

HÉLÈNE MÉTHOT

**SUPPLÉMENTATION EN ACIDE FOLIQUE DE LA RATION DE BREBIS  
PROLIFIQUES ET NON-PROLIFIQUES POUR AMÉLIORER LA  
FERTILITÉ ET LA PROLIFICITÉ**

Mémoire présenté  
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval  
dans le cadre du programme de maîtrise en sciences animales  
pour l'obtention du grade de maître ès science (M.Sc.)

Département des sciences animales  
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION  
UNIVERSITÉ LAVAL  
QUÉBEC

JUILLET 2005

## Résumé court

L'objectif de ce projet était d'évaluer l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique (AF) sur la productivité de brebis prolifiques et non-prolifiques en saison et en contre-saison sexuelle. En saison sexuelle (deux sites, brebis Dorset et ½Finnois½Dorset) et en contre-saison (trois sites, brebis Dorset et ½Romanov), des brebis ont été séparées en deux groupes recevant 0 ou 210 mg d'AF/brebis/jour de 21 jours précédant la saillie jusqu'à 30 jours post-saillie. Le traitement en AF a permis d'augmenter les concentrations de folates plasmatiques et de folates érythrocytaires, mesurées pour la durée de la supplémentation, mais n'a eu aucun effet sur le taux d'ovulation, la taille de portée, le taux de mortalité embryonnaire, le poids des agneaux et de la portée à la naissance. Le protocole de supplémentation en AF évalué n'a donc pas permis l'amélioration des performances reproductives des brebis.

## Résumé long

L'objectif de ce projet était d'évaluer l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique (AF) sur la productivité de brebis prolifiques et non-prolifiques en saison et en contre-saison sexuelle. Une expérience préliminaire sur 32 brebis Dorset a permis de déterminer que des trois doses de supplémentation évaluées (70, 140 ou 210 mg d'AF/brebis/jour), c'est celle de 210 mg d'AF/brebis/jour qui entraînait une augmentation supérieure des folates plasmatiques. Deux expériences ont été menées en saison sexuelle. Au site A, 39 brebis Dorset et 39  $\frac{1}{2}$ Finnois $\frac{1}{2}$ Dorset ont été séparées en deux groupes recevant 0 ou 210 mg d'AF/brebis/jour de 21 jours précédant la saillie jusqu'à 30 jours post-saillie. Le même protocole a été répété au site C sur 80 brebis Dorset. Trois autres essais ont eu lieu en contre-saison sexuelle. Quarante-vingt (80) brebis au site A, 56  $\frac{1}{2}$ Romanov au site B et 78 Dorset au site C ont été soumises au même protocole que celui réalisé en saison sexuelle. Les folates plasmatiques (FP) et les folates érythrocytaires (FE) en saison sexuelle ont été mesurés du début du traitement jusqu'à 30 jours suivant la saillie au site C et 90 jours suivant la saillie au site A. Le traitement en AF a permis d'augmenter les concentrations de FP et de FE mais n'a eu aucun effet sur le taux d'ovulation, la taille de portée, le taux de mortalité embryonnaire, le poids des agneaux et de la portée à la naissance. Les performances reproductives de brebis prolifiques et non prolifiques, autant en saison sexuelle qu'en contre-saison sexuelle, n'ont pu être améliorées par le protocole de supplémentation en AF évalué par ces expériences.

## **Avant-propos**

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, monsieur François Castonguay, chercheur à Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC), en poste à l'Université Laval, pour son support, sa grande disponibilité et sa flexibilité et ce, autant au cours de la phase animale qu'au cours du processus de rédaction de ce mémoire. Avec le dépôt de ce mémoire, je ressens un petit pincement au cœur et j'ai le sentiment d'être poussée hors du nid bien malgré moi! Je trouverai toujours un prétexte pour téléphoner.

Je souhaite également remercier ma co-directrice de recherche, madame Christiane Girard, chercheuse à AAC, qui m'a épaulée dans la rédaction de ce mémoire et qui a toujours été d'une grande disponibilité pour répondre à mes nombreuses questions. Les petits mots d'encouragement qui m'ont été proférés ont été des plus précieux réconforts. Je remercie aussi monsieur Jacques Matte, chercheur à AAC, également co-directeur de recherche, qui a su partager son savoir.

Cette maîtrise n'aurait pas pu être complétée sans l'aide précieuse de plusieurs passionnés. Je me dois donc de souligner la participation de Francis Goulet, de l'Université Laval au moment de réaliser le projet, pour son implication à plusieurs niveaux et avec qui les conversations n'ont jamais cessé d'être fort animées. Je dois également souligner l'apport de Mireille Thériault, de l'Université Laval, qui a pris en charge le suivi de la phase animale sur l'un des sites au cours du printemps. J'aimerais également remercier Chrystiane Plante, d'AAC, qui a contribué à ce projet par de nombreuses heures en laboratoire et avec qui j'ai apprivoisé, sans trop de dégâts, les techniques nécessaires. Merci à Steve Méthot, statisticien à ACC, qui a développé l'art du réconfort statistique. Merci à Richard Prince, de l'Université Laval, pour les nombreuses odysées ainsi qu'à Pierre Castonguay et Lucien Marois pour leur soutien technique lors de la phase animale. Merci à Véronique Roy, d'AAC, pour son soutien en laboratoire.

Je me dois également de souligner la contribution des entreprises ovines qui ont participé à la phase animale du présent projet. Merci au Centre d'expertise en production ovine du

Québec (CEPOQ) et tout particulièrement à Sylvain Blanchette, berger en chef, pour l'accueil des plus chaleureux et le travail exemplaire. Merci à Nancy Bergeron, Bergerie de la Chouette, pour sa disponibilité et sa grande minutie. Merci à Jean-Denis Pelletier, Bergerie des Cantons, pour son accueil et sa flexibilité.

De plus, ce projet n'aurait pu être complété sans le support financier et la participation de partenaires importants. Je tiens donc à remercier monsieur Luc Martin DeRoy et le Groupe Dynaco pour avoir fourni les concentrés, le Centre de recherche sur le bovin laitier et le porc d'AAC à Lennoxville pour les analyses en laboratoire, Agriculture et Agroalimentaire Canada ainsi que le Conseil des recherches en pêche et agroalimentaire du Québec (CORPAQ) qui a financé ce projet par le biais du Programme d'aide à la recherche en agriculture, pêche et alimentation 1999-2002 du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.

Finalement, je me dois de remercier les membres de ma famille qui ont toujours trouvé le mot juste pour m'encourager... et parfois se divertir à mes dépens! Merci à mes amis et collègues, particulièrement à Johanne : lentement mais sûrement! Et finalement, je veux remercier mon amour, Beausoleil, qui a été et sera toujours un soutien et un bonheur irremplaçables. Aucun mot sur cette page ne saurait exprimer ce que je vous dois, ni à quel point je vous aime.

# Table des matières

<b>Résumé court</b> .....	<b>i</b>
<b>Résumé long</b> .....	<b>ii</b>
<b>Avant-propos</b> .....	<b>iii</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>v</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>vii</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>viii</b>
<b>Chapitre 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre 2 Revue de littérature</b> .....	<b>3</b>
2.0. Introduction .....	3
2.1. Cycle oestral .....	3
2.2. Saisonnalité.....	4
2.3. Établissement de la gestation et relations embryo-maternelles .....	5
2.3.1. Fécondation .....	5
2.3.2. Développement embryonnaire pré-attachement.....	6
2.3.3. Migration intra-utérine .....	11
2.3.4. Attachement.....	11
2.3.5. Placentation .....	14
2.4. Facteurs pouvant affecter la mortalité embryonnaire .....	16
2.4.1. Concentration de progestérone .....	16
2.4.2. Taux d'ovulation .....	19
2.4.3. Saison de reproduction .....	20
2.4.4. Âge de la femelle.....	21
2.4.5. État de chair de la femelle .....	21
2.4.6. Alimentation .....	21
2.5. L'acide folique.....	22
2.5.1. Biosynthèse ruminale de l'acide folique chez les ruminants.....	22
2.5.2. Métabolisme et rôles de l'acide folique dans l'organisme .....	23
2.5.3. Absorption et transport des folates .....	25
2.5.4. Élimination des folates et de leurs catabolites.....	27
2.5.5. Besoins en acide folique.....	29
2.5.6. Acide folique et caractéristiques sanguines de la femelle gestante .....	30
2.5.6.1. Folates sériques.....	30
2.5.6.2. Homocystéine sérique.....	32
2.5.6.3. Folates érythrocytaires.....	34
2.5.6.4. Hémoglobine et hématocrite .....	35

2.5.7.	Relation entre l'acide folique et différents paramètres maternels et fœtaux .....	36
2.5.7.1.	Poids de la femelle gestante .....	36
2.5.7.2.	Race.....	36
2.5.7.3.	Parité .....	37
2.5.7.4.	Hormones.....	38
2.5.7.5.	Utérus.....	39
2.5.7.6.	Développement embryonnaire et malformations.....	39
2.5.7.7.	Mortalité embryonnaire .....	42
2.5.7.8.	Composition fœtale.....	43
2.5.7.9.	Poids des porcelets et poids de la portée à la naissance.....	43
2.6.	Hypothèses.....	44
2.7.	Liste des ouvrages cités .....	45
<b>Chapitre 3</b>	<b>Supplémentation en acide folique de la ration de brebis prolifères et non-prolifères pour améliorer la fertilité et la prolificité .....</b>	<b>58</b>
3.0.	Résumé .....	58
3.1.	Introduction .....	59
3.2.	Matériel et méthodes .....	59
3.2.1.	Expérience préliminaire.....	59
3.2.2.	Expérience 1 – saison sexuelle.....	61
3.2.3.	Expérience 2 – contre-saison sexuelle.....	64
3.2.4.	Dosages et analyses .....	66
3.2.5.	Analyses statistiques.....	66
3.3.	Résultats.....	68
3.3.1.	Expérience préliminaire.....	68
3.3.2.	Folates plasmatiques.....	68
3.3.3.	Folates érythrocytaires.....	74
3.3.4.	Progestérone .....	74
3.3.5.	Vitamine B <sub>12</sub> .....	79
3.3.6.	Hématocrite .....	79
3.3.7.	Performances de production .....	79
3.4.	Discussion.....	87
3.5.	Conclusion et Impact.....	92
3.6.	Ouvrages cités.....	92
	<b>Conclusions générales.....</b>	<b>95</b>

## Liste des tableaux

Tableau 3-1 Performances de production de brebis Dorset (DP) et 1/2Finnois1/2Dorset (FLDP) supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en saison sexuelle au site A .....	81
Tableau 3-2 Performances reproductives de brebis Dorset supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en saison sexuelle au site C .....	82
Tableau 3-3 Performances reproductives de brebis Dorset supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en contre-saison sexuelle au site A.....	83
Tableau 3-4 Performances reproductives de brebis croisées Romanov supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en contre-saison sexuelle au site B.....	84
Tableau 3-5 Performances reproductives de brebis Dorset supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en contre-saison sexuelle au site C.....	85

## Liste des figures

Figure 2-1	Reproduction saisonnière chez le mouton.....	5
Figure 2-2	Stades de développement et de migration de l'embryon ovin.....	6
Figure 2-3	Effet antilutéolytique de l'INT- $\tau$ sur les récepteurs d'ocytocine pendant la gestation .....	9
Figure 2-4	Régulation de l'attachement de l'embryon par la glycoprotéine Muc-1 .....	13
Figure 2-5	Structure du placenta épithéliochorial .....	14
Figure 2-6	Membranes fœtales de l'agneau .....	15
Figure 2-7	Évolution du poids du placenta (cotylédons fœtaux) et de la concentration placentaire d'oPL (hormone lactogène placentaire ovine) ...	16
Figure 2-8	Taux de fertilité chez la brebis en fonction des concentration plasmatique en progestérone au 12 <sup>e</sup> jour suivant la saillie .....	17
Figure 2-9	Structure de l'AF .....	22
Figure 2-10	Interconversions des unités monocarbonées attachées au tétrahydrofolate.....	24
Figure 2-11	Conversion de l'homocystéine en méthionine.....	33
Figure 3-1	Concentrations en folates plasmatiques des brebis supplémentées à différentes doses d'acide folique avant le premier repas (H0), 4 heures (H4), 7 heures (H7) et 10 heures (H10) suivant le premier repas et 4 heures (H15) et 13 heures (H24) suivant le deuxième repas.....	69
Figure 3-2	Concentrations en folates plasmatiques des brebis supplémentées (AF) ou non (T) à l'acide folique en saison sexuelle selon le site .....	70
Figure 3-3	Concentrations en folates plasmatiques des brebis supplémentées (AF) ou non (T) à l'acide folique en contre-saison sexuelle selon le site....	71
Figure 3-4	Concentrations en folates plasmatiques des brebis supplémentées ou non à l'acide folique en saison sexuelle selon le site et mesurées 1 heure avant, 4 heures après et 8 heures après la supplémentation.....	72

Figure 3-5	Concentrations en folates plasmatiques des brebis supplémentées ou non à l'acide folique en contre-saison sexuelle selon le site et mesurées 1 heure avant et 4 heures après la supplémentation.....	73
Figure 3-6	Concentrations moyennes en folates plasmatiques en fonction du jour de prélèvement, du génotype et du traitement en acide folique au site A en saison sexuelle .....	75
Figure 3-7	Concentrations moyennes en folates plasmatiques en fonction du jour de prélèvement, de la saison de reproduction (CS = contre-saison sexuelle ; SS = saison sexuelle) et du traitement en acide folique au site C.....	76
Figure 3-8	Concentrations moyennes en folates érythrocytaires en fonction du jour de prélèvement, du génotype et du traitement en acide folique au site A en saison sexuelle .....	77
Figure 3-9	Concentrations moyennes en progestérone plasmatique en fonction du traitement en acide folique, du génotype (DP = Dorset ; FLDP = 1/2Finnois1/2Dorset) et du jour de prélèvement au site A en saison sexuelle.....	78
Figure 3-10	Valeurs d'hématocrite (%) en fonction du jour du prélèvement au site A en saison sexuelle.....	80

# **Chapitre 1**

## **Introduction**

L'industrie ovine est un domaine en plein développement et les producteurs, conjointement avec les divers intervenants du milieu, cherchent à augmenter la rentabilité de leur entreprise. Parmi les moyens possibles pour y arriver, il faut compter l'augmentation des revenus par l'amélioration de la productivité. Ainsi, chaque unité de production, soit la brebis, doit être en mesure de fournir à l'éleveur un plus grand nombre d'agneaux par portée. En moyenne, une brebis pourrait produire un minimum de 2,0 agneaux nés/agnelage pour une moyenne de 2,4 agneaux nés/brebis/année, si on se base sur le modèle de production accélérée du système québécois qui vise à obtenir 3 agnelages en deux ans pour chaque brebis. Or, selon une étude menée en 2002 auprès de 38 entreprises québécoises, la productivité moyenne n'était que de 1,81 agneaux nés/agnelage et de 1,81 agneaux nés/brebis/année (FPAMQ, 2002). Ces chiffres montrent clairement que la situation peut être améliorée par l'augmentation des taux de fertilité et de prolificité des brebis, à la fois en saison et en contre-saison sexuelle. Cette amélioration visée des performances reproductives est d'autant plus pertinente pour les races ovines dites « non prolifiques » (moins de deux agneaux nés par agnelage) qui constituent la majeure partie du cheptel ovin québécois. De plus, puisque les échecs de fécondation des ovules ne sont à l'origine que d'environ 5% des pertes en terme d'agneaux nés, la principale cause de diminution de la taille de portée est la mortalité embryonnaire survenant avant l'attachement (Edey, 1979). En fait, chez l'espèce ovine, de 20 à 40% des ovules fécondés seront perdus (Ashworth,

1995) et environ 30% le seraient entre les jours 2 et 30 de la gestation (Quinlivan et *al.*, 1966)

Traditionnellement, au Québec, l'augmentation de la fertilité et de la prolificité en contre-saison sexuelle est assurée par l'utilisation d'hormones exogènes (progestagènes et gonadotrophines). Cependant, au cours des prochaines années, les producteurs ovins devront considérer le marché et les exigences des consommateurs et n'auront d'autres choix que d'adapter leur régime d'élevage. En effet, les consommateurs sont de plus en plus conscients à l'importance d'une alimentation saine et, pour plusieurs, alimentation saine se traduit par alimentation plus « naturelle ». Les produits de synthèse et les hormones exogènes, de même que les organismes génétiquement modifiés, pour ne nommer que ceux-là, sont donc souvent pointés du doigt lorsqu'ils sont utilisés dans la production d'aliments destinés à la consommation humaine. Dans ce contexte de renouvellement des pratiques agricoles, il est donc pertinent de développer des méthodes alternatives à l'utilisation des hormones pour accroître la productivité des troupeaux ovins. Les travaux portant sur l'utilisation des vitamines pour l'amélioration de divers paramètres d'élevage se sont multipliés au cours des dernières années. Ainsi, dès les années 80, plusieurs équipes de recherche ont pu démontrer que différentes espèces comme le cobaye (Habibzadeh et *al.*, 1986) et le porc (Matte et *al.*, 1984) pouvaient bénéficier d'un apport exogène en acide folique par la diminution de la mortalité embryonnaire. Cependant, aucune démonstration de l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique sur le taux de mortalité embryonnaire et, conséquemment, sur la taille de portée n'a été réalisée chez les ovins.

Cet ouvrage a donc pour objectif principal de vérifier l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique chez des brebis, en saison et en contre-saison sexuelle, sur les performances reproductives. Des brebis de génotypes non prolifiques et plus prolifiques seront à l'étude afin de comparer leur réponse à un traitement en acide folique. Le suivi de différentes composantes sanguines, soit les folates plasmatiques et érythrocytaires, ainsi que la progestérone, permettront également de mieux cerner l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique.

