire) d'une durée de 8 à 20 heures et que toute ovulation est suivie de la formation d'un corps jaune, structure sécrétrice de progestérone. Nous avons uniquement considéré comme ovulantes les brebis présentant à la fois un pic de LH et une hausse du taux de progestérone.

Les résultats sont donnés dans le tableau 2. Ils sont généralement et en moyenne sensiblement meilleurs que ceux obtenus par endoscopie. La raison principale en est certainement que des ovulations se sont produites en dehors de la période des endoscopies (soit 55 à 70 heures après le retrait des éponges), ce qui est le signe d'une grande dispersion.

Comme pour les endoscopies, la réponse des brebis est la plus faible en avril. Elle est aussi bonne, et supérieure à 80 %, en janvier qu'en avril.

Les effets de la dose de PMSG sont beaucoup moins marqués lorsqu'ils sont déterminés à partir des dosages hormonaux. Ceci semble indiquer que selon la saison, la dose de PMSG a un effet variable sur la dispersion des ovulations. Celle-ci pourrait être notamment nettement augmentée par la dose de 800 UI en octobre et en janvier.

Globalement, ces résultats montrent que, contrairement à ce qui est généralement avancé, même avec des doses élevées de PMSG, il peut exister un réel problème d'induction des ovulations chez la brebis Suffolk, après des traitements par progestagènes. Même en pleine période de reproduction, certaines brebis n'ovulent pas et le pourcentage de non réponse peut dépasser 50 % en anoestrus profond. Les effets de la dose de PMSG sont variables et différents selon les saisons. Une dose élevée paraît entraîner une dispersion des ovulations.

TABLEAU 3 : Comparaison des heures moyennes d'ovulation obtenues aux différentes périodes de l'année.

Période	n	Heure moyenne	T de student	Probabilité
juillet 88	20	62,92 ± 3,75	4,24	0
octobre 88	16	58,31 ± 1,15		
juillet 88	20	62,92 ± 3,75	2,25	0,98
janvier 89	14	60,05 ± 1,64		
juillet 88	20	62,92 ± 3,75	1,76	0,95
avril 89	20	59,90 ± 0,74		
octobre 88	16	58,31 ± 1,15	3,0	0,99
janvier 89	14	60,05 ± 1,64		
octobre 88	16	58,31 ± 1,15	2,85	0,99
avril 89	20	59,90 ± 0,74		
janvier 89	14	60,05 ± 1,64	0,19	0,6
avril 89	20	59,90 ± 0,74		

TABLEAU 4 : Comparaison des heures moyennes d'ovulation obtenues pour chaque dose de PMSG à différentes périodes de l'année.

Période	PMSG	n	Heure moyenne	T de student	probabilité
juillet 88	500	10	64,7 ± 4,5	1,66	0,93
	800	10	61,4 ± 2,4		
octobre 88	500	7	58,7 ± 0,8	1,33	0,88
	800	9	57,9 ± 1,3		
janvier 89	500	6	58,9 ± 1,2	3,10	0,99
	800	8	61,2 ± 1,1		
avril 89	500	10	59,0 ± 0,0	1,56	0,86
	800	10	60,1 ± 0,6		

TABLEAU 5 : Heures approximatives d'ovulation estimée grâce au pic de LH.

Période	PMSG	n	Délai entre le retrait de l'éponge et l'ovulation (h)
Juillet 88	500	10	65
	800	10	57
Octobre 88	500	7	53
	800	9	49
Janvier 89	500	6	58
	800	8	61
Avril 89	500	10	65
	800	10	63

C. LE MOMENT DE L'OVULATION.

Les endoscopies permettent de déterminer le moment des ovulations et par là, d'évaluer le délai entre le retrait de l'éponge et l'ovulation. Les valeurs doivent pourtant être considérées avec une certaine circonspection en raison de l'espacement des endoscopies et des erreurs possibles dues aux changements dans l'aspect des ovaires selon le moment du cycle et entre les individus.

Les valeurs globales obtenues pour le délai entre le retrait de l'éponge et l'ovulation sont données, ainsi que leur coefficient de variation, dans le tableau 1. Elles se situent généralement entre 58 et 63 heures. On remarque que, sauf en juillet, les coefficients de variation sont peu élevés. La dispersion des résultats est peu importante et la variabilité individuelle est relativement faible.

Les valeurs sont, dans le tableau 3, comparées statistiquement selon la période de l'année. Sauf entre janvier et avril, l'effet est toujours significatif, ce qui indique que l'action inductive de la PMSG sur l'ovulation évolue en cours d'année.

Les comparaisons statistiques des effets des doses de PMSG sont données dans le tableau 4. En juillet, l'ovulation est plus rapide après 800 UI de PMSG qu'après 500 UI. L'évolution est inverse en janvier, tandis qu'en octobre et en avril, les écarts sont moins marqués.

Le moment de l'ovulation peut aussi être évalué à partir des dosages hormonaux. En effet, le pic de LH suit l'apparition des chaleurs et précède de 17 heures environ le moment de l'ovulation (Jacques, 1984, pour la brebis Texel). Grâce aux prises de sang et au dosage de la LH, il a été possible de cerner le moment d'apparition de ce pic et d'en déduire l'heure de l'ovulation. Il faut cependant rappeler que l'analyse de la LH a été effectuée sur les plasmas recueillis chez chaque animal toutes les 8 heures seulement ce qui limite fortement la précision de l'estimation de la décharge ovulante. Nous avons considéré le moment où la décharge était maximale.

La datation de l'ovulation a été réalisée par addition de 17 heures au moment de la décharge de LH. Le tableau 5 reprend les heures approximatives d'ovulation estimées grâce au pic de LH. La différence obtenue entre les deux méthodes est très faible, ce qui tend à confirmer la valeur de ces méthodes.

Les résultats obtenus avec les 2 méthodes (tableaux 1 et 5) sont généralement très proches, sauf en octobre, période au cours de laquelle des valeurs sensiblement plus faibles sont obtenues d'après les dosages hormonaux. Mais c'est aussi la période où nous avons observé des cicatrices d'ovulation (annexe 1) chez plusieurs brebis dès la première endoscopie, ce qui indiquait que l'ovulation avait déjà eu lieu. Il est donc probable que la méthode d'endoscopie surestime le délai pour cette période.

L'induction de l'ovulation est plus rapide en octobre que pendant les autres périodes de l'année; elle est activée par une forte dose de PMSG en juillet et en octobre et,

TABLEAU 6 : Comparaison des taux d'ovulation moyen (TO) obtenus aux différentes périodes de l'année.

Période	n	TO moyen	T de student	Probabilité
Juillet 88	20	2,0 ± 0,63	0	0
octobre 88	16	2,0 ± 0,95		
juillet 88	20	2,0 ± 0,63	2,225	0,98
janvier 89	14	1,3 ± 0,7		
Juillet 88	20	2,0 ± 0,63	3,469	0,995
avril 89	20	1,0 ± 0,0		
octobre 88	16	2,0 ± 0,95	1,761	0,95
janvier 89	14	1,3 ± 0,7		
octobre 88	16	2,0 ± 0,95	2,3	0,98
avril 89	20	1,0 ± 0,0		
janvier 89	14	1,3 ± 0,7	1,035	0,85
avril 89	20	1,0 ± 0,0		

TABLEAU 7 : Comparaison des taux d'ovulation moyens obtenus pour chaque dose de PMSG à différentes périodes de l'année.

Période	PMSG	n	TO moyen	T de student	Probabilité
juillet 88	500	10	1,6 ± 0,6	2,28	0,98
	800	10	2,3 ± 0,5		
octobre 88	500	7	2,2 ± 1,3	0,587	0,75
	800	9	1,8 ± 0,4		
janvier 89	500	6	1,0 ± 0,0	1,784	0,90
	800	8	1,7 ± 0,9		
avril 89	500	10	1,0 ± 0,0		
	800	10	1,0 ± 0,0		

au contraire, ralentie en janvier. Le très faible nombre de brebis ayant ovulé en avril ne permet pas de tirer de conclusions pour cette période.