## **Chapitre 2**

### **Revue de littérature**

#### **2.0. Introduction**

Le mouton présente des caractéristiques reproductives propres à l'espèce. Toutefois, des variations entre les différentes races sont observables quant à certains paramètres tel le taux d'ovulation. En effet, certaines races sont dites prolifiques, telle que la race Finnoise avec un taux d'ovulation moyen de 2,04 (Meyer, 1985) alors que d'autres sont dites non prolifiques, telle la race Dorset qui a un taux d'ovulation moyen de 1,43 (Meyer, 1985). Aussi, l'âge de l'animal est relié à une certaine variation des performances reproductives. Chez la brebis, la fertilité maximale est atteinte vers 4 à 6 ans alors que la prolificité (fréquence de jumeaux, de triplets, etc.) augmente jusqu'à 6 à 7 ans d'âge (Hafez et Hafez, 2000a). La mortalité embryonnaire est considérée comme étant la différence entre le nombre d'agneaux nés et le nombre d'ovules libérés au cours du cycle fécondant, ceci déterminé par le dénombrement des corps jaunes par laparoscopie. Cependant, l'établissement de la gestation étant tributaire du succès d'une succession d'événements physiologiques, il est primordial de connaître les étapes et paramètres menant à une gestation réussie.

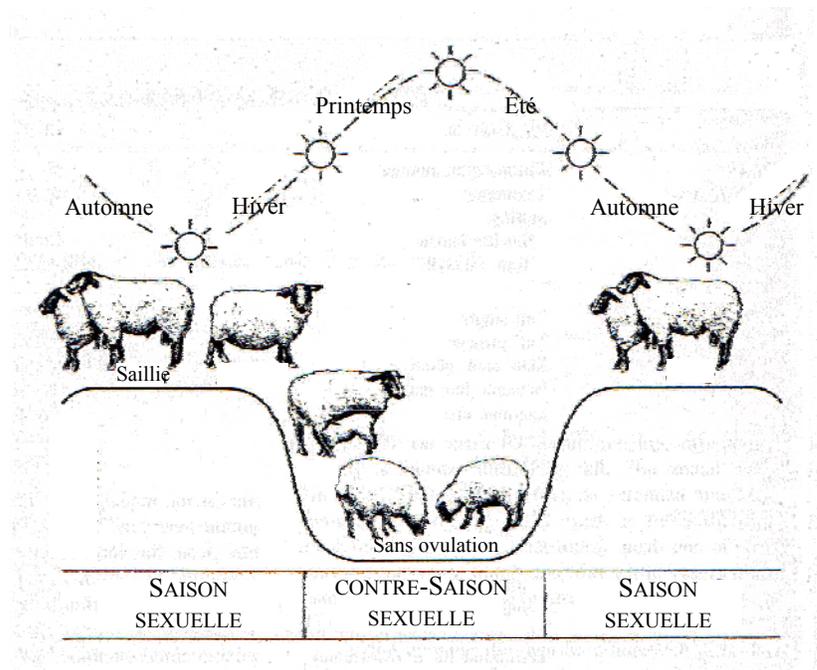
#### **2.1. Cycle oestral**

Chez la brebis, le cycle oestral est en moyenne de 17 jours et les chaleurs présentes pendant 24 à 36 heures. Le corps jaune, produit suite à l'ovulation, est fonctionnel pour 14 jours alors que l'ovule libéré est fécondable pendant 10 à 25 heures (Jainudeen et *al.*, 2000).

L'ovulation survient 24 à 27 heures après le début des chaleurs suite à un pic d'hormone lutéinisante (LH) alors que l'hormone folliculo-stimulante (FSH) augmente progressivement. Le corps jaune débute sa sécrétion de progestérone rapidement après sa formation et les concentrations deviennent suffisamment importantes, chez la brebis, pour être mesurées environ 4 jours après l'ovulation. Il atteindra sa maturité entre les jours 7 et 14 suivant cette ovulation (Bazer et *al.*, 1998). Cette période d'activité du ou des corps jaunes, d'une durée variant de 14 à 15 jours chez la brebis, est la phase lutéale. Si les ovules produits ne sont pas fécondés, le ou les corps jaunes régressent sous l'action de la prostaglandine  $F_{2\alpha}$  sécrétée par l'utérus. Il s'agit de la phase folliculaire, qui dure de deux à trois jours et couvre la période entre la régression du ou des corps jaunes et l'ovulation suivante (Hafez et Hafez, 2000b).

## **2.2. Saisonnalité**

Le cycle oestral de la brebis n'est toutefois pas actif tout au long de l'année. En effet, le mouton est un animal polyoestral saisonnier alors que naturellement, en Amérique du Nord, l'activité sexuelle de la femelle est concentrée entre les mois d'août et de février. En dehors de cette période, soit lorsque les brebis sont en anoestrus, aucune ovulation et chaleurs ne surviennent (Figure 2-1). La saisonnalité est liée aux variations photopériodiques alors que l'activité oestrals survient au cours des périodes de décroissance de la longueur du jour (Jainudeen et *al.*, 2000).



**Figure 2-1** Reproduction saisonnière chez le mouton (Adapté de Jainudeen et *al.*, 2000)

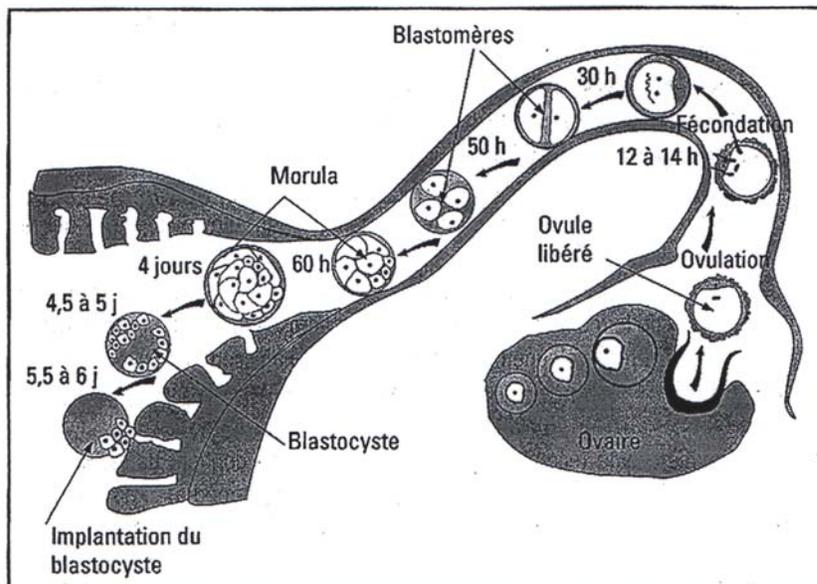
## 2.3. Établissement de la gestation et relations embryo-maternelles

### 2.3.1. Fécondation

Après avoir été préalablement capacité lors de son cheminement dans le tractus génital de la femelle, le spermatozoïde est maintenant apte à féconder l'ovule. La rencontre de l'ovule et du spermatozoïde a lieu dans l'oviducte qui constitue le site de fécondation. Cette dernière doit survenir dans les 24 heures suivant l'ovulation puisqu'il s'agit de la longévité du gamète femelle. Les spermatozoïdes, viables pour 30 à 48 heures, s'attachent à des sites récepteurs situés sur la zone pellucide de l'ovule. Une fois l'attachement complété, la pénétration de la zone pellucide se produira dans les 5 à 15 minutes suivantes. C'est la réaction acrosomiale du spermatozoïde qui permet la libération d'enzymes contenus dans la tête de celui-ci pour entraîner la dégradation de la zone pellucide. Par la suite, la fusion du matériel génétique mâle et femelle sera possible, ce qui conduira à la formation de l'embryon (Hafez et Hafez, 2000a).

### 2.3.2. Développement embryonnaire pré-attachement

Chez l'espèce ovine, la gestation dure environ 145 jours et est constituée de deux périodes distinctes. Ces deux phases sont délimitées par le moment au cours duquel l'embryon se fixe à l'utérus. Ce dernier événement survient aux environs du 20<sup>e</sup> jour de gestation alors que l'embryon est au stade de blastocyste (Figure 2-2). C'est sous cette forme qu'il pourra s'implanter au sein de l'utérus maternel. À ce moment prend fin la première phase, nommée progestation, et se développeront alors, au cours de la phase suivante, les structures annexes qui permettront la survie de l'embryon dans le milieu utérin (Brice *et al.*, 1995).



**Figure 2-2** Stades de développement et de migration de l'embryon ovine (Tiré de Brice *et al.*, 1995)

Suite à la formation de la morula, soit le stade de 64 cellules atteint vers le 6<sup>e</sup> jour suivant la fécondation (Brice *et al.*, 1995), la cavité centrale de l'embryon se gonfle de liquide pour former le blastocœle. Les cellules alors présentes se distinguent selon deux populations suite à la formation du blastocyste, ce dernier stade étant atteint autour du 10<sup>e</sup> jour suivant

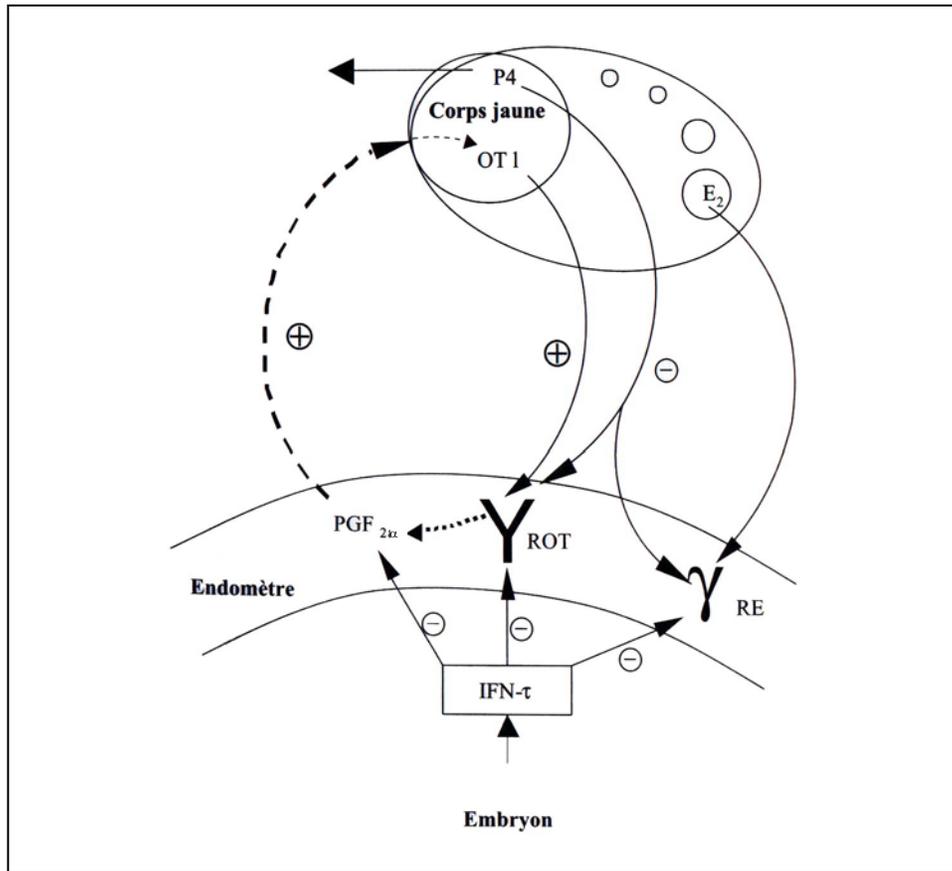
la fécondation. La première population, constituée de la plupart des cellules extérieures, formera éventuellement le trophoblaste alors que la deuxième, constituée par une masse de cellules centrales, formera l'embryoblaste, qui se développera à l'intérieur du trophoblaste. Les cellules de l'embryoblaste, ou disque embryonnaire, se distingueront alors selon trois types de tissus, soit l'ectoderme, le mésoderme et l'endoderme (Hafez et Hafez, 2000a). Au cours de la première semaine de gestation, l'embryon est relativement indépendant de l'environnement utérin puisque que des embryons ovins peuvent se développer autant dans les oviductes de brebis en anoestrus que de brebis à n'importe lequel des stades du cycle oestral (Wilmot et *al.*, 1985a).

Suite à la rupture partielle de la zone pellucide et à l'éclosion (Guillomot, 2001) autour des jours 7 et 8 post-ovulation, le trophoblaste se transformera pour éventuellement former le chorion et permettre l'attachement aux structures maternelles. C'est également suite à la perte de la zone pellucide que le blastocyste entreprend une période de croissance et de développement rapide. Ainsi, autour des jours 11 à 16 suivant la saillie, l'embryon ovin subit une croissance logarithmique et entre dans une phase d'allongement de plusieurs jours, ce dernier phénomène étant expliqué par une hyperplasie du trophoblaste. Cette expansion favorise la mise en place des membranes placentaires dans tout l'utérus au jour 15, ce qui permet le blocage ipsilatéral de la synthèse de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  et prévient la lutéolyse (Hafez et Hafez, 2000a). D'ailleurs, le pic d'utilisation du glucose, autant par l'embryon lui-même que par ses membranes, serait, par rapport à une plage de temps répartie entre les jours 13 et 19 de la gestation, au jour 15 alors que l'initiation de l'organogenèse se prépare (Wales et Waugh, 1993). Aussi, avant l'attachement, différentes sécrétions s'accumulent dans la lumière utérine et permettent la nutrition histotrophique de l'embryon. Ce phénomène est en fait l'absorption de molécules, tels des sucres et des acides aminés, par le trophoctoderme. À ce stade de développement, le métabolisme embryonnaire du glucose, au sein du trophoblaste, diminue alors que celui de l'acétate augmente (Ashworth, 1995).

La deuxième semaine de gestation est, chez les ovins, une période cruciale pour la survie embryonnaire. En effet, c'est à ce moment, plus précisément à partir du 12<sup>e</sup> jour, que l'embryon doit signaler sa présence à sa mère pour prévenir la lutéolyse et ainsi maintenir

la gestation (Moor, 1968). En absence d'embryon, l'endomètre devient, suite à environ 10 jours de production de progestérone, désensibilisé à l'effet inhibiteur de cette hormone sur les oestrogènes qui peuvent alors stimuler la formation de récepteurs d'ocytocine sur l'endomètre. Cette dernière hormone, produite par l'hypophyse et le corps jaune, favorise la formation et le relâchement de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Zavy et Geisert, 1994). L'action de l'ocytocine est réalisée par le biais, entre autres, d'une cyclooxygénase (COX-2) qui est une enzyme impliquée dans la production des prostaglandines (Asselin et *al.*, 1997). Chez la brebis gestante, comparativement à la brebis non gestante, les concentrations utéro-ovariennes veineuses de  $\text{PGE}_2$ , un facteur anti-lutéolytique, augmentent au 13<sup>e</sup> jour de la gestation et sont maintenues au cours du 14<sup>e</sup> jour (Silvia et *al.*, 1984), autant en valeur absolue que par rapport aux concentrations en  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Ottobre et *al.*, 1984). C'est au jour 15 de la gestation que les concentrations de  $\text{PGE}$  et de  $\text{PGF}$  sont les plus élevées dans l'embryon et ses structures extra-embryonnaires comparativement aux jours ultérieurs (Rawlings et Hyland, 1985). C'est également au cours des 15<sup>e</sup> et 16<sup>e</sup> jours que le corps lutéal peut être détruit par environ cinq pulsations de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  réparties sur une période de 25 heures, ce qui survient en absence de signal de l'embryon (Bazer et *al.*, 1998).

Le trophoctoderme (Martal et *al.*, 1997), entre les jours 12 et 18 de la gestation, sécrète la trophoblastine ovine (interféron tau ou INT- $\tau$ ) qui limite l'amplitude des relâchements de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en inhibant la formation de récepteurs d'ocytocine dans l'endomètre (Figure 2-3) (Zavy et Geisert, 1994).



**Figure 2-3** Effet antilutéolytique de l'interféron tau (INT- $\tau$ ) sur les récepteurs à l'ocytocine pendant la gestation ( $E_2$  = œstrogènes, OT = ocytocine, P4 = progestérone, RE = récepteurs des oestrogènes, ROT = récepteurs de l'ocytocine) (Tiré de Leymarie et Martal, 2001)

Chez le bovin, plus de huit INT- $\tau$  différentes ont pu être identifiées suite à leur production par le conceptus entre les jours 14 et 25 de son développement (Ealy et *al.*, 2001). L'injection d'INT- $\tau$  recombinant ovin au moment de l'implantation chez la souris augmente le nombre de fœtus vivants et le nombre de sites d'implantation alors que chez les ruminants, l'analogue bovin permet le maintien de la sécrétion lutéale de progestérone chez les femelles cycliques. L'INT- $\tau$  entraîne également une immunosuppression locale

chez les ruminants, ce qui permet la réduction des risques de rejet des embryons par la mère (Martal *et al.*, 1997). Il a été démontré que, chez l'humain, les avortements spontanés étaient plus fréquents chez les femmes présentant certains types d'anticorps (antithyroïdiens microsomaux et antinucléiques) comparativement à des femmes exemptes de ces anticorps en début de grossesse (Iijima *et al.*, 1997). De plus, l'INT- $\tau$  augmente la sécrétion de différentes protéines endométriales (Ashworth, 1992).

Le conceptus ovin en voie d'attachement a aussi la capacité d'induire l'expression de gènes dont celui permettant la production de la protéine antivirale Mx, un agent limitant les infections virales (Yankey *et al.*, 2001) et celui de la 2',5 -oligoadénylate synthétase, un agent qui pourrait jouer un rôle dans le contrôle de la croissance et de la différenciation cellulaires (Johnson *et al.*, 2001b). Il semble également que l'INT- $\tau$  puisse induire, du moins chez la souris, l'augmentation de la production placentaire des interleukines 4 et 10 qui préviendraient l'inflammation locale pouvant être causée par l'embryon et ses membranes. Cette constatation a été réalisée dans le cadre d'un croisement spécifique qui conduit à des gestations dont le taux de résorption fœtale spontanée est élevé. L'incidence de ces pertes fœtales aux jours 12 ou 14 de la gestation a été réduite par l'injection d'INT- $\tau$  recombinant ovin (Chaouat *et al.*, 1995).