D. TAUX D'OVULATION

Le tableau 1 donne les valeurs globales et les coefficients de variabilité des taux d'ovulation déterminés par endoscopies. En avril, quelque soit la dose de PMSG et en janvier, avec 500 UI, le taux d'ovulation moyen n'est que de 1. Dans les autres circonstances, il montre une grande variabilité.

Comme pour l'heure d'ovulation, nous avons comparé statistiquement les résultats selon la période de l'année et la dose de PMSG.

Le tableau 6 donne les résultats en fonction de la période l'année. Il apparaît clairement que les taux d'ovulation sont significativement plus élevés en juillet et en octobre qu'en janvier et en avril.

Cette conclusion jointe à celles tirées pour l'induction de l'ovulation permet de conclure que la période d'octobre est la plus propice à l'action des progestagènes et de la PMSG (pourcentage et taux élevés d'ovulation) et celle d'avril la plus défavorable tant pour le pourcentage que pour le taux d'ovulation. En janvier, l'induction des ovulations est bonne mais le taux d'ovulation est médiocre alors qu'en juillet, un bon taux d'ovulation n'est pas accompagné d'un pourcentage élevé.

Le tableau 7 représente les résultats en fonction de la dose de PMSG. En juillet, et dans une moindre mesure en janvier, l'augmentation de la dose de PMSG se traduit par une amélioration du taux d'ovulation. En octobre, la variabilité est grande tandis qu'en avril, 800 UI ne permettent pas d'améliorer ce taux. Ces résultats confirment la grande variabilité des résultats selon les animaux et les saisons lorsque des doses élevées de PMSG sont utilisées.

TABLEAU 8 : Comparaison des taux plasmatiques de progestérone (P4) et des taux d'ovulation (TO) correspondant.

Période	TO	P4 (ng/ml)	
Juillet 88	1	0,79	1.30 ± .52
	1	1,82	
	2	1,03	
	2	1,41	1.71 ± .49
	2	1,54	
	2	2,09	
	2	1,87	
	2	1,41	
	2	2,61	2.26 ± .37
	3	2,62	
	3	1,89	

Période	TO	P4 (ng/ml)	
Octobre 88	1	1,15	1.66 ± .45
	1	1,67	
	1	2,36	
	1	1,44	1.76 ± .28
	2	1,50	
	2	1,45	
	2	2,06	
	2	2,02	
	3	2,76	2.87 ± .11
	3	2,98	
	3	2,98	
	4	2,92	

Période	TO	P4 (ng/ml)	
Janvier 88	1	1,30	1.50 ± .67
	1	0,80	
	1	0,85	
	1	2,22	
	1	2,71	
	1	1,57	
	1	1,06	
	2	1,42	
	3	2,66	

Période	TO	P4 (ng/ml)	
Avril 89	1	1,05	1.22 ± .25
	1	1,34	
	1	0,92	
	1	1,55	

E. RELATION ENTRE LA CONCENTRATION EN PROGESTÉRONE PLASMATIQUE ET LE TAUX D'OVULATION

Certains auteurs considèrent que le taux de progestérone circulant est un reflet direct du taux d'ovulation (Cahill et al, 1981). Etant donné que nous disposions de brebis présentant des taux d'ovulation variants de 1 à 4, nous avons décidé de vérifier cette hypothèse.

La comparaison est donnée dans le tableau 8. On peut constater que la concentration moyenne de P4 est toujours inférieure à 1.7 ng/ml en cas d'ovulation simple et qu'elle est nettement supérieure à 2 ng/ml pour des ovulations triples ou quadruples. La comparaison statistique des résultats des mois de juillet, octobre et janvier donne les résultats suivants :

	r	P	régression
juillet	.52	.95	$y = 0.784 + 0.475 x$
octobre	.76	.995	$y = 1.036 + 0.496 x$
janvier	.45	.85	$y = 0.996 + 0.469 x$

On peut donc admettre que plus la brebis présente un taux d'ovulation élevé, plus le taux de P4 circulant est important.

Au vu des résultats moyens de la progestéronémie comme à l'observation des droites de régression, une tendance semble se dessiner pour des taux de P4 d'autant plus importants que l'on est proche de la pleine saison de reproduction. Mais l'analyse statistique ne nous permet pas d'affirmer que l'activité du corps jaune varie avec la saison.

F. POURSUITE DE L'ACTIVITÉ CYCLIQUE

Le dosage de la P4 nous permet également de vérifier si l'activité cyclique des brebis se poursuit après l'ovulation et le cycle induit par traitement. Ces données sont uniquement intéressantes en cas d'anoestrus car en octobre toutes les brebis connaissent une succession de cycles avant et après le traitement et le test n'a aucun intérêt. En avril, le nombre de brebis ayant répondu au traitement étant très faible, nous n'avons pas jugé utile de réaliser le test.

Les résultats sont donnés par le tableau 9. Ils montrent que, tant en janvier qu'en juillet, les brebis poursuivent leur activité reproductrice en proportion relativement importante après le cycle induit. Ces proportions pourraient être augmentées par un dosage accru de PMSG.

TABLEAU 9 : Pourcentage des brebis qui ont poursuivi une activité cyclique après le traitement en juillet et en janvier.

Période	PMSG	% de brebis qui ont repris une activité sexuelle.
Juillet 88	500	57%
	800	71%
Janvier 89	500	50%
	800	57%

TABLEAU 10 : Poids vifs et taux d'ovulation (TO) des brebis au cours des 4 périodes

Poids (kg) (18/07/88)	TO	Poids (kg) (08/10/88)	TO	Poids (kg) (23/01/89)	TO	Poids (kg) (17/04/89)	TO
82	2	82	2	74	1	75	0
83	0	79	2	55	1	53	0
70	0	62	0	87	0	84	0
91	0	92	3	73	1	85.5	0
87	0	86	0	60	3	75	0
75	1	70	1	64	1	61.5	1
69	0	70	2	69	2	61.5	0
67	2	73	2	76	0	70	0
62.5	0	64	1	70	1	61	1
60	2	59	4	73	1	77	1
68	2	66	1	62	1	75.5	1
70	2	69	3	70	1	59	0
75	0	77	2	60	0	74	0
73	0	75	0	61	0	80	0
68	1	74	0			74	0
74	2	79	1			70	0
78	2					72.5	0
70	3					67	0
71	3					77.5	0
78	0					66	1

G. EFFETS DU POIDS ET DE L'AGE DES BREBIS

Selon Morley et al (1978, cités par Scaramuzzi et Radford, 1983) les relations existantes entre le poids vif des brebis et leur taux d'ovulation seraient linéaires et positives au sein d'une même race.

Le tableau 10 reprend le poids vif des brebis au cours des quatre périodes ainsi que leur taux d'ovulation.

Quelque soit la période de l'année, le coefficient de corrélation entre ces deux facteurs est faible (r de 0,32; 0,03; 0,3 et 0,19 respectivement en juillet, octobre, janvier et avril).

Cette observation est surprenante mais justifiée lorsqu'on observe des cas individuels : en octobre, la brebis n° 58 a présenté 4 ovulations alors qu'elle ne pesait que 59 kg, par contre, les brebis n° 37 et 64 présentaient chacune 3 ovulations et pesaient respectivement 92 et 69 kg. L'effet du poids est donc complexe.

Par contre, une relation évidente existe entre le taux d'ovulation et l'âge des brebis. En octobre, ce taux est de 1,6 chez les brebis de 5 et 6 ans, de 1,3 chez celles de 4 et 5 ans et de 1.0 chez celles de 2 à 4 ans. Ces résultats sont repris dans le tableau 11.

TABLEAU 11 : Taux d'ovulation (TO) en fonction de l'âge des brebis.

Age	N	Nombre d'ovulation	T.O
5-6 ans	5	8	1.6
4-5 ans	3	4	1.3
2,3-4 ans	7	11	1.0

CHAPITRE IV : DISCUSSION ..

Un des premiers objectifs de ce travail est la maîtrise du moment de l'ovulation afin de réaliser l'insémination artificielle. La littérature nous a montré que ceci était possible en imposant aux femelles un traitement hormonal associant à un progestagène une injection de PMSG. De plus, l'injection intramusculaire de PMSG stimule la croissance folliculaire, induit les cycles en anoestus et augmente le taux d'ovulation.

Nous avons donc comparé les effets de deux doses de PMSG à différentes périodes de l'année.

A. LA POPULATION FOLLICULAIRE.

Les histogrammes représentant la répartition des follicules ovariens selon leur taille montrent que, pour 500 UI, la distribution des différentes catégories de follicules obtenue est identique pour les 4 périodes. On observe en effet une distribution décroissante des follicules de la catégorie PF à la catégorie TGF. Pour 800 UI, par contre, aucune relation de la sorte ne peut être observée et la distribution est assez variable selon les saisons. En général, on peut dire que le nombre de follicules présents sur l'ovaire est supérieur avec 500 UI qu'avec 800. Ces résultats sont très imprécis et donc difficiles à analyser. Ils laissent pourtant déjà apparaître un effet variable de la dose élevée selon les saisons.

B. INDUCTION ET SYNCHRONISATION DES CYCLES.

1. EFFETS DE LA SAISON ET DE LA DOSE DE PMSG

Selon la littérature, quelle que soit la saison de reproduction, le placement d'éponges vaginales et les injections de PMSG permettent d'induire les chaleurs chez la majorité des brebis. La venue en chaleur est normalement de 100% chez les brebis traitées au cours de la saison de reproduction (Bister et al, 1987). En octobre, nous avons, au cours de la présente expérience, obtenu seulement 82% de brebis répondant par une ovulation au traitement pour l'ensemble des deux doses de PMSG. Ceci n'est guère satisfaisant puisque normalement à cette période de l'année toutes les brebis connaissent une succession de cycles naturels. Ces résultats sont d'autant plus surprenants que nous avons obtenus un résultat équivalent (85.2%) en janvier (fin de la saison de reproduction). L'effet du traitement est satisfaisant en juillet (70%) et médiocre en avril (45%). Il apparaît donc que le traitement hormonal tel qu'il est classiquement recommandé n'a pas donné les résultats escomptés, surtout en dehors de la saison de reproduction. Certains expliquent la mauvaise venue en chaleur par la perte de l'éponge mais ceci n'a jamais été observé au cours de nos expériences. La brebis de race Suffolk, fortement

traitées montrent un comportement d'oestrus, il est possible que, chez certaines brebis, ce comportement apparaisse sans être accompagné d'ovulation.

Le génotype de l'animal est probablement le facteur le plus important dans la réussite de l'intensification de la reproduction. Les différences entre les races sont telles que des brebis de race Finnoise peuvent naturellement, c'est à dire sans traitement hormonal se reproduire deux fois au cours d'une même année (Walton et Robertson, 1974). Par contre ceci n'est observé que seulement dans 8 cas sur 5100 pour la race Suffolk, en France (Perret et Roussely, 1984). Cette aptitude au désaisonnement se répercute bien entendu sur les résultats obtenus après induction artificielle de l'ovulation.

Il ressort des résultats qu'une dose de 800 UI diminue le nombre de brebis réfractaires au cours de l'anoestrus; par contre, en octobre, 500 UI donnent des meilleurs résultats. Il semblerait donc qu'il y ait lieu d'adapter la dose de PMSG à la saison et de vérifier si une dose de 800 UI n'est pas minimale à contre-saison et trop forte en saison.

2. EFFETS DE FACTEURS EXTÉRIEURS.

De nombreux facteurs extérieurs, climatiques (pluies, température ambiante trop élevée) ou autres (prises de sang, manipulation des brebis...) peuvent par le stress qu'ils engendrent, perturber gravement le mécanisme ovarien et le taux d'ovulation des brebis (Bister et al, 1987). Ces facteurs peuvent sans doute amener certains éléments de réponse puisque nos brebis ont subi une série de prises de sang et des endoscopies répétées. Il a été montré que des taux élevés de cortisol, observés en cas de stress important, sont susceptibles de bloquer les décharges de LH et d'inhiber l'ovulation (Piroux et al, 1989).

C. L'HEURE DE L'OVULATION.

I. EFFET DE LA SAISON.

La période de l'année a une influence sur l'intervalle entre la fin du traitement hormonal et l'ovulation. Celle-ci est en effet retardée en moyenne de 4.6, 1.7 et 1.6 heures en juillet, janvier et avril par rapport à la saison de reproduction (octobre). Cette influence a également été observée par d'autres auteurs et peut être reliée à la variation saisonnière de sensibilité du système nerveux central aux oestrogènes (Cognié et al, 1970; Evans et Robinson, 1980).

2. EFFET DE LA DOSE DE PMSG.

Il a été établi que l'augmentation de la dose de PMSG s'accompagne parfois d'un raccourcissement de l'intervalle retrait de l'éponge-heure de l'ovulation (Cognié et al, 1970). Ceci ne se marque pas dans notre expérience ; l'effet de la dose est non significatif pour 3 des 4 périodes envisagées et variable selon la période. De plus, les deux méthodes utilisées pour estimer le moment de l'ovulation à savoir l'observation d'une cicatrice d'ovulation sur l'ovaire et le moment de la décharge ovulatoire de LH concordent, ce qui tend à confirmer la valeur de ces observations.

Selon Cognié et al (1970), l'ovulation apparaîtrait environ 54 heures après le retrait de l'éponge chez la Texel; nous n'avons pas obtenu des résultats similaires; en moyenne nos brebis ont ovulé 58 à 63 heures après le retrait. De plus la variabilité individuelle est très grande : certaines brebis ont ovulé 70, 82 voir 130 heures plus tard.

3. FACTEURS EXTERIEURS.

Des perturbations de la troupe de femelles au moment de l'apparition des chaleurs (prises de sang, changements d'environnement, manipulation...) peuvent retarder la mise en place du pic préovulatoire et de l'ovulation de plus de 24 heures (Martin, 1984). La précision de la synchronisation des ovulations pourrait donc être influencée par des modifications de l'environnement.

D. LE TAUX D'OVULATION.

1. EFFET DE LA SAISON.

Il existe une relation directe entre la réussite du contrôle artificiel de l'ovulation et la saison. Lorsqu'on considère les résultats obtenus, on observe que le taux d'ovulation après le traitement est relativement élevé en saison sexuelle ($2.0 \pm .95$ en octobre) mais diminue déjà en anoestrus léger ($1.3 \pm .7$ en janvier) et est faible en anoestrus profond ($1.0 \pm .0$ en avril). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Muurling et al (1969) et par Holtz et al (1977) sur des brebis Texel ou croisées Texel. Ceci ne nous permet cependant pas d'expliquer le taux d'ovulation relativement élevé obtenu en juillet ($2.0 \pm .63$) qui est normalement une période d'anoestrus léger.

Il faut cependant remarquer que la période de reproduction de la brebis Suffolk n'a pas encore été établie avec précision ; il se pourrait donc que les brebis soient déjà en cycle en juillet. Il serait donc intéressant de connaître pour chaque période et en particulier pour juillet si, au moment du traitement hormonal, les brebis étaient ou non en activité

sexuelle. Ce contrôle serait possible grâce au test d'activité ovarienne qui permet, en dosant la progestérone sérique au cours de 2 prises de sang séparées de 10 jours, de contrôler l'état physiologique de la brebis.

D'autre part, la brebis Suffolk est utilisée depuis de très nombreuses générations pour la production d'agneaux de Pâques. Elle est donc mise à la reproduction au mois de juillet. Même si cette période constitue le tout début de sa saison de reproduction, il est permis de penser que la pression de la sélection s'est opérée sur cette race dans le sens d'une amélioration de la fécondité en ce début de saison sexuelle.

Ces résultats sont en accord avec les observations réalisées en pratique; la synchronisation des cycles réalisée en grand nombre donne des résultats généralement moyens mais qui ne diffèrent pas entre juillet et novembre (Meerschaert et al, non publié).

2. EFFET DE LA DOSE DE PMSG.

Le rôle de la PMSG est de mieux synchroniser les chaleurs et l'ovulation mais aussi de stimuler l'ovaire afin d'obtenir un TO élevé.