La résorption embryonnaire précédant le jour 12 de la gestation chez la brebis n'entraîne pas de modification au cycle oestral normal de la mère. Les pertes survenant plus tard causent toutefois des variations croissantes et variables sur le laps de temps avant le retour en chaleurs (Edey, 1967). Thwaites (1972) a démontré par l'administration de colchicine, un alcaloïde très toxique bloquant la mitose cellulaire, que plus la mortalité embryonnaire survenait tardivement entre les jours 13 et 19 de gestation, plus le temps supplémentaire au cycle normal ( $17,4 \pm 0,3$  jours) pour le retour en chaleurs est long. En effet, si l'administration de colchicine survient au 13<sup>e</sup>, 15<sup>e</sup>, 17<sup>e</sup> ou 19<sup>e</sup> jours suivant l'oestrus, la longueur moyenne du cycle est de  $20,0 \pm 1,3$ ,  $25,3 \pm 1,1$ ,  $35,2 \pm 0,9$  et  $40,0 \pm 3,8$  jours respectivement. Il faut donc, dans l'ordre, 7, 10,3, 18,2 et 21 jours supplémentaires pour que la femelle soit à nouveau sexuellement réceptive au mâle. L'auteur conclut que la mortalité embryonnaire et la résorption fœtale survenant entre les jours 13 et 19 peuvent être divisées en deux phases. Dans un premier temps, l'embryon et ses membranes

présentent une dégénérescence et une désintégration rapide sur une période de 2 jours suivant le traitement de colchicine. La seconde phase, d'une durée variable selon les individus et le moment de la mortalité embryonnaire, est constituée de la résorption graduelle des débris embryonnaires résiduels. À la suite de l'élimination de la plupart des résidus embryonnaires initialement présents dans l'utérus, la régression du ou des corps jaunes est rapide et le retour à la cyclicité survient au cours des jours suivants (Thwaites, 1972).

Entre les jours 14 et 30, le poids en matière sèche de l'embryon de brebis Merino augmente rapidement (0,002 à 0,285 g) alors que la longueur du *vertex-coccyx* (du sommet de la tête à l'extrémité de la croupe) passe de 3,2 mm à 19,5 mm entre les jours 19 et 30 post-oestrus. De plus, dès le 19<sup>e</sup> jour, les embryons ont un battement cardiaque régulier (Thwaites, 1972).

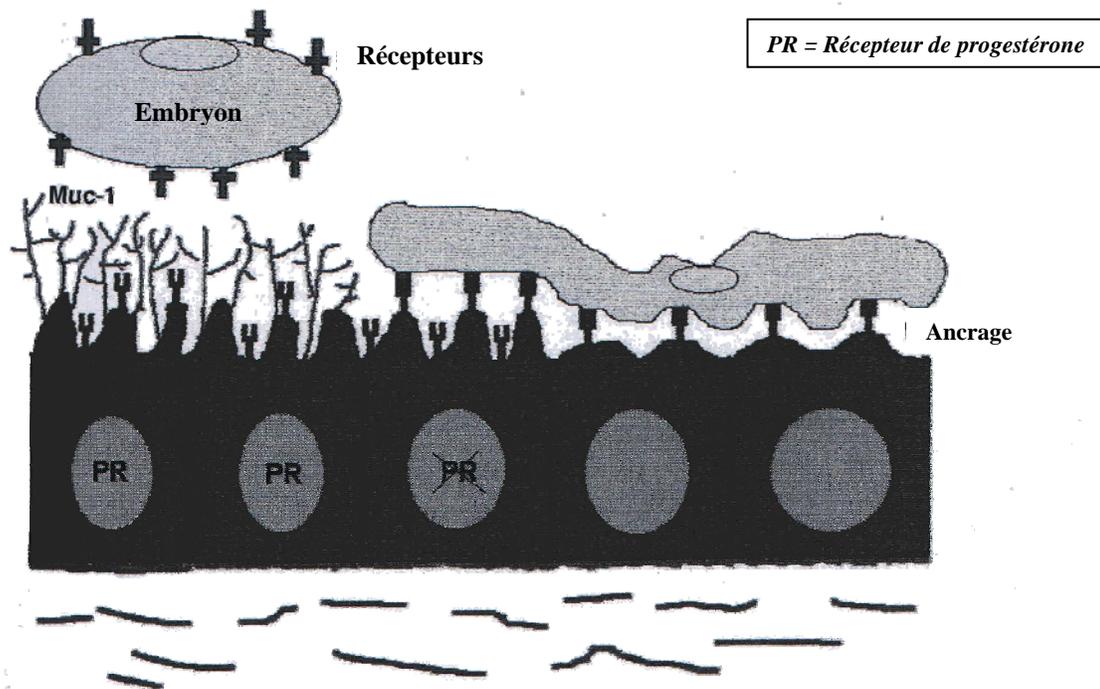
### **2.3.3. Migration intra-utérine**

Bien que les migrations des embryons entre les cornes utérines soient rares chez l'espèce ovine en cas d'ovulation simple, il se produit toutefois une migration intra-utérine dans les cas d'ovulations multiples sur un même ovaire (Geisert et Malayer, 2000). Ces déplacements, possibles grâce à des contractions du myomètre, seraient stimulés par les oestrogènes et les prostaglandines produites par l'embryon (Geisert et Malayer, 2000). Les mécanismes précis qui rendent possibles ces mouvements embryonnaires sont toutefois inconnus (Hafez et Hafez, 2000c). Il faudra entre 66 et 72 heures à l'embryon de 8 à 16 cellules pour atteindre l'utérus (Geisert et Malayer, 2000). Ces migrations peuvent d'ailleurs être à la base d'une asynchronie entre l'embryon et le milieu utérin, ceci expliquant la fréquence supérieure de mortalité embryonnaire chez les embryons migrant d'une corne à l'autre comparativement aux embryons n'ayant pas migré (Michels et *al.*, 1998).

### **2.3.4. Attachement**

Pour que l'embryon puisse s'implanter, l'utérus doit être réceptif. Au cours des périodes de non réceptivité, l'épithélium utérin est abondamment recouvert d'une glycoprotéine trans-

membranaire appelée Muc-1, qui pourrait servir de facteur anti-adhésion pour l'embryon. La présence de Muc-1, en période de réceptivité utérine à l'attachement embryonnaire, est grandement réduite, ce qui pourrait être régulé par les variations d'exposition à la progestérone. Ainsi, comme chez la femme et la lapine, la synthèse de Muc-1 étant stimulée par la progestérone, la diminution des récepteurs de cette hormone sur l'épithélium utérin pourrait en réduire la prévalence, ce qui permettrait l'attachement embryonnaire. Une fois la surface utérine libérée de Muc-1, l'embryon produit des villosités en forme de doigts qui pénètrent les glandes utérines jusqu'au lumen. Ces villosités raccourcissent graduellement pour faire entrer l'embryon en étroit contact avec la paroi utérine (Geisert et Malayer, 2000). Des ancrages permanents peuvent alors être créés entre les deux structures (Figure 2-4). La diminution de Muc-1 est également nécessaire à l'attachement de l'embryon ovin en initiant la cascade d'événements qui conduit à l'adhésion du trophoblaste à la paroi utérine (Johnson et *al.*, 2001a). Le retrait de la protéine Muc-1 de la surface épithéliale permet l'interaction entre les cellules adhésives du trophoblaste et de la paroi utérine, ce qui entraîne un rapprochement étroit entre les deux surfaces.



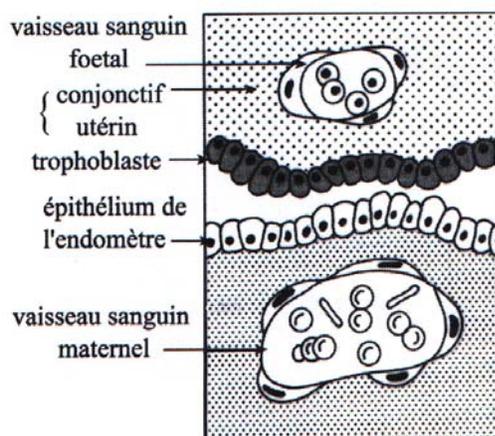
**Figure 2-4** Régulation de l'attachement de l'embryon par la glycoprotéine Muc-1  
(Adapté de Geisert et Malayer, 2000)

Il se peut que l'adhésion entre les surfaces embryonnaires et maternelles soit possible par l'action locale de facteurs produits par le blastocyste. Par contre, chez la truie, il semble que la glycoprotéine Muc-1 soit régulée négativement par la progestérone au cours du cycle reproducteur et au début de la gestation (Guillomot, 2001). D'autre part, au cours de la phase d'attachement, les oestrogènes jouent un rôle fort important pour l'embryon du fait qu'elles permettent l'hypertrophie et l'augmentation de la vascularisation de la muqueuse utérine (Le Moigne, 1997 ; Brice et *al.*, 1995 ; Hewitt et *al.*, 2002). Des injections intra-utérines d'INT- $\tau$  entre les jours 11 et 24 suivant le début de l'oestrus ont pu souligner l'impact positif potentiel supplémentaire de la substance embryonnaire au niveau de l'établissement de la gestation. Cette hypothèse est basée sur l'augmentation, suite aux injections, de la production de protéines chimiotactiques de monocytes au niveau de l'endomètre, un élément qui pourrait jouer un rôle central pour l'attachement et la placentation chez le mouton (Asselin et *al.*, 2001). L'INT- $\tau$  stimule également la

production, entre les jours 15 et 18 de la gestation, d'ARNm de deux protéines endométriales bovines, 1-8U et Leu-13, toutes deux possiblement impliquées dans l'adhésion du conceptus à l'endomètre en préparant ce dernier à recevoir l'embryon (Pru et *al.*, 2001).

### 2.3.5. *Placentation*

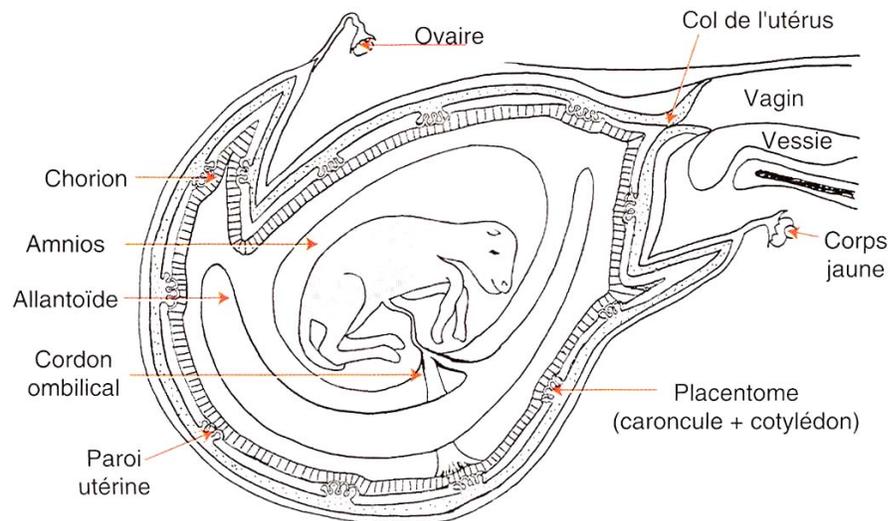
L'attachement de l'embryon aux structures maternelles est, chez l'espèce ovine, de type non-invasif superficiel et implique à la fois les régions caroncules et inter-caroncules (Geisert et Malayer, 2000). Il s'agit d'un placenta cotylédonaire et épithéliochorial, ce qui signifie que l'épithélium trophoblastique assure la fonction placentaire (Figure 2-5). Les cellules binucléées du trophoblaste fusionnent avec une partie des cellules épithéliales de l'utérus pour ainsi former un syncytium (Guillomot, 2001). Chez la brebis, l'apport en progestérone au cours du premier trimestre de la gestation est totalement dépendant des corps lutéaux. Passé ce stade, la source principale de progestérone devient le placenta (Jainudeen et *al.*, 2000).



**Figure 2-5** Structure du placenta épithéliochorial (Tiré de Martal et Haddad, 2001)

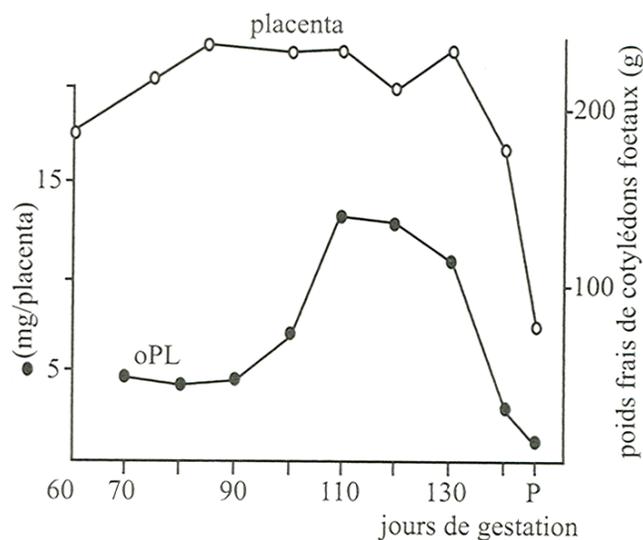
Les échanges entre l'embryon et la mère se font par le biais des cotylédons du trophoblaste et des caroncules de l'endomètre (Figure 2-6) alors que les capillaires se trouvent à la

jonction des deux structures se rejoignent en deux veines et deux artères ombilicales au niveau du cordon (Martal et Haddad, 2001).



**Figure 2-6** Membranes fœtales de l'agneau (Tiré de Dudouet, 1997)

Autour du 50<sup>e</sup> jour de la gestation, le placenta débute sa production de progestérone pour prendre graduellement le relais du ou des corps lutéaux. De plus, au cours des dix derniers jours de la gestation, le placenta subit une lyse et perd environ les 2/3 de son poids (Figure 2-7) (Martal et Haddad, 2001).



**Figure 2-7** Évolution du poids du placenta (cotylédons fœtaux) et de la concentration placentaire d'oPL (hormone lactogène placentaire ovine) (Tiré de Martal et Haddad, 2001)

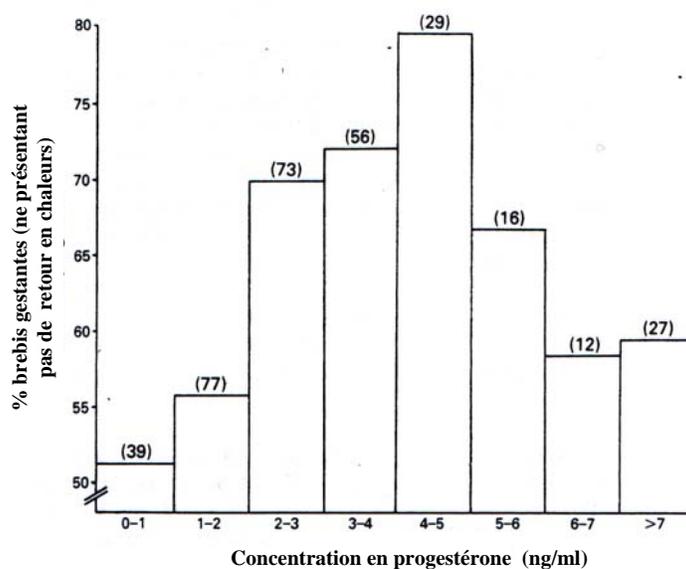
## 2.4. Facteurs pouvant affecter la mortalité embryonnaire

### 2.4.1. Concentration de progestérone

Il a été démontré que les brebis présentant deux ovulations ont des taux de progestérone plasmatique plus élevés que les brebis ayant eu une seule ovulation (Brien *et al.*, 1981). Aussi, bien qu'ils ne purent concrètement l'expliquer, les auteurs de l'étude remarquèrent des taux plasmatiques en progestérone plus élevés chez les agnelles que chez les brebis matures 12 jours suivant la saillie. Shelton *et al.* (1990) ont montré que les corps jaunes de vaches, à environ 133 jours de développement, sont plus lourds que ceux des génisses. Puisque les vaches matures utilisées présentaient des troubles de fécondité (non gestantes après deux à cinq saillies ou aucun oestrus apparent depuis un an), la hausse post-ovulatoire en progestérone était retardée et plus lente par rapport à celle observée chez les génisses. Les auteurs ont émis l'hypothèse que, si l'activité sécrétoire des corps jaunes de ces vaches était normale, les concentrations mesurées en progestérone devraient augmenter plus

précocement et rapidement que celles des génisses. De même, des agnelles non gestantes suite à une saillie synchronisée présentent des concentrations sanguines de progestérone inférieures, 4 jours précédant la saillie ainsi qu'entre 9 et 33 jours suivant celle-ci, comparativement à des agnelles gestantes (Davies et Beck, 1992).

Parr et *al.* (1987) ont montré que la concentration plasmatique en progestérone la plus adéquate pour assurer un taux de conception supérieur à environ 60% se situe entre 2 et 5 ng/ml chez la brebis au 12<sup>e</sup> jour suivant la saillie (Figure 2-9). Ce lien entre des concentrations plasmatiques supérieures en progestérone et la diminution des pertes embryonnaires a également été éclairé par les travaux de Ashworth et *al.* (1989). Les conclusions d'une autre étude ont cependant avancé qu'aucun lien entre la concentration plasmatique au 18<sup>e</sup> jour de gestation et les pertes embryonnaires ne pouvait être confirmé (Perez et de Prado, 1993).



**Figure 2-8** Taux de fertilité chez la brebis en fonction des concentrations plasmatiques en progestérone au 12<sup>e</sup> jour suivant la saillie (Adapté de Parr et *al.*, 1987)

Les brebis (47% Finnois) présentant de la mortalité embryonnaire ont des profils péri-ovulatoires en progestérone différents de ceux des brebis qui n'en présentaient pas, soit une concentration moyenne sous 0,14 ng/ml (Ashworth et *al.*, 1989). Il a aussi été démontré que, chez des brebis prolifiques, la survie embryonnaire est réduite par des taux inférieurs en progestérone aux jours 0 et 1 suivant la saillie (Ashworth et *al.* (1984) cités par Wilmut et *al.*, 1986). Aussi, selon les mêmes auteurs, des taux en progestérone inférieurs lors de la phase lutéale ont tendance à affecter négativement la survie embryonnaire. Manalu et Sumaryadi (1998) ont déterminé que des brebis (Javanese Thin-Tail) portant 1, 2 ou 3 fœtus présentaient une concentration moyenne en progestérone sérique, du début de la gestation à la 7<sup>e</sup> semaine, de  $5,3 \pm 0,3$ ,  $6,2 \pm 0,7$  et  $6,6 \pm 0,5$  ng/ml respectivement. De façon générale, les brebis présentant une moyenne supérieure en progestérone sérique tout au long de la gestation ont eu des agneaux dont le poids à la naissance était plus élevé.