Dans nos expériences, rien ne nous permet de conclure à un effet superovulatoire généralisé de la PMSG avec les doses que nous avons utilisées car sur l'ensemble de l'expérience nous n'avons observé que quelques fois 3 ovulations et une seule brebis a présenté 4 ovulations simultanées (brebis 58 en octobre avec 500 UI). Ceci est en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs qui ont montré que les lignées prolifiques semblent mieux répondre à une stimulation par la PMSG et que l'administration d'une faible dose a un effet superovulatoire (Prud'hon et al, 1975); par contre, chez des races peu fécondes et fortement saisonnées (comme la Suffolk), même avec des fortes doses de PMSG de l'ordre de 750 à 1000 UI cet effet n'est pas constant. Ceci avait déjà été montré pour la brebis Texel, autre race belge de grand gabarit et fortement saisonnée (Bister et al, 1987 ; Bister et al, 1983 ; Heins et al, 1986).

La dose de PMSG injectées en fin de traitement paraît pourtant déterminante. Des expériences réalisées sur des brebis Texel préalablement synchronisées aux progestagènes ont démontré qu'une injection de 600 à 700 UI de PMSG constitue l'idéal (Calus et al, 1987). A contre-saison des doses plus élevées sont recommandables. Nos résultats montrent que, lors de nos diverses expériences, c'est une dose de 800 UI qui a donné les meilleurs résultats à contre-saison tandis que 500 UI s'est avéré meilleur en octobre. Les résultats obtenus à contre-saison sont en accord avec ceux relevés dans la littérature, mais rien ne nous permet d'expliquer les résultats d'octobre. La dose de PMSG devrait donc être ajustée en fonction de la race et de la saison.

La plupart des brebis du troupeau avait déjà été incluses dans des essais précédents d'induction de l'ovulation par des traitements hormonaux et on peut se demander si, dans ce cas, il ne serait pas nécessaire d'augmenter les doses de PMSG à cause de l'activité

antigénique de cette dernière. Selon Mauléon (1975) lorsqu'on fait des traitements rapprochés tous les 17 jours par exemple, il y a formation d'anticorps contre la PMSG, ce qui nécessite, si on désire une réponse constante, une augmentation de la dose injectée. Mais avec un rythme d'utilisation telle que celui de 3 injections de doses élevées (1000 UI) en deux ans il n'y a pas de diminution de la réponse pendant la vie de la brebis. Nous avons injecté de la PMSG 4 fois en 10 mois, la présence d'anticorps anti-PMSG mériterait donc peut-être d'être vérifiée.

E. FACTEURS POUVANT EXPLIQUER LA VARIABILITÉ DES RESULTATS OBTENUS.

La PMSG a une très longue demi-vie; elle pourrait donc provoquer une perte de réceptivité et une désensibilisation des cellules ovariennes aux hormones gonadotropes et principalement à la LH (Gosling et al, 1979). Il s'ensuivrait un manque de lutéinisation des cellules et l'environnement hormonal ne serait plus favorable à la survie et au développement des embryons. Les expériences qui diminuent le temps d'action de la PMSG par injection d'anticorps contre la PMSG améliorent les résultats de superovulation (Dhont et al, 1978, cités par Gosling et al, 1979).

Plusieurs composés agissant directement ou indirectement sur l'ovaire ont été identifiés dans le fluide folliculaire : anti-aromatizing protein (Di Zerega et al, 1982), follicular growth inhibitor (Cahill et al, 1984), inhibine (Tsonis et al, 1983). L'hypersensibilité à quelques-unes de ces cybernines pourrait expliquer la réponse décroissante à des traitements superovulatoires répétés (Hulet et Foote, 1969, cités par Driancourt, 1987).

La qualité des lots de production de PMSG pourrait être inégale mais Quilliardsen et al (cités par Steward et al, 1976) ont montré que le taux d'ovulation induit par la PMSG ne varie pas entre lots.

F. AUTRES FACTEURS

La corrélation entre le taux plasmatique de P4 et les TO correspondant est positive. Nous pouvons donc admettre, en accord avec Cahill et al (1981) que plus la brebis présente un TO élevé, plus le taux de P4 circulant est important.

Au vu des résultats moyens de la progestéronémie, comme à l'observation des droites de régression une tendance semble se dessiner pour des taux de P4 d'autant plus importants que l'on est proche de la pleine saison de reproduction. Mais l'analyse statistique ne nous permet pas d'affirmer que l'activité du corps jaune varie avec la saison.

L'inconvénient majeur des techniques d'induction de l'ovulation est que le cycle induit n'est pas suivi d'autres si la femelle se trouve en dehors de la saison de reproduction. Il est donc généralement impossible de profiter d'un éventuel retour en chaleurs. Nous avons cependant observé des pourcentages de retour en cycle non négligeables en janvier et juillet et supérieurs avec 800 UI (71 % en juillet et 57 % en janvier) qu'avec 500 UI (57 et 50 % respectivement).

Allison (1974) observe une relation évidente et positive entre le poids vif des brebis et le taux d'ovulation. Cette relation n'a pas été mise en évidence dans notre expérience : les coefficients de corrélation obtenus sont faibles, négatifs et non significatifs pour les quatre périodes envisagées. L'injection de PMSG se faisant en intramusculaire, le produit injecté se repand dans la masse corporelle et il se pourrait que plus une brebis a un poids vif élevé, plus le produit est dilué; il se retrouverait donc en concentration moins importante dans le sang que dans le cas d'une brebis moins grosse qui reçoit une même dose de PMSG. Ceci n'est en fait qu'une hypothèse et n'a pas été prouvé, mais il est intéressant de voir que les ovulations multiples ont été souvent enregistrées chez les femelles les plus légères.

Il apparait clairement que ce sont les brebis les plus âgées qui donnent les meilleurs résultats, en raison de l'évolution bien connue selon l'âge mais probablement aussi parce que on ne garde une brebis jusqu'à un âge avancé que si ses performances sont bonnes.

CHAPITRE V : CONCLUSIONS.

L'objectif de ce travail a été de déterminer, en fonction de la saison de reproduction, les effets de deux doses de PMSG (500 et 800 UI) sur l'efficacité de l'induction et de la synchronisation des cycles, sur le moment de l'ovulation et sur le taux d'ovulation chez la brebis Suffolk. Le traitement hormonal tel qu'il est classiquement recommandé n'a pas donné les résultats escomptés, surtout en dehors de la saison de reproduction.

Le nombre de follicules présents sur l'ovaire est généralement, et pendant toute l'année, supérieur avec 500 UI qu'avec 800 UI.

Les doses que nous avons utilisées ne nous ont pas permis de mettre en évidence l'effet superovulatoire de la PMSG.

Même avec des doses élevées de PMSG, il peut exister un réel problème d'induction des ovulations après des traitements aux progestagènes.

Les effets de la dose de PMSG sont variables et différents selon les saisons. Une dose élevée paraît entraîner une dispersion des ovulations.

Pour l'ensemble de l'expérience on peut estimer que les brebis ont en moyenne ovulé 58 à 63 heures après le retrait de l'éponge. Cependant la variabilité individuelle est très grande.

La période d'octobre est la plus propice à l'action des progestagènes et de la PMSG et celle d'avril est la plus défavorable. En janvier l'induction des ovulations est bonne mais le taux d'ovulation est médiocre alors qu'en juillet un bon taux d'ovulation n'est pas accompagné d'un pourcentage élevé de réponses.

Nous avons observé des pourcentages de retour en cycle non négligeables et supérieurs avec 800 UI (71,4% en juillet et 57% en janvier) contre 57% et 50% avec 500 UI.

Nous avons établi que plus la brebis présente un taux d'ovulation élevé plus le taux de progestérone circulant est important, ce qui est certainement en relation avec le nombre de corps jaune actifs.

Aucune relation n'a été mise en évidence entre le poids vifs des animaux et leur TO, mais une relation apparaît en octobre entre l'âge des brebis et leur TO : les plus âgées donnent les meilleurs résultats.

CHAPITRE VI : PERSPECTIVES DE RECHERCHES
POUR L'AVENIR.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que les techniques de synchronisation et d'induction de l'ovulation, classiques et préconisées dans la littérature ne sont guère satisfaisantes lorsqu'elles sont appliquées à des brebis de race Suffolk. Des recherches pourraient encore être entreprises pour mettre au point une technique plus performante :

Dans un premier temps, il serait utile de définir avec plus de précision la période d'activité sexuelle de la brebis Suffolk et notamment de déterminer la relation exacte entre l'apparition du comportement d'oestrus et l'ovulation.

Il faut aussi choisir avec précision le traitement optimum (type d'éponge, dose et moment de l'injection de PMSG) en fonction de la saison, de la race et du poids de la brebis.

Ensuite il serait intéressant de tester des techniques plus sophistiquées comme de placer des implants de mélatonine pour provoquer un réveil du système reproducteur préalable à la synchronisation des ovulations.

Il semble aussi indispensable de faire des recherches à un niveau plus fondamental : culture in vitro de follicules prélevés à différents moments et soumis à des stimulations standardisées de PMSG.

BIBLIOGRAPHIE.

- ACRITOPOULOU S., HARESIGN W., FOSTER J.P. et LAMMING G.E. 1977. Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injections of an analogue of prostaglandin F₂. *J. Reprod. Fertil.* 49, 337-340.
- ACRITOPOULOU S. et HARESIGN W., 1980. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2a given at different stages of the oestrus cycle. *J. Reprod. Fert.* 58, 219-223.
- ALIFAKIOTIS T., MICHAILEDIS I. et GAVRILIDIS G., 1982. Induced breeding in anoestrus milking ewes of dairy breeds: comparison of norgestomet, medroxyprogesterone and fluorogestone in two regimes of PMSG. *Theriogenology*, 18, 6.
- ALLISON A.J. 1974. Effect of nutritionally induced live-weight differences on the ovarian response and fertility in ewes treated with Pregnant mare's serum gonadotrophin. *N.Z.J. Agric. Res.* 18, 101-107.
- BAIRD D.T. et SCARAMUZZI R.J. 1976. Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary Endocrinol. 70, 237-245.
- BAIRD D.T. et Mc NEILLY A.S. 1981. Gonadotrophic control of follicular development and secretion in the sheep oestrus cycle. *J. Reprod. Fert. Suppl* 30, 119-133.
- BINDON B.M. 1984. Reproductive biology of the Booroola Merino sheep. *Austr. J. Biol. Sci.* 37, 163-189.
- BINDON B.M., BLANC M.R., PELLETIER J., TERQUI M. et THIMONIER J. 1975. Oestrus et ovulation chez les brebis après induction de la lutéolyse par un analogue des prostaglandines dans quatre troupeaux de prolificité différente. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 16, 169.
- BINDON B.M., BLANC M.R., PELLETIER J., TERQUI M. et THIMONIER J. 1979. Perioovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J. Reprod. Fert.* 55, 15-25.
- BISTER J.L. 1980. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences : Influence de la photopériode sur la physiologie de la reproduction de la brebis Texel, Facultés Universitaire Notre-Dame de la paix, Namur.

- BISTER J.L. 1988. Cours de première licence en Biologie : Physiologie animale, Facultés universitaires Notre-Dame de la Paix, Namur.
- BISTER J.L., ARTOISENET.P. et PAQUAY R. 1983. Traitement hormonaux et productivité de la brebis Texel en saison normale de reproduction. *Revue de l'Agriculture*, 36 (5), 1451-1458.
- BISTER J.L., PAQUAY R., 1983. Fluctuations in the plasma levels of the follicle-stimulating hormone during oestrus cycle, anoestrus, gestation and lactation in the ewe : evidence for and endogenous rhythm of FSH release. *Theriogenology*. 25, 53-70.
- BISTER J.L., HEINS T. et PAQUAY R. 1986. PMSG and fertility of the Texel ewe. *Archives internationales de Physiologie et de Biochimie*. 95, (2).
- BISTER J.L., CALUS A.C. et PAQUAY R., 1987. Acceleration des processus de reproduction. *Revue de l'agriculture* n°3, vol 40, pp 675-684.
- BOUR B., PALMER E. et DRIANCOURT M.A., 1984. Stimulation of ovarian activity in the pony mare during winter anoestrus. Dans: *Endocrine Causes of Seasonal and Lactational Anoestrus in Farm Animals*. Eds. Ellendorff F. et Elsaesser F. pp 85-97. Martinus Nijhoff.
- BRÄNNSTRÖM M. 1988. Mechanism of ovulation : studies using the in vitro perfused rat ovary.
- BRÄNNSTRÖM M., KOOS R.D., LEMAIRE W.J et JANSON P.O. 1987. Cyclic adenosine 3',5' monophosphate induced ovulation in the perfused rat ovary and its mediation by prostaglandins *Biol. Reprod*, 37 , 1047-1053.
- BRÄNNSTRÖM M., WOESSNER J.F., KOOS R.D., SEARC.H.J. et LEMAIRE W.J. 1988. Inhibitors of mammalian tissue collagénase and metalloproteinases suppress ovulation in the perfused rat ovary. *Endocrinology*, 122, 1715-1721.
- BYSKOV A.G.X., 1978, Follicular Atresia. Dans : *The vertebrate ovary*. Ed Jones R.C., 553-562, Plenum Press, New York
- CAHILL L.P., MARIANA J.C. et MAULEON P. 1979. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol*, 14, 76, Abst.
- CAHILL L.P. et MAULEON P. 1980. Influence of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J. Reprod. Fert.* 58, 321-328.

- CAHILL L.P. et MAULEON P., 1981. A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. *J. Reprod. Fert.* 61, 201-206.
- CAHILL L.P., SAUMADE J., RAVVAULT J.P., BLANC M., THIMONIER J., MARIANA J.C. et MAULEON P., 1981. Hormonal and follicular relationship in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod.Fert.* 62,141-150.
- CAHILL L.P., CLARKE I.J., CUMMINS J.T., DRIANCOURT M.A., CARSON R.S. et FINDLAY J.K. 1984. An inhibitor action at the ovarian level of ovine follicular fluid on PMSG induced folliculogenesis in hypophysectomized ewes. In. Proc. 5 th ovarian Workshop, pp 35-39. Eds. D.O. toft et R;J;Ryan ovarian workshop, champaign.
- CALUS A.C., CALLENS L., CARTON B. et BISTER J.L., 1987, Contrôle du cycle. *Revue de l'agriculture*, 40.
- COGNIE Y., MARIANA J.C. et THIMONIER j. 1970. Etude du moment d'ovulation chez la brebis normale ou traitée par un progestagène associé ou non à une injection de PMSG. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 10, (1), 15-24.
- COGNIE Y., 1988. Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. *Produc. Anim* 1(2), 83-92
- COLLIGNON J.L., 1984. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques : L'effet bélier, F.U.N.D.P. Namur.
- CUMMINS L.J., BINDON B.M., O'SHEA T. et PIPER L.R., 1980. Effects of ovine follicular fluid gives during induced luteolosis in control and Booroola Merinos. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 12, 50 (abst).
- CUMMINS L.J., O SHEA T., AL OBAIDI S.A.R., BINDON B.M. et FINDLAY J.K.,1986. Increase in ovulation rate after immunization of Merino ewes with a fraction of bovine follicular fluid containing inhibin activity. *J. Reprod. Fert.* 77. 365-372.
- CRAPLET C. et THIBIER M., 1980., *Le mouton*. Edition Vigot tome IV (p 163).