Wilmut et Sales, dès 1981, avaient avancé que la progestérone pouvait influencer le taux de mortalité embryonnaire en modifiant les sécrétions protéiques endométriales. De plus, les variations des concentrations en progestérone détermineraient le stade de développement de l'utérus et assureraient la synchronisation entre le développement de l'embryon et le milieu utérin (Wilmut et Sales, 1981). Un environnement utérin inadéquat pour le stade de développement de l'embryon peut nuire à la maturation de ce dernier et éventuellement entraîner sa mort (Wilmut et *al.*, 1985b). Kleemann et *al.* (1991) ont mis en évidence que l'administration de progestérone débutant le 4<sup>e</sup> jour suivant la saillie, pour 4, 8 ou 11 jours, ne modifiait pas le taux de gestation mais augmentait le nombre d'agneaux par portée de brebis hétérozygotes pour le gène F de haute prolificité (Booroola Merino x South Australian Merino). La même explication fut reprise par Barnes (2000) qui a soulevé qu'en début de gestation, particulièrement au cours de la première semaine, la progestérone pouvait induire la sécrétion de fluides utérins contenant des facteurs de croissance accélérant le développement embryonnaire.

En 1986, Davis et *al.* ont montré qu'une supplémentation en progestérone entre les jours 10 et 16 augmentait le nombre de fœtus par brebis à l'étude de 26% et le nombre de fœtus par brebis gestante de 20%. De même, Kleemann et *al.* (1991), avec des traitements de

progestérone exogène (jours 4 à 7, 4 à 11, 4 à 14, 7 à 11, 7 à 14 et 11 à 14 suivant l'ovulation) ont pu, sans améliorer le taux de gestation, augmenter le nombre de fœtus par gestation. De plus, selon les résultats de Kleemann et *al.* (1994), la croissance fœtale (mesurée à 74 jours de gestation) peut être améliorée par une supplémentation en progestérone au cours des trois premiers jours de gestation. Il a été montré que la supplémentation en progestérone, cette fois entre les jours 8 et 14 (Parr et *al.*, 1987) ou 6 et 50 (Diskin et Niswender, 1989) suivant la saillie, n'influçait pas le taux de gestation chez la brebis. Aucun effet quant à l'impact réel de cette supplémentation sur le nombre d'embryons développés chez les brebis Merino n'a cependant pu être montré (Parr et *al.*, 1987). Diskin et Niswender (1989) ont avancé que lorsque la survie embryonnaire est élevée chez la brebis, soit plus de 75%, des concentrations de progestérone insuffisantes ne sembleraient pas être une cause prédominante de mortalité embryonnaire, d'où l'absence de réponse à une supplémentation exogène en progestérone. Une supplémentation en progestérone entre les jours 5 et 26 suivant la saillie, chez des agnelles Clun Forest, n'a pu influencer ni le taux de gestation, ni le taux de progestérone plasmatique (Davies et Beck, 1992).

D'autre part, les patrons de progestérone diffèrent au cours de la saison sexuelle alors que les niveaux les plus élevés sont atteints à la mi-saison comparativement aux périodes en début et en fin de saison. Ceci pourrait d'ailleurs être en lien avec les meilleurs taux de survie embryonnaire obtenus en milieu de saison sexuelle, en plus d'être possiblement en lien avec la durée d'éclairement journalier (Wilmot et *al.*, 1985a).

#### **2.4.2. Taux d'ovulation**

Des études ont déjà montré que l'augmentation du taux d'ovulation entraîne l'augmentation du taux de mortalité embryonnaire (Cumming et *al.*, 1975 ; Restall et *al.*, 1976). Hanrahan, en 1982 (cité par Hanrahan et Quirke, 1985), a trouvé une relation linéaire négative entre le nombre d'embryons parvenant à l'utérus et la probabilité qu'ils se rendent tous à terme et ceci, chez différentes races ovines. Les races Finnois, Galway et Finnois x Galway présentent des corrélations entre le taux d'ovulation et la taille de portée de 0,41, 0,72 et 0,58 respectivement. Il semblerait que cette relation s'affaiblisse avec l'augmentation du

taux moyen d'ovulation (Hanrahan et Quirke, 1985). De plus, les taux d'ovulation supérieurs rencontrés chez les races prolifiques seraient liés au développement de follicules de plusieurs vagues de recrutement qui matureront pour former un ovule alors que chez les races moins prolifiques, seuls les follicules issus de la dernière vague conduiraient à la libération d'ovules (Bartlewski et *al.*, 1999).

Chez des brebis Romanov dont le taux d'ovulation est de 2, 3, 4 et 5, le taux de mortalité embryonnaire est de 5,2%, 13,0%, 20,9% et 28,4% respectivement. Ainsi, selon ces résultats, l'augmentation de la taille de portée est de 0,71 lorsque le taux d'ovulation passe de 2 à 3 et de 0,56 lorsqu'il passe de 3 à 4 (Ricoardeau et *al.*, 1986).

Une étude contredit toutefois les résultats généralement obtenus et conclut que les pertes totales d'embryons n'étaient pas significativement différentes chez des brebis Merino Precoz à simple ovulation (57%) par rapport aux brebis de même race à double ovulation (51%) (Perez et de Prado, 1993)

#### **2.4.3. Saison de reproduction**

Mitchell et *al.* (1999) ont montré que la saison (saison sexuelle en novembre ou contre-saison sexuelle en février au 57°N) au cours de laquelle l'accouplement avait lieu n'entraînait pas de variation de la mortalité embryonnaire alors que la taille de portée était réduite en contre-saison sexuelle. Les performances reproductives moindres découlaient plutôt d'une diminution du taux d'ovulation. Une diminution des concentrations périphériques en progestérone a également été observée bien que celle-ci n'ait pu être expliquée, dans cette étude, que par la diminution du taux d'ovulation. Ainsi, à taux d'ovulation égaux, les concentrations périphériques en progestérone étaient plus faibles en contre-saison sexuelle comparativement aux concentrations retrouvées en saison. Ashworth et *al.* (1989) avaient émis l'hypothèse que les différences saisonnières en terme de survie embryonnaire, inférieure en contre-saison sexuelle (mars), pouvaient découler d'une différence entre les concentrations plasmatiques de progestérone, celles-ci étant supérieures en saison sexuelle (novembre).

#### **2.4.4. Âge de la femelle**

La survie embryonnaire varie avec l'âge de la femelle alors que les agnelles présentent davantage de mortalité embryonnaire que les brebis adultes (Wilmot et *al.*, 1985a). Michels et *al.* (1998) ont observé que les agnelles présentaient une augmentation des concentrations en progestérone 13 jours après la saillie plus lente que les brebis et que ces concentrations chez les agnelles se maintenaient à des taux inférieurs jusqu'au 28<sup>e</sup> jour suivant la saillie. La qualité réduite des ovules provenant d'agnelles, par rapport aux ovules provenant de brebis, pourrait également conduire à une fertilité moindre chez ces femelles (McMillan et McDonald, 1985). En effet, suite à un transfert chez des agnelles d'un ovule fécondé provenant d'une agnelle et d'un ovule fécondé provenant d'une brebis, le premier avait moins de chances de survivre jusqu'à terme, comparativement au second.

#### **2.4.5. État de chair de la femelle**

Bien que l'état de chair de la femelle ait un impact sur le taux d'ovulation, ce paramètre n'affecterait pas la mortalité embryonnaire pouvant survenir avant le 14<sup>e</sup> jour de gestation chez la brebis (Rhind et *al.*, 1984). West et *al.* (1991) ont cependant montré qu'un état de chair faible (2,6) péri-conceptionnel pouvait néanmoins réduire la taille de portée de 0,15 agneau pour une double ovulation et de 0,35 agneau pour une triple ovulation comparativement à un groupe ayant un état de chair plus élevé (3,9).

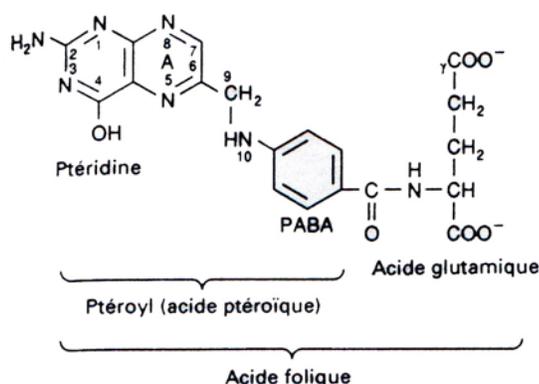
#### **2.4.6. Alimentation**

En 1975, Cumming et *al.* ont observé que des brebis Merino et Border Leicester x Merino alimentées de façon à couvrir 25%, 100% et 200% des besoins énergétiques d'entretien entre les jours 2 et 16 de la gestation, présentaient des nombres d'embryons viables de 1,12, 1,19 et 1,04 respectivement. Ainsi, une sous-alimentation et une sur-alimentation au cours de cette période entraîneraient des pertes embryonnaires. D'autres études ont montré qu'une ration couvrant 50% des besoins énergétiques d'entretien au cours des premières semaines de gestation des brebis entraînait de la mortalité embryonnaire, comparativement à une ration couvrant les besoins à 150% (Abecia et *al.*, 1997 ; Abecia et *al.*, 1999). Ceci pourrait être expliqué par le fait que la ration déficiente en énergie est associée à une réduction de la production d'INT- $\tau$  (Abecia et *al.*, 1999). D'autre part, un surplus de

protéines dégradables dans le rumen pourrait conduire à des concentrations en ammoniac anormalement élevées dans les voies utérines, ce qui serait toxique pour l'embryon et ce, aussi tôt qu'au 3<sup>e</sup> jour suivant une insémination chez la brebis (McEvoy et al., 1997).

## 2.5. L'acide folique

L'acide folique (AF) est une vitamine du complexe B (B<sub>9</sub>) qui a été pour la première fois isolée en 1941 à partir de feuilles d'épinard (Cossins, 2000). Il est composé d'une base, la ptéridine, d'une molécule d'acide *p*-aminobenzoïque (PABA) et d'une molécule d'acide glutamique (Figure 2-10). Le terme « folates » réfère à l'AF ainsi qu'à l'ensemble des composés qui découlent de l'activité biologique relative à l'AF.



**Figure 2-9** Structure de l'acide folique (Tiré de Mayes, 1995)

L'AF ne pouvant être synthétisé par les animaux, une source exogène est essentielle. La vitamine est principalement présente dans la levure, le foie et les légumes à feuilles (Mayes, 1995).

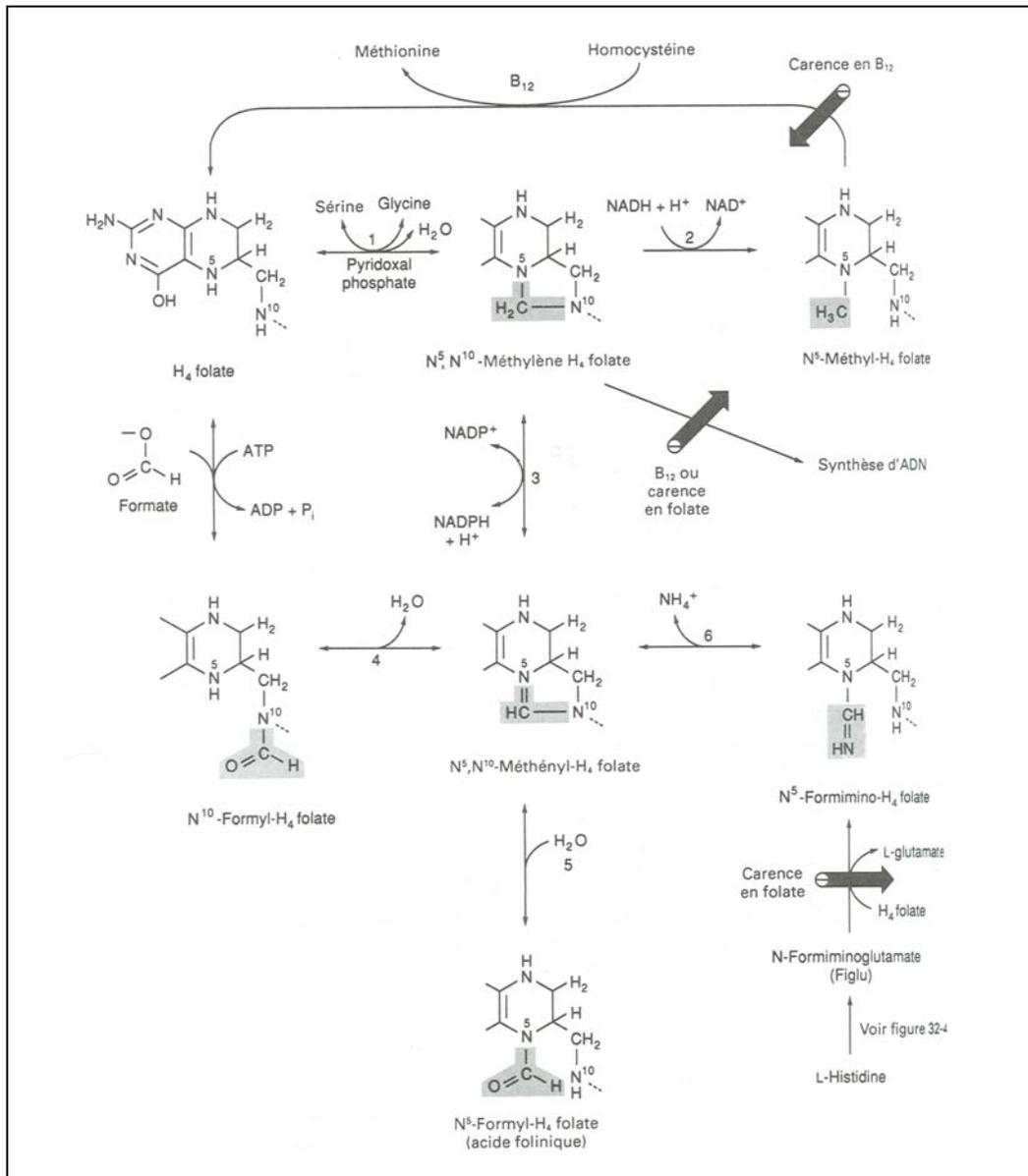
### 2.5.1. Biosynthèse ruminale de l'acide folique chez les ruminants

Chez les ruminants, l'AF est produit par les micro-organismes du rumen. Cette constatation découle d'une étude menée par Kon et Porter (1953) qui ont pu observer que malgré une

diète sans AF, une quantité appréciable de la vitamine est retrouvée dans le contenu ruminal. Aussi, la quantité de la vitamine retrouvée dans le rumen est supérieure à celle offerte par le biais de la ration.

### ***2.5.2. Métabolisme et rôles de l'acide folique dans l'organisme***

L'AF est une vitamine qui intervient au sein de différentes voies métaboliques chez plusieurs espèces, particulièrement pour le transfert et l'utilisation des molécules à un carbone. Cette vitamine photosensible joue entre autres le rôle de cofacteur à la thymidilate synthétase au cours de la synthèse de l'ADN et de l'ARN (Lindemann, 1993). En effet, la B<sub>9</sub> est impliquée dans la production des purines et des pyrimidines (Fleming et Copp, 1998) et elle prévient l'incorporation erronée d'uracile, en remplacement de thymine, lors de la synthèse de l'ADN (Anonymous, 1983). La synthèse du matériel génétique étant intense au sein des tissus en développement ou en régénérescence, les fœtus sont particulièrement sensibles à une carence en B<sub>9</sub> (Lindemann, 1993). De plus, le N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-méthylène-H<sub>4</sub>folate, obtenu lors de la formation de la glycine par le transfert d'un groupement méthylène, fournit ce même groupement lors de la formation du thymidylate qui est un précurseur nécessaire à la synthèse de l'ADN et à la formation des érythrocytes (Mayes, 1995). Les folates fournissent également un groupement à un carbone au cours de la synthèse de la sérine et de la méthionine (Cossins, 2000), servant donc entre autres de substrat pour la méthionine synthétase (Eskes, 1997). L'activité de l'AF est tributaire de la présence de la B<sub>12</sub>, entre autres pour la conversion de l'homocystéine en méthionine, un acide aminé essentiel, et pour la formation subséquente des purines, pyrimidines et acides nucléiques (Figure 2-11) (Mayes, 1995). La concentration sérique minimale en vitamine B<sub>12</sub> pour laquelle les besoins sont rencontrés, c'est-à-dire qu'il n'y a ni gain ni perte de poids chez des agneaux de moins d'un an, est de 500 pmol/l (environ 675 pg/ml) (Clark et al., 1989)



**Figure 2-10** Interconversions des unités monocarbonées attachées au tétrahydrofolate  
(Tiré de Mayes, 1995)

Le métabolisme protéique de la femelle gestante peut être influencé par un apport exogène en AF. En effet, chez la ratte, il est diminué par une supplémentation élevée en AF en toute fin de gestation, soit entre les jours 17 et 21. Dans ce protocole, le groupe supplémenté recevait 40 mg d'AF/kg d'aliment contre 2 mg d'AF/kg d'aliment pour le groupe témoin.

De ces résultats a pu être élaborée l'hypothèse qu'un apport en AF excessif est associé à une altération de l'utilisation métabolique des protéines alimentaires (Achon *et al.*, 1999).

L'AF ne semble pas avoir d'effet toxique, quoiqu'une dose pharmacologique élevée chez le rat, soit de 100 à 400 mg/kg de poids, peut entraîner une précipitation sous forme cristalline de la vitamine dans les tubules rénaux. Cette situation cause une diminution de leur capacité d'absorption mais est toutefois réversible (Matte *et al.*, 1989).

### ***2.5.3. Absorption et transport des folates***

Les folates, principalement présents dans les aliments sous forme de pteroylpolyglutamate (PteGlu<sub>n</sub>), sont absorbés par l'intestin, surtout dans le jéjunum, après avoir été hydrolysés en AF (PteGlu<sub>1</sub>). Cette transformation surviendrait à la surface des cellules de la muqueuse intestinale où se retrouverait la folate-conjugase (Halsted, 1980). Des différences marquées entre les espèces pour l'activité de cette enzyme ont toutefois été relevées (Wang *et al.*, 1985). L'AF est absorbé par le biais d'un transporteur sodium-dépendant situé au sein de la bordure en brosse des cellules de l'intestin grêle (Fedorak *et al.*, 1997). Aussi, 20 à 30% de la vitamine est absorbé l'est de façon passive, alors que l'efficacité globale d'absorption des folates est d'environ 50% et est concentrée dans le duodénum et le jéjunum (Combs, 1992).

Par ailleurs, suite à la comparaison de l'effet de différentes formes de folates administrées par voie orale sur les folates plasmatiques chez le porc, il semble que les formes réduites de la vitamine, par exemple le formyl-5 tétrahydrofolate, soient préférables aux formes oxydées, comme l'AF. Ceci serait en lien avec le fait que l'AF doit subir une transformation dans l'intestin (Mizuno *et al.*, 1997). Ces travaux avaient cependant révélé, contrairement à plusieurs autres, qu'une supplémentation en AF (forme oxydée) entraînait dans les 24 heures suivantes une diminution des folates circulants, ce qui n'a pu être expliqué.

Le transport des folates dans l'intestin de rats, plus précisément dans le jéjunum, est rendu possible par un système de transporteurs, un processus dépensant de l'énergie et dépendant du pH intestinal. Il semble que le pH intestinal optimal de transport soit à 6,0, ce qui est en

partie lié au fait que la transformation des folates alimentaires en forme transportable, soit le 5-méthyltétrahydrofolate, ne soit possible qu'en milieu acide. À ce pH, les folates peuvent également être accumulés contre le gradient chimique. De plus, possiblement en présence d'un pH alcalin et d'un gradient chimique important (Strum, 1979), les folates fournis par l'alimentation peuvent être transportés sous forme anionique dans le lumen intestinal. Ils traversent la membrane intestinale en brosse par un processus d'échange anionique, contre un anion hydroxyle, et selon l'état de saturation, ceci étant influencé par le gradient de pH transmembranaire (Lucock, 2000). Par ailleurs, les concentrations des tissus tels le foie, le tractus gastro-intestinal, les reins, la rate, les testicules, le cœur et les érythrocytes sont toutes en lien entre elles et avec les niveaux d'ingestion de la vitamine, d'où l'augmentation de celles-ci avec l'ajout de 125 µg de B<sub>9</sub>/kg d'aliment chez le rat (Clifford et *al.*, 1990).

Une fois absorbé par les cellules intestinales, l'AF est libéré dans la circulation sanguine (Fedorak et *al.*, 1997). Une certaine partie de l'AF cheminera sous forme libre dans le plasma jusqu'au foie qui en fera la conversion en différents folates (Combs, 1992). L'AF peut également, du moins chez l'humain, être associé à des protéines liantes qui permettent, entre autres, l'accumulation des réserves maternelles de la vitamine dans le fœtus, une demande décroissante avec l'approche de la fin de la grossesse (Gross et *al.*, 1980). Une supplémentation de la femelle en AF peut d'ailleurs augmenter l'approvisionnement du fœtus en B<sub>9</sub> (Barkow et *al.*, 2001).

Le système de protéines liantes retrouvé chez le mouton s'apparente à celui de l'humain alors que plusieurs types de protéines liantes sont présents dans le sang. Le complexe de protéines liantes, chez le mouton, diffère entre autres de celui du porc par les proportions relatives et les caractéristiques de ces protéines. Chez le mouton, le principal transporteur de folates sériques est la transferrine (Markkanen et *al.*, 1974), synthétisée dans le foie (Markkanen et *al.*, 1973), et qui démontre la plus haute proportion de folates liés par protéine. Bien qu'étant la protéine la plus présente dans le sang, seule une légère affinité avec l'albumine peut être notée. Cependant, compte tenu de la concentration sanguine de l'albumine, la quantité de folates associés à cette fraction est proche de celle associée à un

troisième transporteur, la  $\alpha$ -2-macroglobuline, qui présente une plus grande proportion de folates associés que l'albumine. Quant à la  $\gamma$ -globuline, une autre protéine, elle ne transporte pas de folates sériques (Markkanen et *al.*, 1974). Il semble toutefois qu'il n'y a pas de protéine liante possédant une haute affinité pour les folates chez le mouton. En effet, seule une faible fraction de l'AF, 2,1 à 4,8%, a pu être liée par 1  $\mu$ l de plasma, comparativement à 30,5 à 65,4% chez le porc (Mantzou et *al.*, 1974).

Chez l'humain, une forte augmentation de la liaison entre les folates et les protéines liantes survient en cours de gestation, surtout vers la fin, et ce phénomène serait particulièrement marqué pour la transferrine alors que la capacité liante de la  $\alpha$ -2-macroglobuline diminue dans la même période (Markkanen et *al.*, 1973). Ces protéines se lient préférentiellement aux formes réduites de folates et leur affinité est nettement plus importante à un pH de 7,4 qu'à un pH de 5,5. Elles sont retrouvées en différents sites tels que le placenta, le petit intestin et le foie (Henderson, 1990). De plus, en cas de mortalité embryonnaire, il semble que, du moins chez la femme, les folates contenus dans les tissus embryonnaires soient libérés dans le liquide amniotique par la lyse de ceux-ci et que la vitamine rejoigne la circulation sanguine maternelle (Clarke, 1973).

De toutes les formes de folates disponibles dans le plasma, seuls les dérivés monoglutamates pourront pénétrer les cellules grâce à un transporteur sodium-dépendant. Les formes monoglutamates seront alors converties en polyglutamates, des formes qui ne peuvent traverser les membranes cellulaires, ce qui emprisonne la vitamine dans la cellule. Ces dernières peuvent accumuler jusqu'au double de la concentration en folates des liquides extra-cellulaires. Ce sont les cellules hépatiques qui accumulent la plus grande proportion des réserves en B<sub>9</sub> (Combs, 1992).

#### ***2.5.4. Élimination des folates et de leurs catabolites***

Suite à une supplémentation en AF chez la vache, la principale voie d'élimination des folates est l'urine, pour un maximum d'environ 45% des folates excrétés 48 heures suivant une injection intra-musculaire (Girard et Matte, 1995). Les fèces ne sont responsables que de 20 à 30% de l'excrétion totale mesurée sur une période de 8 jours suivant une

supplémentation en acide ptéroylmonoglutamique, une forme de folates, chez le rat (Bhandari et Gregory, 1992). Les principaux catabolites de l'AF sont le p-acétaminobenzoylglutamate et le p-acétaminobenzoate. Étant deux composés solubles dans l'eau, ils sont excrétés dans la bile et l'urine (Combs, 1992).

En terme de quantité, l'excrétion des catabolites de folates augmenterait progressivement avec la grossesse de la femme pour atteindre un pic au troisième trimestre, période au cours de laquelle la croissance fœtale est maximale (Higgins et *al.*, 2000). McPartlin et *al.* (1993) avaient pour leur part déterminé que les concentrations en catabolites de folates dans l'urine étaient maximales au cours du second trimestre de la grossesse pour rejoindre les valeurs initiales suite à l'accouchement. Ceci soutient également l'hypothèse d'une augmentation du catabolisme de la vitamine lors de la gestation. Cette démonstration a aussi été réalisée chez le rat alors que les rejets urinaires de catabolites augmentent avec l'avancement de la gestation et ce, indépendamment des variations de poids des femelles. Ces différences entre groupes ne s'appliquent cependant pas à l'excrétion urinaire des folates intacts alors qu'aucune différence entre les rattes gestantes et non gestantes n'a pu être détectée (McNulty et *al.*, 1993).

Différents travaux ont cependant démontré qu'il n'y avait pas de variation des taux moyens de catabolites de folates excrétés selon le statut physiologique de la femelle. Selon Caudill et *al.* (1998), l'élimination des catabolites de folates n'est pas augmentée au cours du deuxième trimestre de la grossesse, ce qui signifie que l'augmentation des besoins en AF ne peut être expliquée par la hausse des rejets mais serait plutôt reliée à l'augmentation de son utilisation et du recyclage de la molécule, par exemple par l'utérus. Girard et Matte (1995) sont également parvenus à des conclusions semblables chez le bovin alors que le statut physiologique n'a pas eu d'impact sur le pourcentage de folates intacts excrétés dans l'urine de femelles en gestation ou en lactation.

D'autre part, une supplémentation moindre en AF, soit 450 vs 850 µg folates/jour, entraîne des rejets de catabolites de folates inférieurs. Cette observation implique que la femelle gestante pourrait être plus efficace dans l'utilisation et la conservation de la vitamine, par,

entre autres, le recyclage des coenzymes (Caudill et *al.*, 1998). De plus, la nature du supplément ne semble pas avoir d'effet sur l'excrétion des catabolites de folates. En effet, des suppléments oraux de 5-méthyl-H<sub>4</sub>folate, de 5-formyl-H<sub>4</sub>folate ou de [<sup>3</sup>H]-AF ont entraîné, chez le rat, une biodisponibilité et un patron d'excrétion similaires (Bhandari et Gregory, 1992).

#### **2.5.5. Besoins en acide folique**

En soumettant l'ensemble des animaux à l'étude à une régie similaire, il est possible de faire le suivi des variations entre l'apport en vitamine et la demande réelle des tissus en AF par la mesure des concentrations sériques de la vitamine (Gee et *al.*, 1989). Chez la femme enceinte, la diminution rapide des folates plasmatiques est signe de la hausse de la demande en AF, ce phénomène étant plus marqué pour les grossesses de jumeaux que pour les grossesses simples (Chanarin et *al.*, 1959). Chez la truie, cette demande croissante en folates entraîne la diminution des concentrations en folates sériques et érythrocytaires de plus de 50% entre les jours 1 et 109 de la gestation (O'Connor et *al.*, 1989).

Selon une étude réalisée par Girard et Matte, en 1995, les vaches laitières tarées mais gestantes présentent des besoins élevés en AF alors qu'une injection de 0,5 mg/kg de poids vif durant trois jours a même été insuffisante pour rencontrer les besoins des tissus en folates et, conséquemment, diminuer la demande en folates circulants. La baisse des niveaux de folates sériques chez ces animaux, découlant du prélèvement de ceux-ci par les tissus, vient supporter l'hypothèse selon laquelle la demande en AF augmente lors de la gestation.

Cette demande croissante en gestation semble, selon Higgins et *al.* (2000) qui ont étudié le métabolisme des folates chez la femme, être reliée à l'utilisation de la vitamine dans l'organisme pour, entre autres, la synthèse cellulaire. En effet, le taux de catabolisme des folates augmente au cours de la gestation pour atteindre un sommet au troisième trimestre de la grossesse, période au cours de laquelle la croissance fœtale est maximale. Ceci a pu être vérifié par le suivi de la *p*-acétamidobenzoylglutamate et la *p*-aminobenzoylglutamate, deux catabolites des folates, dans l'urine de 31 femmes au cours de trois périodes

spécifiques, soit de 12 à 16 semaines, de 26 à 30 semaines ainsi qu'à plus de 34 semaines de grossesse.

Les besoins en AF chez la femelle gestante pourraient également être liés au nombre de gestations précédemment supportées. En effet, l'étude de la concentration en folates de l'endomètre et du myomètre ainsi que celle des sécrétions utérines de cochettes n'était pas consistante avec les résultats d'études portant sur des sujets multipares. Les niveaux observés sont supérieurs dans l'étude de Matte et *al.* (1996), avec des cochettes, comparativement à une étude menée par le même groupe de chercheurs avec des truies de troisième parité. La prolificité des femelles pourrait également être impliquée du fait que le nombre d'embryons retrouvés chez les primipares est inférieur à celui observé chez les truies multipares de l'étude de Matte et *al.* (1996) (Duquette et *al.*, 1997). Cependant, Thaler et *al.* (1989) ont observé que les effets d'une supplémentation en AF, débutant 18 jours précédant la saillie et se poursuivant sans interruption pendant deux gestations, sur le nombre de porcelets nés et nés vivants, ont été plus marqués lors de la première gestation, soit chez les cochettes, que lors de la seconde gestation.

### ***2.5.6. Acide folique et caractéristiques sanguines de la femelle gestante***

#### ***2.5.6.1. Folates sériques***

Chez la brebis ne recevant aucun supplément d'AF, les concentrations en folates sériques les plus élevées sont observées au jour 12 de la gestation, comparativement aux jours 61 et 131. Ce phénomène pourrait être relié avec la demande croissante en folates de l'embryon qui prélève la vitamine au détriment des réserves maternelles (Girard et *al.*, 1999). La diminution des folates sériques est attribuée à l'utilisation des folates des réserves corporelles (Duquette et *al.*, 1997). Chez la brebis, il a été vérifié qu'un repas supplémenté en AF entraînait une augmentation des folates sériques au cours des 24 heures suivantes. Cette hausse est plus marquée avec l'augmentation de la dose de la vitamine (Girard et *al.*, 1999).

Chez la truie, les taux moyens d'acide tétrahydrofolique, une forme de folates libre dans le plasma (Combs, 1992), chutent de près de 50% entre la période pré-saillie et la période couvrant les 61<sup>e</sup> au 117<sup>e</sup> jours de gestation (Natsuhori et *al.*, 1993). L'effet d'une supplémentation en AF sur les folates sériques de truies à différents stades de la gestation a pu être maintes fois vérifié. Malgré une supplémentation de 5 ou 15 mg d'AF/kg de poids vif débutant au moins deux semaines précédant la date de conception, les folates sériques de truies primipares ont subi, de façon globale, une décroissance de la saillie à la 8<sup>e</sup> semaine de gestation, ce qui correspond environ à la mi-gestation, pour ensuite augmenter jusqu'à la mise-bas (Matte et *al.*, 1992). La diminution de la concentration de folates sériques avait cependant tendance à être atténuée par une supplémentation de 15 mg d'AF/kg d'aliment (total de 2,8 kg d'aliment par jour par animal). Les concentrations de folates sériques de truies multipares recevant l'aliment témoin ont chuté de 20% entre la saillie et le 12<sup>e</sup> jour de gestation. Cette diminution était moins marquée chez les femelles recevant une supplémentation de 15 mg d'AF/kg d'aliment, ceci indiquant une diminution de l'utilisation des réserves maternelles (Matte et *al.*, 1996). Natsuhori et *al.* (1996) ont aussi observé une diminution des folates, principalement les tétrahydrofolates, au cours de la gestation probablement causée par le transfert de ceux-ci de la mère aux fœtus. Cette chute des folates sériques, de la période pré-saillie à la 10<sup>e</sup> semaine de gestation dans une étude de Matte et Girard (1999) avait aussi été évaluée chez la truie à 24% lorsque la supplémentation en AF était de 0, 5 ou 10 mg/kg d'aliment (total de 2,5 kg d'aliment par jour par animal). Une supplémentation plus importante, 15 ou 20 mg/kg d'aliment, a par ailleurs limité l'ampleur de cette diminution des folates sériques et a accentué l'augmentation survenue vers la 14<sup>e</sup> semaine de gestation.

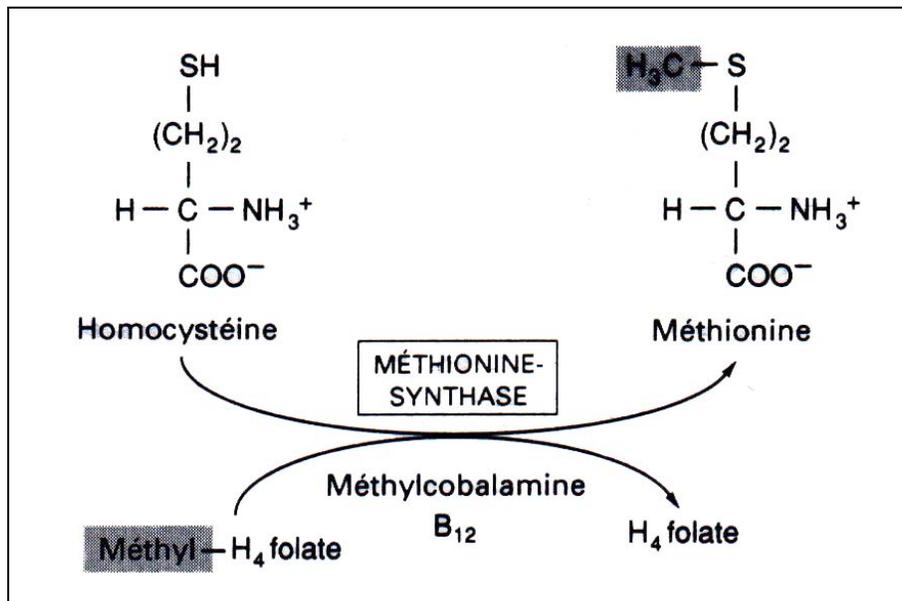
Tremblay et *al.* (1986) ont pu augmenter les folates sériques de truies entre le sevrage et la saillie suivante par des facteurs de 53, 61 et 61% en leur fournissant un apport en AF de 6, 18 ou 54 mg par jour respectivement. Les truies du groupe témoin, soit sans supplémentation, n'ont présenté qu'une hausse de 22% des folates sériques pour la même période.

Du côté de la vache laitière, Girard et *al.* (1989) ont pu vérifier que les folates sériques chutaient de 40% entre la saillie et la mise-bas. Toutefois, cette diminution a pu être freinée par l'injection intramusculaire d'AF alors que des quatre doses utilisées, soit 40, 80, 160 et 320 mg d'AF, ce fut l'injection de 160 mg d'AF qui permis l'augmentation des folates sériques la plus marquée au jour suivant cette supplémentation. Cet effet cubique pourrait découler d'une augmentation de l'excrétion rénale des folates lorsque l'AF est présent en fortes concentrations dans le sang. De plus, les animaux présentant des concentrations inférieures de folates sériques au jour de l'injection ont bénéficié d'une hausse plus importante de leurs folates suivant l'injection d'AF. Ainsi, bien que la vache soit considérée comme étant indépendante d'apports exogènes d'AF compte tenu de la production de vitamines du complexe B par les micro-organismes de son rumen, cette espèce peut bénéficier d'un apport exogène en acide folique.

La ratte, pour sa part, présente également une diminution des folates sériques lors de la gestation. De plus, comme chez plusieurs autres espèces de mammifères, une supplémentation, cette fois de 40 mg d'AF/kg d'aliment, a pu prévenir cette variation des concentrations vitaminiques sériques lorsque administrée tout au long des trois semaines de gestation (Achòn et *al.*, 2000).