- DARGA N.C. et REICHERT L.F. JR., 1979. Evidence of a low Molecular weight follitropin binding inhibitor in bovine follicular fluid. *Adv. Exp. Med. Biol.* 112, 283-388.
- DERYCKE G., BISTER J.L., PAQUAY R., 1987. Comparison between FGA and MAP impregnated sponges on the fertility and fecundity of the Texel ewe in the breeding season. *Soc. Belge de Physiologie et de Pharmacologie, Liège* 95 (3), 62.
- DI ZEREGA G.S. et HODGEN G.D., 1980. The primate ovarian cycle : suppression of human menopausal gonadotrophin-induced follicular growth in the presence of the dominant follicle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50, 819-825.
- DI ZEREGA G.S. et HODGEN G.D., 1981. Folliculogenesis in the primate ovarian cycle. *Endocr. Rev.* 2, 27-49.
- DI ZEREGA G.S., GOEBELSMANN U. et NARAMURA K., 1982. Identification of protein(s) secreted by the preovulatory ovary which suppresses the follicular response to gonadotrophins. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 54, 1091-1096.
- DI ZEREGA G.S., ARRS R.P., ROCHE P.C., CAMPEAU J.D. et KLING O.R. 1983. Identification of proteins in pooled human follicular fluid which suppresses follicular response to gonadotrophins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56, 35-41.
- DRIANCOURT M.A., 1987. Ovarian features contributing to the variability of PMSG induced ovulation rate in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 80, 207-212.
- DRIANCOURT M.A. et CAHILL L.P., 1984. Preovulatory follicular events in sheep. *J. Reprod. Fert.* 71, 205-211.
- DRIANCOURT M.A., GIBSON W.R. et CAHILL L.P., 1984. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. A Review. *Reprod. Nutr. Develop.*, 25 (IA), 1-15.
- DRIANCOURT M.A., CAHILL L.P. et BINDON B.M., 1985. Ovarian follicular populations and preovulatory enlargement in Booroola and control Merino ewes *J. Reprod. Fert.* 73, 93-107.
- DRIANCOURT M.A. , GAILD I.K., TERQUI M. et WEBB R., 1986. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. *J. Reprod. Fert.*, 78, 565-575.

- DUFOUR J., CAHILL L.P. et MAULEON P., 1979. Short and long term effects of hypophysectomy and unilateral ovariectomy on follicular populations in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 57, 301-309.
- EVANS G. et ROBINSON T.J., 1980. The control of fertility in sheep : endocrine and ovarian responses to progestagenPMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *J. Agric. Sci., Camb.*, 94, 69-88.
- FAROOKHI R., 1980. Effects of androgen on induction of gonadotropin receptors and gonadotrophin-stimulated adenosine 3', 5'-monophosphate production in rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, 106 (4), 1216-1223.
- FINDLAY J.K. et CUMMING I.A., 1976. FSH in the ewe : effects of season, live, weight and plane of nutrition on plasma FSH and ovulation rate. *Biol. Reprod.*, 15, 335-342.
- FINDLAY J.K., CUMMINS L., O'SHEAT T. et BINDON B., 1981. Suppression of plasma FSH in ovariectomized ewes given follicular fluid. *Proc. Austr. Soc. Reprod. Biol.*, 13, 34 (abst).
- FOSSION M., 1986. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques: Retour en cycle de la brebis Texel en postpartum au début de la période normale de lutte., F.U.N.D.P., Namur.
- GOODMAN R.L. et KARSH F.J., 1981. A critique of the evidence on the importance of steroid feedback to seasonal changes in gonadotrophin secretion. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 30, 1-13.
- GORDON I. 1977. Management of reproduction in shepp and goat, symposium. Univ. Wisconsin. pp 15-30.
- GOSLING J.P., RYAN.M. et MORGAN P., 1979. Could hormone induced loss of gonadotrophin receptors reduce the efficiency of superovulations stimulated by PMSG? *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 19 (5), 1499-1509.
- GREYLING J.P.C., VAN DER WESTHUYSEN J.M. et VAN NIERERK L.H., 1979. The synchronisation of oestrus in sheep 1 Dosage and time of prostaglandin administration following progestagen pretreatment. *S Afr. J. Anim. Sci.* 9, 185-192.

- GREYLING J.P.C., VAN DER WESTHUYSEN J.M., 1980. The synchronisation of oestrus in sheep 5 The interval between prostaglandine injections in the double injection regime. *S Afr.J. Anim. Sci.* 10, 73-75.
- HACKETT J.M., 1982. effects of dose of pregnant Mare's serum gonadotrophin on the reproductive performance of ewes synchronized for oestrus and housed in total confinement. *Can. J. Animal Sci.*, 62, 291-294.
- HEINS T., BISTER J.L., ARTOISENET P. et PAQUAY R. 1986. Influence d'une dose élevée de PMSG sur la fécondité deqs brebis Texel en saison naturelle de lutte. *Revue de l'agriculture* n°2, vol 39.
- HENDERSON K.M., FRANCHIMONT P., LECOMTE-YERNA M.J., HUDSON N. et BALL K., 1984. Increase in ovulation rate after active immunization of sheep with inhibin partially purified from bovin follicular fluid. *J. Endocr.*, 102, 305-309.
- HILLIER S.G., BOOGAARD A.M.J., REICHERT L.E. et VAN HALL E.V., 1980. Intra-ovarian sex hormone interactions and the regulation of follicular maturation : aromatisation of androgens by human granulosa cells *in vitro*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50, 640-647.
- HOLTZ W., NITTER G. et THUME O., 1977. Control of the oestrus cycle in sheep under German field conditions. *European Association for Animal Production : 28th Annual Meeting*.
- IRELAND J.J., 1987. Control of follicular growth and development. *J. Reprod. Fert. suppl.*, 34, 39-54.
- JACQUES E., 1984. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques : La croissance folliculaire chez la brebis Texel. F.U.N.D.P., Namur.
- KAMMERLADE W.G., WELCH R.E., NALDANDOV A.V. et NORT H.W., 1952. Pituitary activity of sheep in relation to the breeding season. *J. Anim. Sci.*, 11, 646-655.
- LALHOU-KASSI A. et Marie M., 1981. A note on ovulation rate and embryonic survival in D'man ewes, *Anim. Prod.*, 32, 227-229.

- LALHOU-KASSI A., SCHAMS D. et GLATZEL P., 1984. Plasma gonadotrophin concentrations during the oestrus cycle and after ovariectomy in two breeds of sheep with low and high fecundity. *J. Reprod. Fert.*, 70, 165-173.
- LAND R.B., 1976. The sensitivity of the ovulation rate of Finnish Landrace and Blackface ewes to exogenous oestrogen. *J. Reprod. Fert.*, 48, 217-218.
- LAND R.B., 1979. Improvement in gonadal function through modification of negative feed-back. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 19 (5), 1569-1574.
- LAND R.B., PELLETIER J., THIMONIER J. et MAULEON P., 1973. A quantitative study of genetic differences in the incidence of oestrus, ovulation and plasma luteinizing hormone concentration in the sheep, *J. Endocr.*, 58, 305-315.
- LEGAN S.J., KARSCH F.J. et FOSTER D.L., 1977. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe : a marked change in response to the negative feedback action of oestradiol on luteinizing hormone secretion. *Endocrin.*, 101, 818-824.
- MARTIN C., 1984. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques : La pulsativité de la LH au cours du cycle de la brebis Texel, F.U.N.D.P., Namur.
- MAULEON P., 1975. L'utilisation de la PMSG. Dans : Maitrise des cycles sexuels chez les ovins. Etat actuel et perspectives, 165-169. *Comptes rendus*, Searle, Paris.
- MAULEON P. et MARIANA J.C., 1977. Oogenesis and folliculogenesis. Dans: *Reproduction in Domestic Animals*. Eds: Cole H.H. et Cupps E.T. pp 175-198. Academic Press. New York.
- McNATTY K.P., GIBB M., DOBSON C., et THURLEY D.C., 1981. Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. *J. Endocr.*, 90, 375-389.
- McNATTY K.P., KIEBOOM L.E., Mc DIARMID J., HEATH D.A. et LUN S., 1986. Adenosine cyclic 3'-J'- monophosphate and steroid production by small ovarian follicles from Booroola ewes with and without a fecundity gene. *J. Reprod. Fert.*, 76, 471-480.