#### **2.5.6.2. Homocystéine sérique**

L'homocystéine est le précurseur de la méthionine, un acide aminé essentiel, alors que cette conversion est rendue possible par l'action combinée de l'AF et de la vitamine B<sub>12</sub> (Figure 2-12). L'accumulation de l'homocystéine dans l'organisme, du fait que la molécule ne peut être convertie en méthionine, est donc un signe de carence en B<sub>9</sub> et/ou B<sub>12</sub> ou d'altération de l'activité de la méthionine-synthase, qui nécessite de l'AF et de la B<sub>12</sub> (Mayes, 1995).



**Figure 2-11** Conversion de l'homocystéine en méthionine (Adapté de Mayes, 1995)

Plusieurs études récentes montrent que l'homocystéine aurait un impact direct sur la survie embryonnaire et qu'une supplémentation en AF peut en contrôler les concentrations sériques. Achon *et al.* (2000) ont démontré le lien direct entre l'AF et l'homocystéine alors que les concentrations sériques en homocystéine étaient inférieures chez les rattes supplémentées en AF. Le ratio de méthylation (S-Adénosylméthionine (SAM) : S-Adénosylhomocystéine (SAH)) était supérieur chez les animaux recevant la vitamine. De la même façon, un apport supplémentaire en AF chez la femme réduit les concentrations plasmatiques d'homocystéine et ce, aussi tôt qu'une semaine suivant le début de la supplémentation (Brouwer *et al.*, 1999). Un programme de supplémentation en AF de différents aliments destinés à la consommation humaine a permis de réduire les concentrations sanguines en homocystéine et diminué la prévalence de hautes concentrations de 50% chez les femmes participant à l'étude (Jacques *et al.*, 1999).

Différents travaux ont également montré chez l'humain que l'hyperhomocystéinémie est un facteur de risque pour les pertes embryonnaires récurrentes en début de gestation, ceci étant possiblement lié à l'impossibilité de reméthylation de l'homocystéine en méthionine par

une déficience en AF (Wouters et *al.*, 1993 ; Willianne et *al.*, 2000a). Ainsi, des femmes présentant un problème de pertes embryonnaires récurrentes en début de gestation ont tendance à présenter des concentrations sériques supérieures en homocystéine (Willianne et *al.*, 2000b). Des concentrations élevées en homocystéine sont donc associées à des complications et des troubles de la gestation chez l'humain (Vollset et *al.*, 2000).

### 2.5.6.3. *Folates érythrocytaires*

L'AF, combiné à la vitamine B<sub>12</sub>, est nécessaire au processus d'érythropoïèse, soit la formation des globules rouges, puisqu'il est essentiel à la formation de l'ADN. En cas de carence en B<sub>9</sub>, des symptômes d'anémie deviennent observables (Carlson, 2002). Les concentrations de folates érythrocytaires (contenus dans les globules rouges) sont donc un indicateur de l'incorporation de la B<sub>9</sub> aux tissus corporels et, par le fait même, des réserves corporelles. Aussi, tout comme les folates plasmatiques, les folates érythrocytaires sont naturellement plus élevés chez le fœtus humain que chez sa mère alors que les concentrations fœtales sont environ le double entre les 34<sup>e</sup> et 37<sup>e</sup> semaines de gestation. La femme enceinte présente d'ailleurs des concentrations de folates érythrocytaires inférieurs à ceux des femmes non enceintes (Ek, 1980). Chez le mouton, cette caractéristique sanguine subit également une baisse en cours de gestation, ce qui fut mesuré aux jours 12, 61 et 131 de la gestation (Girard et *al.*, 1999). Indépendamment d'un apport quelconque en AF, il est aussi connu que chez les fœtus humains ayant un retard de croissance intra-utérine, comparativement à des fœtus ayant un poids normal à la naissance, le pourcentage de taux anormaux en folates érythrocytaires ( $\leq 0,23 \mu\text{mol/l}$  en folates érythrocytaires dans le cordon ombilical) est supérieur, soit 25,7% contre 19,9% (Rondo et *al.*, 1995).

D'autre part, une alimentation carencée en AF depuis 3 jours précédant la saillie jusqu'au 17<sup>e</sup> jour de gestation chez le cobaye a entraîné une diminution des folates érythrocytaires, mesure effectuée à la fin du traitement alimentaire (Habibzadeh et *al.*, 1986). Chez la femme, une supplémentation journalière en AF (400  $\mu\text{g/jour}$ ) est associée au maintien de concentrations en folates érythrocytaires suffisantes pour réduire les risques associés à de faibles taux de B<sub>9</sub>, soit principalement les défauts du tube neural (Cuskelly et *al.*, 1996 ; Brown et *al.*, 1997).

#### 2.5.6.4. *Hémoglobine et hématocrite*

Chez le mouton, les valeurs normales pour l'hémoglobine se situent entre 9 et 15 g/dl de sang, et pour l'hématocrite, entre 27 et 45% (Deem Moris, 2002).

Quelques études ont pu montrer qu'une supplémentation intramusculaire en AF, autant chez le porc (15 mg d'AF au sevrage, au début de l'oestrus puis hebdomadairement pour les 4 premières semaines de gestation et bihebdomadairement pour les 8 semaines suivantes) (Matte et *al.*, 1984) que chez la vache (160 mg d'AF hebdomadaire de 45 jours post-saillie à 6 semaines suivant le vêlage) (Girard et *al.*, 1995), n'a eu aucun effet sur les niveaux d'hémoglobine et d'hématocrite. Ces résultats indiquent que les apports en AF, même chez les groupes témoins, étaient suffisants pour empêcher l'apparition des symptômes d'anémie.

Chez la femme, une supplémentation quotidienne de 500 µg d'AF depuis le 3<sup>e</sup> mois de grossesse n'a permis aucune variation du niveau d'hémoglobine au cours des deux derniers trimestres gestationnels, contrairement à la femme non gestante chez qui l'apport journalier d'AF a permis une augmentation du niveau d'hémoglobine (Higgins et *al.*, 2000). Sans apport contrôlé en AF, il a été observé que chez les fœtus humains ayant un poids normal à la naissance, comparativement à des fœtus ayant un retard de croissance intra-utérine, le pourcentage de concentrations anormales en hémoglobine (> 17,0 g/dl) est moindre, soit 21,4% contre 37,0%. Aucune différence entre ces groupes n'a cependant pu être observée pour l'hématocrite (Rondo et *al.*, 1995). Chez la truie, au cours des quatre semaines pré-saillie et de la première semaine post-saillie, aucun changement n'a pu être noté pour les volumes sérique et sanguin de truies. Par la suite, ces paramètres ont augmenté d'environ 25%, ceci principalement entre les 11<sup>e</sup> et 14<sup>e</sup> semaines de gestation. Passé cette période, aucun changement des volumes sériques et de l'hématocrite n'a pu être noté. L'hématocrite s'est toutefois accru au cours de la première semaine de gestation, comparativement aux concentrations observées avant la saillie (Matte et Girard, 1996).

## **2.5.7. Relation entre l'acide folique et différents paramètres maternels et fœtaux**

### **2.5.7.1. Poids de la femelle gestante**

Certaines études ont montré que des vaches (injection hebdomadaire de 160 mg d'AF du jour 45 suivant la saillie jusqu'à la 6<sup>e</sup> semaine suivant la mise-bas) (Girard et *al.*, 1995) et des truies (0, 1,65 ou 6,62 mg d'AF/kg d'aliment depuis 18 jours précédant la saillie et tout au long de la gestation) (Thaler et *al.*, 1989) n'ont subi aucune variation de poids corporel au cours de la gestation en relation avec une supplémentation en B<sub>9</sub>. Cependant, chez le rat, une alimentation carencée en AF pendant la période précédant la saillie affecte le gain de poids quotidien des femelles. Ainsi, une restriction en B<sub>9</sub> au cours des neuf semaines précédant la saillie diminue le gain de poids de rattes entre le 8<sup>e</sup> jour de gestation et la mise-bas (Thenen, 1991). La hausse du poids des femelles pendant la gestation est amplifiée par une supplémentation en AF. Cette augmentation atteint cependant un plateau au-delà d'un apport en AF de 680 nmol/kg d'aliment, la dose inférieure à l'étude étant 566 nmol d'AF/kg d'aliment (Heid et *al.*, 1992).

### **2.5.7.2. Race**

Bien que les taux de folates sanguins diminuent chez l'ensemble des brebis entre la saillie et le 60<sup>e</sup> jour de gestation, cet effet est plus prononcé chez les races prolifiques (Girard et *al.*, 1996a). Cette chute a été chiffrée à 17% pour la race Suffolk (1,38 ± 0,13 agneaux en 1<sup>ère</sup> parité et 1,71 ± 0,13 en 2<sup>e</sup> parité), 32% pour la race Finnois (2,00 ± 0,32 agneaux en 1<sup>ère</sup> parité et 2,33 ± 0,57 en 2<sup>e</sup>) et 41% pour la race Romanov (2,67 ± 0,24 agneaux en 1<sup>ère</sup> parité et 3,20 ± 0,22 en 2<sup>e</sup>). Ce phénomène serait relié avec la demande croissante en folates par les embryons en développement. Par contre, les concentrations en folates sériques au jour de la saillie étaient de 1,17 ± 0,21, 1,87 ± 0,19 et de 2,14 ± 0,17 ng/ml pour les brebis Suffolk, Finnois et Romanov respectivement, un paramètre qui est donc plus élevé chez les races prolifiques. Ces observations pourraient souligner une plus grande habilité des races prolifiques à retenir les folates, comparativement aux races moins prolifiques.

Chez le porc, il a été montré que la race prolifique Meishan avait naturellement, comparativement à des truies de race Large White, des concentrations utérines supérieures,

lors de la gestation, en glucose, fructose, sodium, immunoglobuline A, PGF, PGE et acyle aminopeptidase. Ceci pourrait entre autres indiquer que les embryons de la race prolifique stimuleraient davantage la production de sécrétions endométriales et le transport de nutriments vers la lumière utérine. Il est également possible que l'endomètre de la race prolifique soit plus sensible aux signaux de l'embryon, ce qui permettrait une plus grande accumulation de nutriments dans le lumen de l'utérus (Bazer et *al.*, 1991).

### 2.5.7.3. *Parité*

La parité a un impact sur les variations de concentrations en folates sériques chez la brebis lors de la gestation. Au cours de la première gestation de brebis, les concentrations sériques de folates à la saillie et au 60<sup>e</sup> jour de gestation sont plus élevées comparativement aux concentrations retrouvées lors de la seconde gestation. Ceci pourrait être expliqué par l'utilisation des réserves maternelles lors de gestations répétées (Girard et *al.*, 1996a).

Des différences entre les patrons de folates sériques au cours des deux premières gestations ont également pu être observées chez la truie. Les cochettes présentent une décroissance entre la saillie et la 5<sup>e</sup> semaine de gestation, une légère augmentation entre les 5<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> semaines pour finalement maintenir un plateau jusqu'en fin de gestation, à la 15<sup>e</sup> semaine. Les truies de deuxième parité, contrairement à la première parité, présentent une baisse constante des folates sériques tout au long de la gestation. Les concentrations moyennes de folates sériques en gestation sont cependant similaires entre les deux parités (Girard et *al.*, 1996b).

Bien que Thaler et *al.* (1989) n'aient détecté que peu d'interactions entre la parité des truies et un traitement en AF (environ 3 mg d'AF/cochette du jour 18 pré-saillie au jour 90 de la gestation ; 3,75 mg d'AF/cochette du jour 90 de la gestation à la mise-bas ; 7,5 mg d'AF/cochette de la mise-bas au sevrage ; répétition du traitement au cours de la 2<sup>e</sup> parité) sur les performances reproductives, ils ont observé que l'amplitude de la réponse des primipares au traitement était supérieure à la réponse observée au cours de la 2<sup>e</sup> parité alors qu'aucune différence n'a pu être obtenue pour aucun des paramètres zootechniques mesurés lors de cette 2<sup>e</sup> parité.

#### 2.5.7.4. *Hormones*

Plusieurs niveaux d'implication de l'AF sont à considérer pour expliquer ses effets favorables sur la survie embryonnaire. Ainsi, Matte *et al.* (1996) ont montré que chez des truies de 3<sup>e</sup> parité, une supplémentation en AF de 15 mg d'AF/kg d'aliment (total de 42 mg d'AF/truie/jour) a permis de tripler la quantité de prostaglandine E<sub>2</sub> utérine au jour 12 de gestation et de la doubler au jour 15. Pour ce qui est de la prostaglandine F<sub>2α</sub>, elle a également été influencée à la hausse (60%), mais de façon non significative, par la supplémentation en AF. Chez les cochettes, il semble toutefois que l'efficacité sécrétrice des tissus utérins en prostaglandines soit limitée et que le potentiel maximal puisse être atteint avec une plus faible dose d'AF que chez les truies multipares (Duquette *et al.*, 1997). Un supplément de 15 mg d'AF/kg d'aliment donné à des cochettes depuis l'œstrus ou la saillie jusqu'au jour 12 de gestation n'a pas modifié les quantités totales de prostaglandines E<sub>2</sub> et F<sub>2α</sub> dans le liquide utérin (Duquette *et al.*, 1997). De même, malgré une supplémentation en B<sub>9</sub> depuis l'œstrus précédant la chaleur fécondante de truies, aucun effet sur les concentrations en PGE<sub>2</sub> et en PGF<sub>2α</sub> du liquide allantoïde au 30<sup>e</sup> jour de gestation ne fut noté chez des cochettes (Giguère *et al.*, 1997).

La diminution de la synthèse d'oestradiol-17β avait tendance à être plus forte dans les cultures de cellules embryonnaires entre les jours 12 à 15 de la gestation provenant de truies multipares ayant reçu des suppléments d'AF (Matte *et al.*, 1996). De même, chez des cochettes à 12 jours de gestation, les concentrations d'oestradiol-17-β dans le liquide utérin avaient tendance à être plus faibles chez celles recevant les suppléments d'AF (Duquette *et al.*, 1997).

D'autre part, il a été vérifié qu'un traitement de eCG (anciennement PMSG), combiné à un flushing alimentaire, ceci pour stimuler l'ovulation des truies, n'a aucune influence sur les folates sériques des femelles. De même, aucune interaction entre le traitement de eCG, combiné à un flushing alimentaire, et une supplémentation alimentaire en AF n'a pu être mise en évidence (Tremblay *et al.*, 1989b). Ainsi, un protocole requérant l'utilisation d'un traitement de eCG pour vérifier l'impact d'une supplémentation en AF sur les

performances reproductives de femelles ne devrait pas interférer avec l'effet réel de la vitamine sur les paramètres observés.

#### **2.5.7.5. Utérus**

De façon générale, les différents groupes de recherche ont pu démontrer que la supplémentation en AF n'avait pas d'effet sur le développement utérin. Matte et *al.* (1993) ont observé qu'une supplémentation en AF (5 ou 15 mg/kg) n'a eu aucune influence sur le poids et la surface placentaire à la 7<sup>e</sup> semaine de gestation de truie. Aucun effet de l'ajout d'AF à la ration (5 mg/kg d'aliment) de truies n'a pu être détecté sur le poids total du tractus reproducteur, des ovaires, du stroma, des corps lutéaux et du liquide folliculaire (Tremblay et *al.*, 1989a ; Duquette et *al.*, 1997). Toujours chez la truie, les volumes de fluides allantoïque et amniotique ainsi que le poids de l'utérus vide ne sont pas affectés par une supplémentation journalière de 2 ppm en AF (Harper et *al.*, 1996). La quantité totale de protéines des tissus utérins (Duquette et *al.*, 1997), tout comme la longueur des cornes utérines (Matte et *al.*, 1996 ; Duquette et *al.*, 1997) ne sont également pas modifiées par l'augmentation de l'apport alimentaire en B<sub>9</sub>.

Chez le rat, une alimentation carencée en B<sub>9</sub> diminue le poids du placenta (Thenen, 1979). Chez l'humain, un ajout d'AF seul (Morgan et Winick, 1978) ou combiné à une supplémentation en fer (Iyengar et Rajalakshmi, 1975), entraîne l'augmentation du poids moyen du placenta et du contenu total en ADN et en protéines du placenta. Aussi, Harper et *al.* (1996) rapportent qu'une supplémentation en AF débutant 21 jours avant la saillie tend à augmenter la longueur et le poids du placenta. En début de gestation, chez le porc, les folates sont préférentiellement dirigés vers l'utérus plutôt qu'accumulés dans le sérum (Duquette et *al.*, 1997), alors que les folates se retrouvant dans le lumen utérin sont possiblement utilisés rapidement (Matte et *al.*, 1996).

#### **2.5.7.6. Développement embryonnaire et malformations**

La supplémentation péri-conceptionnelle en AF a, chez le hamster, un impact positif sur le développement embryonnaire et la formation de la neurula. Ainsi, au jour 9 de la gestation,

les embryons de femelles supplémentées en B<sub>9</sub> présentaient un développement se situant entre les stades 10 et 14 alors que la progéniture des femelles ne recevant pas d'AF étaient plutôt aux stades 9 à 12. De plus, le pourcentage d'embryons développés en deçà du stade 11 est plus élevé au sein du groupe de femelles ne recevant pas la vitamine, ce qui démontre un besoin spécifique de l'embryon en AF (Mooij *et al.*, 1993). Aussi, des embryons de souris ne possédant pas de protéines liantes pour les folates (Folbp1), et qui sont donc incapables à accumuler les folates dans leurs cellules, ont présenté des retards sérieux de développement et de croissance entre les jours 8,5 et 10,5 de gestation, une situation qui a pu être évitée par un apport en AF (Piedrahita *et al.*, 1999).

Chez la femme, Tamura *et al.* (1997) ont montré l'existence d'une relation positive entre les concentrations en folates sériques maternels et l'incidence de retards de croissance fœtale aux semaines 18 et 30 de la grossesse de même qu'avec le poids des enfants à la naissance. Chez le porc, une supplémentation en B<sub>9</sub> depuis l'œstrus précédant la chaleur fécondante de truies et se poursuivant pendant le premier mois de gestation a entraîné une augmentation de 2,4% de la longueur des embryons au 30<sup>e</sup> jour de gestation (Giguère *et al.*, 1997). De plus, les fœtus provenant de truies supplémentées en AF à partir de 21 jours précédant la saillie jusqu'au jour de l'abattage, entre les 42<sup>e</sup> et 48<sup>e</sup> jours de gestation, ont vu leurs poids humide et sec ainsi que leur longueur vertex-coccyx augmentés (Harper *et al.*, 1996).

Une étude portant sur une supplémentation élevée en B<sub>9</sub>, près de 20 fois les besoins, donnée à des rattes pendant les trois semaines de gestation, a montré que les fœtus présentaient, à la naissance, un poids corporel et une longueur vertex-coccyx moindre malgré un développement considéré comme adéquat. Il est à souligner que le traitement n'a entraîné aucune variation quant à la taille de portée, comparativement au groupe témoin. Les connaissances restent toutefois insuffisantes pour éclaircir les éléments pouvant avoir entraîné ces résultats (Achon *et al.*, 2000 ; Achon *et al.*, 1999). L'hypothèse avancée pour expliquer ces observations est que l'utilisation métabolique des nutriments, surtout les protéines, peut être altérée par une supplémentation à long terme en AF à des doses vingt

fois supérieures aux besoins de la ratte, ceci sans toutefois affecter les fonctions digestives (Achon *et al.*, 2000).

Rosenquist *et al.* (1996) ont montré qu'une supplémentation en AF pouvait, chez des fœtus de poulet, contrecarrer l'effet négatif d'une forte concentration en homocystéine. En effet, un apport quotidien en B<sub>9</sub> a diminué l'incidence de dimorphisme provoqué par des injections d'homocystéine aux jours 2 à 4 suivant la ponte. Toutefois, pour que l'apport en AF soit réellement efficace, il semble que les embryons doivent avoir un foie fonctionnel dont les cellules permettent la transformation rapide de l'homocystéine en méthionine en utilisant l'AF. Lors d'un stade de développement plus hâtif, soit durant les 53 premières heures suivant la ponte, l'embryon est incapable d'utiliser la vitamine pour se protéger de l'effet nocif de l'homocystéine. À ce stade de développement précoce, il faut plutôt préalablement diminuer, par la supplémentation en AF, les concentrations en homocystéine de la mère dont le foie est actif dans la conversion de l'homocystéine en méthionine.

Chez l'humain, il est maintenant largement connu qu'une carence en AF chez la femme enceinte provoque des défauts du tube neural (Bunduki *et al.*, 1995 ; Wald *et al.*, 1996). Chez les femmes ayant déjà porté un ou des fœtus avec des défauts du tube neural, la réponse à une supplémentation en AF (augmentation des folates sériques) est cependant moindre, voire parfois quasi nulle, comparativement aux femmes ayant eu des grossesses normales. Ceci pourrait indiquer que ces femmes auraient besoin de doses de folates plus importantes que les autres afin d'obtenir une réponse plasmatique équivalente (Neuhouser *et al.*, 1998). Il a cependant été démontré que l'absorption de la vitamine n'est pas déficiente chez ces sujets (Davis *et al.*, 1995). Des campagnes nationales de fortification en AF de certains aliments, entre autres en Irlande et en Angleterre, ont permis de diminuer l'incidence de ces malformations (Murphy *et al.*, 2000). Ces mesures ont été prises à la suite de la mise en évidence des bienfaits d'une supplémentation péri-conceptionnelle et gestationnelle en B<sub>9</sub> chez les femmes (Wald *et al.*, 1991 ; Werler *et al.*, 1993 ; Shin *et Shiota*, 1999).

#### 2.5.7.7. *Mortalité embryonnaire*

Bien que quelques travaux n'aient pas détecté d'effet d'une supplémentation en AF de la femelle gestante sur la taille de portée chez le porc (Matte et *al.*, 1992 ; Matte et *al.*, 1993 ; Harper et *al.*, 1996), la plupart des études ont pu montrer un lien entre la vitamine et la prolificité en améliorant la survie embryonnaire (Matte et *al.* 1984 ; Thaler et *al.* 1989 ; Lindemann, 1993).

Matte et *al.* (1984) ont obtenu une augmentation de la taille de portée en attribuant à un groupe de truies un traitement de 15 mg d'AF ajouté à la ration, ceci combiné à un flushing alimentaire entre le sevrage précédant et la saillie, comparativement à un groupe témoin ne recevant qu'une alimentation à volonté (flushing alimentaire). De la même façon, Thaler et *al.* (1989) ont obtenu, par une supplémentation en AF chez des truies, une augmentation du nombre de porcelets nés et nés vivants sans toutefois avoir d'effet sur le nombre de porcelets morts-nés. L'ajout de la vitamine a pu entraîner une diminution de la mortalité embryonnaire en augmentant les concentrations de folates des fœtus et en supportant la synthèse embryonnaire d'ADN normal. Cette augmentation de la taille de portée par la supplémentation péri-conceptionnelle et en gestation, tout comme l'effet négatif d'une carence en la vitamine sur ce même paramètre, sont bien démontrés, particulièrement chez l'espèce porcine (Matte et *al.*, 1984 ; Thenen, 1991 ; Heid et *al.*, 1992 ; Mooij et *al.*, 1992). Giguère et *al.* (1997) ont chiffré l'impact d'une supplémentation en B<sub>9</sub> depuis l'oestrus précédant la chaleur fécondante à 15% d'augmentation de la taille de portée. Aussi, une ration carencée en AF servie 5 ou 9 semaines précédant la saillie de rattes a entraîné une diminution de la taille de portée comparativement à un groupe recevant la même ration supplémentée de 6 mg de la vitamine (Tagbo et Hill, 1977).

Le taux d'ovulation étant en lien avec la mortalité embryonnaire, l'effet de l'AF est particulièrement marqué lorsque le taux d'ovulation est élevé. Le nombre de fœtus morts est réduit par une supplémentation en B<sub>9</sub> en début de gestation et ceci s'applique entre autres dans les cas d'utilisation de eCG visant à augmenter la prolificité des femelles (Tremblay et *al.*, 1989a). Il est toutefois à noter que la supplémentation en AF ne semble

pas avoir d'effet sur le taux d'ovulation des femelles (Tremblay et *al.*, 1989a ; Matte et *al.*, 1996).

#### **2.5.7.8. Composition fœtale**

En ce qui a trait à la composition en ADN des fœtus, plusieurs travaux s'accordent pour soutenir le fait qu'une supplémentation en AF n'a aucun effet sur ce paramètre. Ainsi, un apport en AF débutant avant la date prévue de saillie de truies n'a entraîné aucun effet sur la composition en ADN des fœtus de 12 ou 15 jours (Matte et *al.*, 1996 ; Duquette et *al.*, 1997), de 31 à 36 jours (Tremblay et *al.*, 1989a) ou de 7 semaines (Matte et *al.*, 1993). Tout comme pour l'ADN, aucun effet n'a pu être détecté sur la teneur en ARN des fœtus porcins de 31 à 36 jours (Tremblay et *al.*, 1989a) ou de 7 semaines (Matte et *al.*, 1993).

Une augmentation de l'apport alimentaire en AF avant la saillie permettait d'augmenter la quantité de protéines fœtales. Tremblay et *al.* (1989a) ont observé que la concentration en protéines des fœtus de truies supplémentées en AF depuis le sevrage précédant était supérieure à celle du groupe témoin. La quantité de protéines des fœtus étant reliée au développement de ceux-ci, il est possible de conclure que ces fœtus ont bénéficié d'un avantage au niveau de leur croissance. Matte et *al.* (1996) ont également pu détecter une tendance de la quantité totale de protéines à être plus élevée chez des fœtus de 12 jours provenant de truies multipares supplémentées en AF au moins deux semaines avant la date prévue pour la saillie. Toutefois, d'autres études ont montré que chez les cochettes, une supplémentation dès 21 jours précédant la saillie n'a pas influencé le contenu en protéines des fœtus de 12 jours (Duquette et *al.*, 1997) ou de 42 jours (Harper et *al.*, 1996). Ce traitement n'avait pas non plus d'impact sur le ratio protéines/ADN, tant chez les cochettes (Duquette et *al.*, 1997) que chez les multipares (Tremblay et *al.*, 1989a).

#### **2.5.7.9. Poids des porcelets et poids de la portée à la naissance**

Un apport insuffisant en vitamine B<sub>9</sub> est associé à l'augmentation des risques de progéniture de faible poids chez l'humain (Scholl et *al.*, 1996). Toutefois, différentes études n'ont pu observer, selon des niveaux variables de supplémentation en AF en cours

de gestation, de variations de poids des nouveaux-nés, autant chez le porc (Thaler et *al.*, 1989 ; Matte et *al.*, 1992) que chez le bovin (Girard et *al.*, 1995). Matte et *al.* (1992) ont pu observer que les porcelets nés de truies recevant 15 mg d'AF/kg d'aliment tout au long de la gestation avaient, de la naissance à la 8<sup>e</sup> semaine d'âge, un taux de croissance supérieur à celui de porcelets issus de truies recevant 0 ou 5 mg d'AF/kg d'aliment.

Quant au poids de la portée à la naissance, il a été montré à plusieurs reprises qu'il était augmenté par une supplémentation en AF. Thaler et *al.* (1989) ont obtenu des poids de portées supérieurs chez des truies recevant 1,65 mg d'AF/kg d'aliment 18 jours précédant la saillie et pendant tout la gestation, comparativement aux femelles recevant 0 ou 6,62 mg d'AF/kg d'aliment, ce qui représente un effet de traitement quadratique. Cette différence serait principalement attribuée à l'augmentation de la taille de portée. Matte et *al.* (1992) en sont venus à des conclusions similaires alors qu'une supplémentation des truies de 15 mg d'AF/kg d'aliment, comparativement aux traitements de 0 et 5 mg d'AF/kg d'aliment, a permis d'augmenter le poids de la portée. L'explication avancée pour ce dernier résultat stipule que l'augmentation de la synthèse des tissus fœtaux aurait permis cette augmentation du poids de la portée chez les femelles recevant la ration enrichie en AF.

## **2.6. Hypothèses**

À la lumière des informations regroupées au sein de la précédente revue de littérature, plusieurs hypothèses de travail peuvent être avancées quant à l'impact d'une supplémentation en AF sur la fertilité et la prolificité de brebis prolifiques et non-prolifiques. Le présent travail était basé sur les hypothèses suivantes :

1. La supplémentation en AF permet d'augmenter la fertilité et la taille de portée de la brebis;

Puisque chez le porc, il a été démontré qu'une supplémentation péri-conceptionnelle en AF permettait de réduire les pertes embryonnaires, il est possible de penser que le même phénomène serait observable chez d'autres espèces.

2. Les effets de la supplémentation en AF sont plus importants chez la brebis prolifique que chez la brebis non prolifique;

Puisque les effets de l'acide folique se manifestent par une réduction de la mortalité embryonnaire plutôt que par une augmentation du taux d'ovulation et que les différences entre les brebis prolifiques et les brebis non-prolifiques sont au niveau du taux d'ovulation, l'effet d'un traitement en acide folique pourrait être plus efficace en terme de réduction de la mortalité embryonnaire chez les brebis prolifiques.

3. Les effets de la supplémentation en AF sont plus importants en contre-saison qu'en saison sexuelle.

Puisqu'en saison sexuelle les performances reproductives de la brebis sont supérieures à celles observées en contre-saison sexuelle, les possibilités d'amélioration des performances reproductives sont plus grandes lors de cette dernière saison de reproduction. Par ailleurs, cette différence pourrait être causée par un taux de mortalité embryonnaire supérieur en contre-saison sexuelle.

## **2.7. Liste des ouvrages cités**

Abecia, J.A., Lozano, J.M., Forcada, F. et Zarazaga, L. 1997. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 48: 209-218.

Abecia, J.A., Forcada, F. et Lozano, J.M. 1999. A preliminary report on the effect of dietary energy on prostaglandin F2 $\alpha$  production in vitro, interferon-tau synthesis by the conceptus, endometrial progesterone concentration on day 9 and 15 of pregnancy and associated rates of embryo wastage in ewes. *Therio.* 52: 1203-1213.

Achon, M., Alonso-Aperte, E., Reyes, L., Ubeda, N. et Varela-Moreiras, G. 2000. High-dose folic acid supplementation in rats: effects on gestation and the methionine cycle. *Br. J. Nutr.*, 83: 177-183.

Achon, M., Reyes, L., Alonso-Aperte, E., Ubeda, N. et Varela-Moreiras, G. 1999. High dietary folate supplementation affects gestational development and dietary protein utilization in rats. *J. Nutr.*, 129: 1204-1208.

Anonymous. 1983. The mechanism whereby folate deficiency can cause defective DNA synthesis. *Nutr. Rev.* 41: 160-162.

Ashworth, C.J. 1992. Symposium 8. Relationship between uterine environment and embryonic development: practical consequences. - Synchrony embryo-uterus. Anim. Reprod. Sci., 28: 259-267.

Ashworth, C.J. 1995. Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos. Livest. Prod. Sci., 44: 99-105.

Ashworth, C.J., Sales, D.I. et Wilmut, I. 1989. Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. J. Reprod. Fert. 87: 23-32.

Asselin, E., Drolet, P. et Fortier, M.A. 1997. Cellular mechanisms involved during oxytocin-induced prostaglandin  $F_{2\alpha}$  production in endometrial epithelial cells in vitro: role of cyclooxygenase-2. Endo., 138: 4798-4805.

Asselin, E., Johnson, G.A., Spencer, T.E. et Bazer, F.W. 2001. Monocyte chemotactic protein-1 and -2 messenger ribonucleic acids in the ovin uterus : regulation by pregnancy, progesterone, and interferon- $\tau$ . Biol. Reprod. 64: 992-1000.

Barkow, B., Matte, J.J., Böhme, H. et Flachowsky, G. 2001. Influence of folic acid supplements on the carry-over of folates from the sow to the piglet. Br. J. Nutr., 85: 179-184.

Barnes, F.L. 2000. The effects of the early uterine environment on the subsequent development of embryo and fetus. Therio., 53:649-658.

Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J., Chandolia, R.K., Honaramooz, A. et Rawlings, N.C. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. J. Reprod. Fert., 115: 111-124.

Bazer, F.W., Ott, T.L. et Spencer, T.E. 1998. Endocrinology of the transition from recurring estrous cycles to establishment of pregnancy in subprimate mammals. Pages 1-33 *Dans* Endocrinology of pregnancy. Humana Press. New Jersey, États-Unis.

Bazer, F.W., Thatcher, W.W., Matinat-Botte, F., Terqui, M., Lacroix, M.C., Bernard, S. Revault, M. et Dubois, D.H. 1991. Composition of uterine flushings from large white and prolific chinese meishan gilts. Reprod. Fert., 3: 51-60.

Bhandari, S.D. et Gregory III, J.F. 1992. Folic acid, 5-methyl-tetrahydrofolate and 5-formyl-tetrahydrofolate exhibit equivalent intestinal absorption, metabolism and in vivo kinetics in rats. J. Nutr., 122: 1847-1854.

Brice, G., Jardon, C. et Vallet, A. 1995. Le point sur la conduite de la reproduction chez les ovins. Éditions Institut de l'Élevage. Paris, France. 79 pages.

- Brien, F.D., Cumming, I.A., I.J. Clarke et Cocks, C.S. 1981. Role of plasma progesterone concentration in early pregnancy of the ewe. *Austr. J. Exp. Agri. Anim. Husb.*, 21: 562-565.
- Brouwer, I.A., van Dusseldorp, M., Thomas, C.M.G., Duran, M., Hautvast, J.G.A.J., Eskes, T.K.A.B. et Steegers-Theunissen, R. 1999. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69: 99-104.
- Brown, J.E., Jacobs, D.R., Hartman, T.J., Barosso, G.M., Stang, J.S., Gross, M.D. et Zeuske, M.A. 1997. Predictors of red cell folate level in women attempting pregnancy. *JAMA*, 277: 548-552.
- Bunduki, V., M. Dommergues, J. Zittoun, J. Marquet, F. Muller et Dumez, Y. 1995. Maternal-fetal folate status and neural tube defects: a case control study. *Biol. Neonate*, 67: 154-159.
- Carlson, G.P. 2002. Diseases of the hematopoietic and hemolymphatic systems. Pages 1039-1084 *Dans Large animal internal medicine*. 3<sup>e</sup> édition. Mosby. St-Louis. Missouri. USA.
- Caudill, M.A., Gregory III, J.F., Hutson, A.D. et Bailey, L.B. 1998. Folate catabolism in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intakes. *J. Nutr.*, 128: 204-208.
- Chanarin, I., MacGibbon, B.M., O'Sullivan, W.J. et Mollin, D.L. 1959. Folic acid deficiency in pregnancy - The pathogenesis of megaloblastic anaemia of pregnancy. *Lancet*, 24 October: 634-639.
- Chaouat, G., Meliani, A.A., Martal, J., Raghupathy, R., Elliot, J., Mosmann, T. et Wegmann, T.G. 1995. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by in vivo injection of IFN- $\tau$ . *J. Immun.* 154: 4261-4268.
- Clark, R.G., Wright, D.F., Millar, K.R. et Rowland, J.D. 1989. Reference curves to diagnose cobalt deficiency in sheep using liver and serum vitamin B12 levels. *N.Z. Vet. J.*, 37: 7-11.
- Clarke, H.C. 1973. B-vitamin in human amniotic fluid. *Internat. J. Nutr. Res.* 43: 324-326.
- Clifford, A.J., Heid, M.K., Müller, H.G. et Bills, N.D. 1990. Tissue distribution and prediction of total body folate of rats. *J. Nutr.*, 120: 1633-1639.
- Combs Jr, G.F. 1992. Folate. Pages 357-376 *Dans The vitamins – Fundamental aspects in nutrition and health*. Academic Press Inc. San Diego, Californie, USA.
- Cossins, E.A. 2000. The fascinating world of folate and one-carbon metabolism. *Can. J. Botany*, 78: 691-708.

Cumming, I.A., de B. Blockey, M.A., Winfield, C.G., Parr, R.A. et Williams, A.H. 1975. A study of relationship of breed, time of mating, level of nutrition, live weight, body condition, and face cover to embryo survival in ewes. *J. Agri. Sci. Camb.*, 84:559-565.

Cuskelly, G.J., McNulty, H. et Scott, J.M. 1996. Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet*, 347: 657-659.