- McNATTY K.P., HUDSON N., HENDERSON K.M., GIBB M., MORRISON L., BALL K. et SMITH P., 1987. Differences in gonadotrophins concentrations and pituitary responsiveness to GNRH between Booroola ewes when were homozygous (FF), heterozygous (F+) and non carriers (++) of a major gene influencing they ovulation rate. *J. Reprod. Fert.*, 80, 577-588.
- MUURLING F., BRAND A. et WILLEMSE A.H., 1969. Oestrusinductie bij Texelse in het vroege anoestrusseizoen. *Tijdschr. Diergeneesk.*, deel 94, afl 12.
- OUSSAID B., 1982. Etude de l'activité ovarienne et de la stimulation pendant l'anoestrus chez la brebis Ile-de-France. Doctorat, 3ème cycle, Paris VI.
- PELLETIER J., 1974. Influence de la lactation sur la décharge préovulatoire de LH indirecte par l'injection de LRF synthétique chez la brebis durant la période d'anoestrus saisonnier. *CR Acad Sci. Shic D*, 279, 179-182.
- PERRET G., ROUSSELY M., 1984. Performances de reproduction des femelles des races ovines exploitées en France. 9e journées Rech. Ovine et Caprine. pp 29-61.
- PIRAUX C., 1985. Memoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques : Etude de la secretion de la P.R.L. lors de différentes phases de l'activité sexuelle de la brebis Texel, F.U.N.D.P., Namur.
- PIRAUX C., BISTER J.L., MANDIKI S.N.M., VANDERMEIR M.A. et PAQUAY R., 1989. Inhibition of the ovulatory activity by dexamethasone in texel ewes.
- PHILIPPON P., 1983. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences agronomiques : vaccination contre l'androstènedione de brebis Merinos d'Arles : Effet sur le taux d'ovulation dans différents systèmes de conduite. Académie de Montpellier, France.
- PHILIPON P., 1988. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences : Immunisation active contre l'androstènedione et le taux d'ovulation chez la brebis? Analyse physiologique et zootechnique : Université François-Rabelais de Tours, France.
- PRUD'HON M., GALINDEZ F. et REBOUL G., 1975, Effet du rapport brebis/belien sur la fertilité d'un troupeau de Mérinos d'Arles soumises à une montée naturelle après induction des oestrus par FGA et PMSG au printemps. Dans : Maîtrise des cycles sexuels chez les ovins. Rapport Searle, Paris.

- ROBERTSON H.A., 1977. Reproduction in the ewe and the goat. Dans: Reproduction in Domestic Animals. Eds: Cole H.H. et Cupps E.T. pp 477-496. Academic Press. New York.
- ROBINSON T.J., 1964. Synchronisation of oestrus in sheep by intra-vaginal and subcutaneous application of progestin impregnated sponges. Proc. Austr. Soc. Anim. Prod., 8, pp 47-49.
- SCARAMUZZI R.J. et RADFORD M.M., 1983. Factors regulating ovulation rate in the ewe. J. Reprod. Fert., 69, 353-367.
- SHERWOOD O.D. et MAC SHAN W.H., 1977. Gonadotropins. Dans: Reproduction in Domestic Animals. Eds: Cole H.H. et Cupps E.T. pp 477-496. Academic Press. New York.
- SMEATON T.C. et ROBINSON H.A., 1971. Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. J. Reprod. Fert., 25, 243-252.
- STEWART F., ALLEN W.R. et MOOR R.M., 1976. Pregnant mare serum gonadotrophin : ratio of follicle-stimulating hormone luteinizing hormone activities measured by radioreceptor assay. J. Endocr., 71. 371-382.
- TERQUI M., DRAY F., GOTTA J., 1973. Variations de la concentration de l'oestradiol-17 dans le sang périphérique de la brebis au cours du cycle oestral. C.R. Acad. Sci., Paris, 277 (Série D), 1595-1598.
- THIMONIER J. et MAULEON P., 1969. Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. Ann Biol. Anim. Bioch. Biophys., 9, 233-250.
- TITECA E., 1987. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques : Etude des effets de l'immunisation active contre l'androstédone sur l'activité ovarienne de la brebis texel. FNDP, Namur.
- TSONIS C.G., QUIGG H., LEE V.W.K., LEVERSHA L., TROUNSON A.O. et FINDLAY J.K. 1983. Inhibin in individual ovine follicles in relation to diameter and atresia. J.Reprod. Fert. 67, 83-90.

- TSONIS C.G., CARSON R.S. et FINDLAY J.K., 1984. The relationships between aromatase activity, follicular fluid oestradiol-17 and testosterone concentrations and diameter and atresia of individual ovine follicles. *J. Reprod. Fert.*, 72, 153-163.
- TURNBULL K.E., BRADEN A.W.H. et MATTNER P.E., 1977. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.*, 30, 229-241.
- WALTON P. et ROBERTSON M.A., 1974. Reproductive performance of Finnish Landrace ewes mated twice yearly. *Can. J. Anim. Sci.*, 54, 35-40.
- WEBB R. et ENGLAND B.G., 1982. Identification of the ovulatory follicle in the ewe : associated changes in follicular size, thecal and granulosa cell luteinizing hormone receptors, antral fluid steroids, and circulating hormones during the preovulatory period. *Endocr.*, 110, 873-881.
- WEBB R. et GAULD I.K., 1984. Final Maturation of the preovulatory follicle in the ewe. Dans : *Période péri-ovulatoire*. Ed. Sarat-Baroux J. et Thibault Ch, 21-31, Masson.
- WEBB R. et GAULD I.K., 1985. Folliculogenesis in sheep : control of ovulation rate. Dans : *Genetics of reproduction in sheep*. Ed : Land R.B. et ROBINSON D.W., 261-275, Butterworths. London.
- WRIGHT P.J., STELMASIAK T. et CHAMLEY W.A., 1980. Pituitary responsiveness to LH-RH, in post partum ewes treated with oestradiol 17 and failing to show a plasma LH surge. *Aust. J. Biol. Sci.*, 33, 465-469.
- YOUNG W.C., 1961, *Sex and internal secretions*. The Williams et Wilkins (3rd coll) the Williams et Wilkins Co, 1961, 500-506.

ANNEXES.

ANNEXE 1 : Population folliculaire observée lors des endoscopies de juillet.

N°brebis	PMSG (UI)	PF	MF	GF	TGF	CICOV	OV
9	500	6	0	0	1	0	2
25	500	28	2	0	0	0	0
42	500	7	3	6	1	0	0
47	500	7	0	1	0	0	1
48	500	8	3	0	2	0	0
51	500	15	1	0	0	0	2
69	500	11	7	0	2	0	0
70	500	17	0	1	0	0	0
74	500	6	2	1	1	0	1
76	500	5	11	2	2	0	2
Moyennes		11	2.9	1.1	.9		
27	800	?	?	?	1	0	0
37	800	4	1	1	0	0	0
55	800	6	18	1	1	0	0
58	800	?	?	3	0	2	2
63	800	2	13	0	0	0	2
64	800	3	12	0	0	0	2
86	800	0	5	3	1	0	2
89	800	12	8	2	1	0	3
92	800	0	0	0	0	0	3
103	800	5	5	0	1	0	0
Moyennes		4	7.75	1	.5		

PF = petit follicule; MF = moyen follicule; GF = gros follicule; TGF = très gros follicule;
CICOV = cicatrice d'ovulation; OV = ovulation.

ANNEXE 2 : Population folliculaire observée chez les brebis lors des endoscopies d'octobre.

N°brebis	PMSG (UI)	PF	MF	GF	TGF	CICOV	OV	TOTAL OV
27	500	?	?	?	2	0	0	0
37	500	18	3	0	0	3	0	3
55	500	33	2	1	0	0	1	1
58	500	6	0	8	0	4	0	4
63	500	7	11	0	0	0	1	1
64	500	3	6	0	0	2	1	3
103	500	19	9	0	0	0	1	1
Moyennes		14.3	5.2	1.5	.28			
9	800	5	1	1	1	0	2	2
25	800	8	6	0	0	1	1	2
42	800	?	4	0	1	0	0	0
47	800	9	5	0	0	1	0	1
48	800	2	1	0	0	0	2	2
51	800	3	3	1	0	2	0	2
69	800	?	?	?	?	2	0	0
76	800	0	?	3	1	0	0	0
Moyennes		4.6	3.7	.6	.4			

PF = petit follicule; MF = moyen follicule; GF = gros follicule; TGF = très gros follicule;
CICOV = cicatrice d'ovulation; OV = ovulation.

ANNEXE 3 : Population folliculaire observée lors des endoscopies de janvier

N°Brebis	PMSG (UI)	PF	MF	GF	TGF	CICOV	OV
25	500	8	3	0	1	0	1
42	500	8	3	0	0	0	0
48	500	9	4	2	0	0	1
70	500	11	0	0	0	0	1
76	500	8	?	2	0	0	1
90	500	5	1	1	0	0	1
Moyennes		8.3	2.2	.8	.16	0	
27	800	10	2	0	0	0	1
58	800	3	1	1	0	0	3
63	800	7	5	0	0	0	1
64	800	13	0	0	0	0	2
69	800	17	3	0	0	0	0
103	800	15	1	1	0	0	1
108	800	9	0	3	0	0	0
16	800	0	0	0	0	0	0
Moyennes		9.25	1.5	.6	0	0	

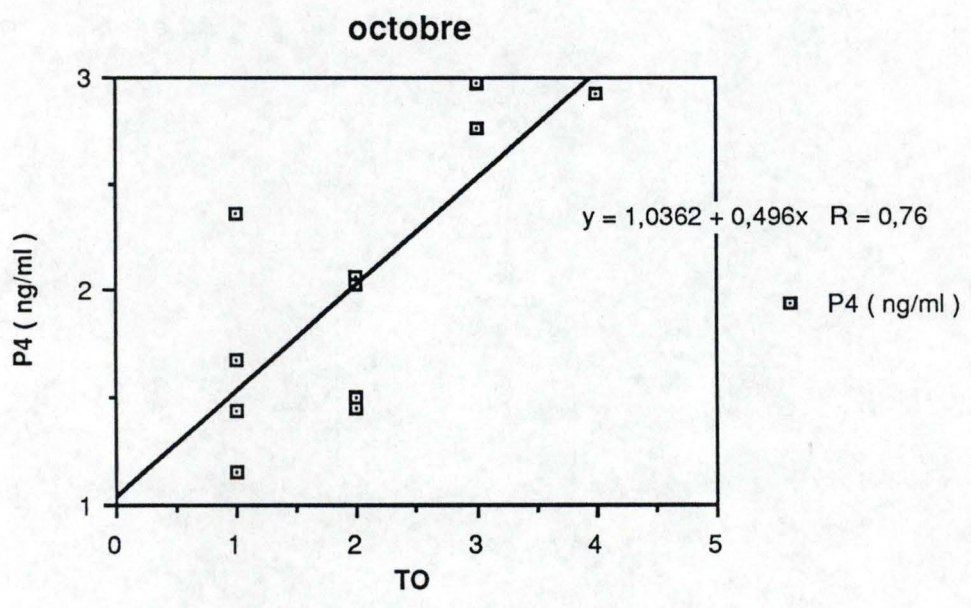
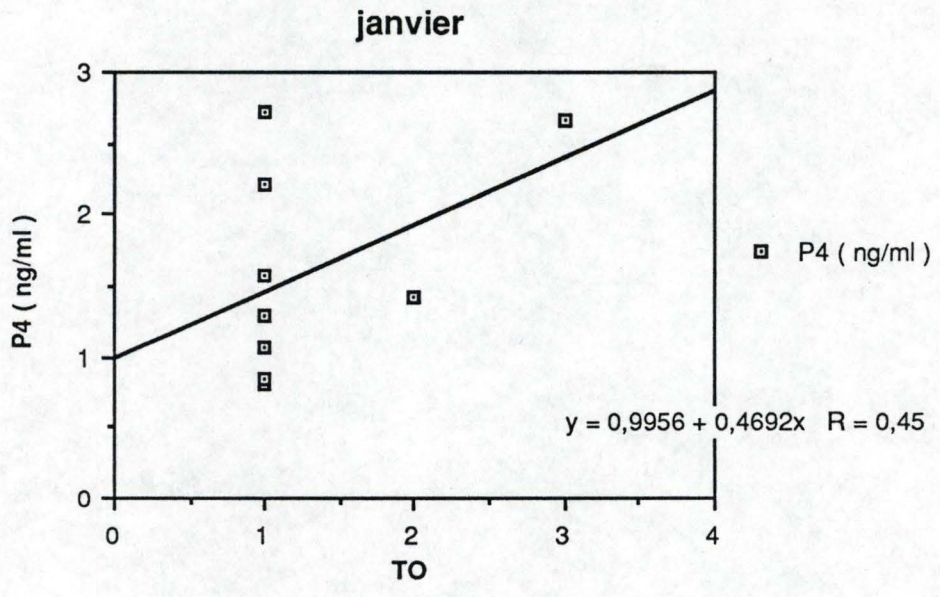
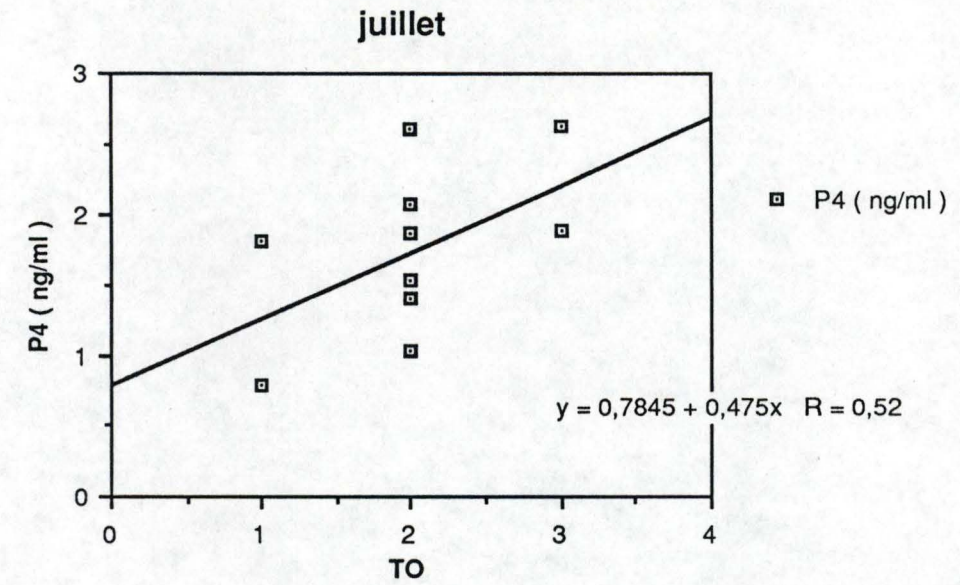
PF = petit follicule; MF = moyen follicule; GF = gros follicule; TGF = très gros follicule;
CICOV = cicatrice d'ovulation; OV = ovulation.

ANNEXE 4 : Population folliculaire observée chez chaque brebis lors des endoscopies d'avril.

N° Brebis	PMSG (UI)	PF	MF	GF	TGF	CICOV	OV
25	500	10	5	0	0	0	0
27	500	6	3	0	0	0	0
48	500	10	2	0	2	0	0
51	500	13	5	0	0	0	1
58	500	13	5	0	1	0	0
63	500	9	6	0	0	0	0
76	500	14	6	0	0	0	0
83	500	16	3	0	0	0	0
86	500	17	2	1	1	0	0
89	500	11	6	0	1	0	0
Moyennes		11.9	4.3	.1	.5		
37	800	8	4	1	0	0	0
42	800	10	5	1	0	0	0
64	800	6	6	0	0	0	1
69	800	10	2	1	1	0	1
70	800	15	8	0	0	0	1
74	800	12	3	0	0	0	0
90	800	15	4	0	1	0	0
92	800	0	2	3	0	0	0
103	800	4	4	0	1	0	0
108	800	10	2	0	0	0	1
Moyennes		9	4	.6	.3		

PF = petit follicule; MF = moyen follicule; GF = gros follicule; TGF = très gros follicule;
CICOV = cicatrice d'ovulation; OV = ovulation.

ANNEXE 5 : Relation entre le taux de progestérone (P4) et le taux d'ovulation (TO)



ANNEXE 6 : Relation entre le taux d'ovulation et le poids.