Davies, M.C.G. et Beck, N.F.G. 1992. Plasma hormone profiles and fertility in ewe lambs given progestagen supplementation after mating. *Therio.*, 38: 513-526.

Davis, B.A., Bailey, L.B., Gregory III, J.F., Toth, J.P., Dean, J. et Stevenson, R.E. 1995. Folic acid absorption in women with a history of pregnancy with neural tube defect. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62: 782-784.

Davis, I.F., Kerton, D.J., Parr, R.A. White, M.B. et Williams, A.H. 1986. Hormone supplementation to increase fertility after uterine artificial insemination in ewes. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 16: 171-173.

Deem Moris, D. 2002. Alterations in the erythron. Pages 415-419 *Dans Large animal internal medicine*. 3<sup>e</sup> édition. Mosby. St-Louis. Missouri. USA.

Diskin, M.G. et Niswender, G.D. 1989. Effect of progesterone supplementation on pregnancy and embryo survival in ewes. *J. Anim. Sci.*, 67: 1559-1563.

Dudouet, C. 1997. La production du mouton. Éditions France Agricole. Paris, France. 285 pages.

Duquette, J., Matte, J.J., Farmer, C., Girard, C.L. et Laforest, J.P. 1997. Pre- and post-mating dietary supplements of folic acid and uterine secretory activity in gilts. *Can. J. Anim. Sci.*, 77: 415-420.

Ealy, A.D., Larson, S.F., Liu, L., Alexanko, A.P., Winkelman, G.L., Kubisch, H.M., Bixby, J.A. et Roberts, R.M. 2001. Polymorphic forms of expressed bovin interferon- $\tau$  genes: relative transcript abundance during early placental development, promoter sequences of genes and biological activity of protein products. *Endo.*, 142: 2906-2915.

Edey, T.N. 1967. Early embryonic death and subsequent cycle length in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 13: 437-443.

Edey, T.N. 1979. Embryo mortality. Pages 315-325 *Dans Sheep Breeding*. Eds G.J. Tomes, D.E. Robertson, R.J. Lightfoot & W. Haresign. Butterworths, Londres, Angleterre.

Ek, J. 1980. Plasma and red cell folate values in newborn infants and their mothers in relation to gestational age. *J. Pediatr.*, 97: 288-292.

Eskes, T.K.A.B. 1997. Folates and the fetus. *Eu. J. Obstet. Gynecol.*, 71: 105-111.

Fedorak, R.N., Paré, P. et Thomson, A.B.R. 1997. L'intestin grêle. Pages 208-298 *Dans Principes fondamentaux de gastro-entérologie*. 3<sup>e</sup> édition. Association canadienne de gastro-entérologie. Edmonton, Alberta, Canada & Astra Pharma Inc. Mississauga, Ontario, Canada.

Fleming, A. et Copp, A.J. 1998. Embryonic folate metabolism and mouse neural tube defects. *Science*, 280: 2107-2109.

FPAMQ. 2002. Analyse de groupe provinciale – Production Ovine 2002. Projet de gestion des données technico-économiques des entreprises ovines du Québec. Fédération des producteurs d'agneaux et moutons du Québec. Québec, Canada.

Gee, J.M., Bhabuta, A. et Johnson, I.T. 1989. A technique for assessing the biological availability of folate in foods. *Food Chemistry*, 31: 149-158.

Geisert, R.D. et Malayer., J.R. 2000. Implantation. Pages 126-139 *Dans Reproduction in farm animals*. 7<sup>e</sup> édition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, USA.

Giguère, A., Girard, C.L., Lambert, R., Laforest, J.P. et Matte, J.J. 1997. Embryo survival and conceptus development in gilts conditioned with dead semen and receiving dietary supplements of folic acid. *Can. J. Anim. Sci.*, 77: 757.

Girard, C.L., Castonguay, F., Fahmy, M.H. et Matte, J.J. 1996a. Serum and milk folates during the first two gestations and lactations in Romanov, Finnsheep, and Suffolk ewes. *J. Anim. Sci.*, 74: 1711-1715.

Girard, C.L., Castonguay, F. et Matte, J.J. 1999. Response of serum concentrations of folates to dietary supplements of folic acid given to ewes during gestation. *Can. J. Anim. Sci.*, 79: 387-389.

Girard, C.L., Robert, S., Matte, J.J., Farmer, C. et Martineau, G.P. 1996b. Serum concentration of micronutrients, packed cell volume, and blood hemoglobin during the first two gestations and lactations of sows. *Can. J. Vet. Res.*, 60: 179-185.

Girard, C.L. et Matte, J.J. 1995. Serum clearance and urinary excretion of pteroylmonoglutamic acid in gestating and lactating dairy cows. *Br. J. Nutr.*, 74: 857-865.

Girard, C.L., Matte, J.J. et Tremblay, G.F. 1989. Serum folates in gestating and lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 3240-3246.

Girard, C.L., Matte, J.J. et Tremblay, G.F. 1995. Gestation and lactation of dairy cows: a role for folic acid?. *J. Dairy Sci.*, 78: 404-411.

Gross, S., Kamen, B., Fanaroff, A. et Caston, D. 1980. Folate compartments during gestational maturation. *J. Pediatr.*, 96: 842-844.

- Guillomot, M. 2001. L'implantation du blastocyste. Pages 457-478 *Dans* La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA Éditions. Ellipses. Paris, France.
- Habibzadeh, N., Schorah, C.J. et Smithells, R.W. 1986. The effects of maternal folic acid and vitamin C nutrition in early pregnancy on reproductive performance in the guinea-pig. *Br. J. Nutr.*, 55: 23-35.
- Hafez, E.S.E. et Hafez., B. 2000a. Fertilization and cleavage. Pages 110-125 *Dans* Reproduction in farm animals. 7<sup>e</sup> édition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, USA.
- Hafez, E.S.E. et Hafez., B. 2000b. Reproductive cycle. Pages 55-67 *Dans* Reproduction in farm animals. 7<sup>e</sup> édition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, USA.
- Hafez, E.S.E. et Hafez., B. 2000c. Transport and survival of gametes. Pages 82-95 *Dans* Reproduction in farm animals. 7<sup>e</sup> édition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, USA.
- Halsted, C.H. 1980. Intestinal absorption and malabsorption of folates. *Ann. Rev. Med.* 31: 79-87.
- Hanrahan, J.P. et Quirke, J.F. 1985. Chapter 21 - Contribution of variation in ovulation rate and embryo survival to within breed variation in litter size. *Genetics of reproduction in sheep*, RB Land, DW Robinson, Londres, Pages 193-201.
- Harper, A.F., Lindemann, M.D. et Kornegay, E.T. 1996. Fetal survival and conceptus development after 42 days of gestation in gilts and sows in response to folic acid supplementation. *Can. J. Anim. Sci.*, 76: 157-160.
- Heid, M.K., Bills, N.D., Hinrichs, S.H. et Clifford, A.J. 1992. Folate deficiency alone does not produce neural tube defects in mice. *J. Nutr.*, 122: 888-894.
- Henderson, G.B. 1990. Folate-binding proteins. *An. Rev. Nutr.*, 10: 319-335.
- Hewitt, S.C., Goulding, E.H., Eddy, E.M. et Korach, K.S. 2002. Studies using the estrogen receptor  $\alpha$  knockout uterus demonstrate that implantation but not decidualization-associated signaling is estrogen dependent. *Biol. Reprod.* 67: 1268-1277.
- Higgins, J.R., Quinlivan, E.P., McPartlin, J., Scott, J.M., Weir, D.G. et Darling, M.R.N. 2000. The relationship between increased folate catabolisme and the increased requirement for folat in pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 107: 1149-1154.
- Iijima, T., Tada, H., Hidaka, Y. Mitsuda, N. Murata, Y. et Amino, N. 1997. Effects of autoantibodies on the course of pregnancy and fetal growth. *Obstet. Gynecol.*, 90: 364-369.
- Iyengar, L. et Rajalakshmi, K. 1975. Effect of folic acid supplement on birth weights of infants. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 122: 332-336.

- Jacques, P.F., Selhub, J., Bostom, A.G., Wilson, P.W.F. et Rosenberg, I.H. 1999. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N. Engl. J. Med.*, 340: 1449-1454.
- Jainudeen, M.R., Wahid, H. et Hafez, E.D.E. 2000. Sheep and goats. Pages 172-181 *Dans* Reproduction en farm animals. 7<sup>e</sup> édition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, USA.
- Johnson, G.A., Bazer, F.W., Jaeger, L.A., Ka, H., Garlow, J.E., Pfarrer, C., Spencer, T.E. et Burghardt, R.C. 2001a. Muc-1, integrin, and osteopontin expression during the implantation cascade in sheep. *Biol. Reprod.*, 65: 820-828.
- Johnson, G.A., Stewart, M.D., Gray, C.A., Choi, Y., Burghardt, R.C., Yu-Lee, L.Y., Bazer, F.W. et Spencer, T.E. 2001b. Effect of the estrous cycle, pregnancy, and interferon tau on 2',5'-oligoadenylate synthetase expression in the ovine uterus. *Biol. Reprod.*, 64: 1392-1399.
- Kleemann, D.O., Walker, S.K., Grimson, R.J., Smith, D.H., Grosser, T.I. et Seamark, R.F. 1991. Exogenous progesterone and embryo survival in booroola-cross ewes. *Reprod. Fertil. Dev.*, 3: 71-77.
- Kleemann, D.O., Walker, S.K. et Seamark, R.F. 1994. Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, 102: 411-417.
- Kon, S.K. et Porter, J.W.G. 1953. The B vitamin content of the rumen of steers given various diets. *Proceedings of Nutrition Society. England and Scotland.* 12: xii.
- Le Moigne, A. 1997. Biologie du développement. Collection Abrégés de Médecine. Éditions Masson. Paris, France. 295 pages.
- Leymarie, P. et Martal, J. 2001. Du corps jaune cyclique au corps jaune gestatif. Pages 479-504 *Dans* La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA Éditions. France.
- Lindemann, M.D. 1993. Supplemental folic acid: a requirement for optimizing swine reproduction. *J. Anim. Sci.*, 71 : 239-246.
- Lucock, M. 2000. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol. Gen. Metab.*, 71: 121-138.
- Manalu, W. et Sumaryadi, M.Y. 1998. Maternal serum progesterone concentration during pregnancy and lamb birth weight at parturition in Javanese Thin-Tail ewes with different litter sizes. *Small Rum. Res.*, 30: 163-169.
- Mantzou, J.D., Alevizou-Terzaki, V. et Gyftaki, E. 1974. Folate binding in animal plasma. *Acta Haemat.*, 51: 204-210.

- Markkanen, T., Himanen, P., Pajula, R.L., Ruponen, S. et Castrén, O. 1973. Binding of folic acid to serum proteins - The effect of pregnancy. *Acta Haemat.*, 50: 85-91.
- Markkanen, T., Pajula, R.L. et Virtanen, S. 1974. Binding of folic acid to serum proteins IV in some animal species. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 44: 347-356.
- Martal, J., Chêne, N., Camous, S., Huynh, L., Lantier, F., Hermier, P., L'Haridon, R., Charpigny, G., Charlier, M. et Chaouat, G. 1997. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-t and other cytokines in early pregnancy. *Reprod. Fert. Dev.*, 9: 355-380.
- Martal, J. et Haddad, B. 2001. Physiologie et endocrinologie placentaires. Pages 505-532 *Dans* La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA Éditions. Ellipses. Paris, France.
- Matte J.J., Farmer, C., Girard, C.L. et Laforest, J.P. 1996. Dietary folic acid, uterine function and early embryonic development in sows. *Can. J. Anim. Sci.*, 76: 427-433.
- Matte, J.J. et Girard, C.L. 1996. Changes of serum and blood volumes during gestation and lactation in multiparous sows. *Can. J. Anim. Sci.*, 76: 263-266.
- Matte, J.J. et Girard, C.L. 1999. An estimation of the requirement for folic acid in gestating sows: the metabolic utilization of folates as a criterion of measurement. *J. Anim. Sci.*, 77: 159-165.
- Matte, J.J., Girard, C.L. et Brisson, G.J. 1984. Folic acid and reproductive performances of sows. *J. Anim. Sci.*, 59: 1020-1025.
- Matte, J.J., Girard, C.L. et Brisson, G.J. 1992. The role of folique acid in the nutrition of gestating and lactating primiparous sows. *Livest. Prod. Sci.*, 32: 131-148.
- Matte, J.J., Girard, C.L. et Tremblay, G.F. 1993. Effect of long-terme addition of folic acid on folate status, growth performance, puberty attainment, and reproductive capacity of gilts. *J. Anim. Sci.*, 71: 151-157.
- Matte, J.J., Girard, C.L., Tremblay, G.F. et Brisson, G.J. 1989. Importance of the folic acid in the nutrition of the gestating sow. *CAB Internat.*, 10: 331-336.
- Mayes, P.A. 1995. Structure et fonction des vitamines hydrosolubles. Pages 655-671 *Dans* Précis de biochimie de Harper. 8<sup>e</sup> édition. Les Presses de l'Université Laval. Québec, Canada.
- McEvoy, T.G., Robinson, J.J., Aitken, R.P., Findlay, P.A. et Robertson, I.S. 1997. Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Anim. Reprod. Sci.* 47: 71-90.

- McMillan, W.H. et McDonald, M.F. 1985. Survival of fertilized ova from ewe lambs and adult ewes in the uteri of ewe lambs. *Anim. Reprod. Sci.*, 8: 235-240.
- McNulty, H., McPartlin, J.M. et Weir, D.G. 1993. Folate catabolism is increased during pregnancy in rats. *J. Nutr.*, 123: 1089-1093.
- McPartlin, J., Halligan, A., Scott, J.M., Darling, M. et Weir, D.G. 1993. Accelerated folate breakdown in pregnancy. *Lancet*, 341: 148-149.
- Meyer, H.H. 1985. Breed differences in ovulation rate and uterine efficiency and their contribution to fecundity. Pages 185-191 *Dans Genetics of reproduction in sheep*, RB Land & DW Robinson, Butterworths, Londres, Angleterre.
- Michels, H., Vanmontfort, D., Dewil, E. et Decuyper, E. 1998. Prenatal survival in relation to peri-ovulatory phenomena and the site of ovulation in sheep: a review. *Small Rum. Res.*, 29: 157-166.
- Mitchell, L.M., King, M.E., Aitken, R.P., Gebbie, F.E. et Wallace, J.M. 1999. Ovulation, fertilization and lambing rates, and peripheral progesterone concentrations, in ewes inseminated at a natural oestrus during November or February. *J. Reprod. Fertil.*, 115: 133-140.
- Mizuno, Y., Kokue, E., Ohnishi, N. et Toride, Y. 1997. Effect of oral administration of folate sources on plasma folate levels in pigs: comparison between reduced and oxidized forms of folate. *Can. J. Anim. Sci.*, 77: 497-502.
- Mooij, P.N.M., Thomas, C.M.G., Doesburg, W.H. et Eskes, T.A.B. 1993. The effects of periconceptional folic acid and vitamin supplementation on maternal folate levels and on neurulating hamster embryos in vivo. *Int. J. Vit. Nutrim. Res.*, 63: 212-216.
- Mooij, P.N.M., Wouters, M.G.A.J., Thomas, C.M.G., Doesburg, W.H. et Eskes, T.K.A.B. 1992. Disturbed reproductive performance in extreme folic acid deficient golden hamsters. *Eur. J. Obstet. Gynecol.*, 43: 71-75.
- Moor, R.M. 1968. The corpus luteum of the sheep : functional relationship between the embryo and corpus luteum. *J. Anim. Sci.* 27 (suppl. 1) : 97.
- Morgan, B.L.G. et Winick, M. 1978. The effects of folic acid supplementation during pregnancy in the rat. *Br. J. Nutr.*, 40: 529-533.
- Murphy, M., Whiteman, D., Stone, D., Botting, B., Schorah, C. et Wild, J. 2000. Dietary folate and the prevalence of neural tube defects in the British Isles: the past two decades. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 107: 885-889.
- Natsuhori, M., Kokue, E.I. et Shimoda, M. 1993. Influence of gestation and lactation on the levels of plasma folates in sows. Pages 733-736 *Dans Chemistry and biology of pteridines and folates*. Plenum Press. New York, États-Unis.

Natsuhori, M., Shimoda, M. et Kokue, E.I. 1996. Alteration of plasma folates in gestating sows and new born piglets. *Am. Physio. Soc.* : R99-R104.

Neuhouser, M.L., Beresford, S.A.A., Hickok, D.E. et Mosen, E.R. 1998. Absorption of dietary and supplemental folate in women with prior pregnancies with neural tube defects and controls. *J. Am. Coll. Nutr.*, 17: 625-630.

O'Connor, D.L., Picciano, M.F., Roos, M.A. et Easter, R.A. 1989. Iron and folate utilization in reproducing swine and their progeny. *J. Nutr.*, 119: 1984-1991.

Ottobre, J.S., Vincent, D.L., Silvia, W.J. et Inskoop, E.K. 1984. Aspects of regulation of uterine secretion of prostaglandins during the oestrus cycle and early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, 7 : 75-100.

Parr, R.A., Davis, I.F., Fairclough, R.J. et Miles, M.A. 1987. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 80: 317-320.

Perez, T.J.R. et de Prado, M.D.E. 1993. Influence of ovulation rate and progesterone concentration on embryo survival in Merino precoz ewes. *W. Rev. Anim. Prod.*, 28: 27-30.

Piedrahita, J.A., Oetama, B., Bennett, G.D., van Waes, J., Kamen, B.A., Richardson, J. Lacey, S.W., Anderson, R.G.W. et Finnell, R.H. 1999. Mice lacking the folic acid-binding protein Folbp 1 are defective in early embryonic development. *Nature genetics*, 23: 228-232.

Pru, J.K., Austin, K.J., Haas, A.L. et Hansen, T.R. 2001. Pregnancy and interferon- $\tau$  upregulate gene expression of members of the 1-8 family in the bovin uterus. *Biol. Reprod.* 65: 1471-1480.

Quinlivan, T.D., Martin, C.A., Taylor, W.B. et Cairney, I.M. 1966. Estimates of pre- and perinatal mortality in the New Zealand Romney Marsh ewe – I. Pre- and perinatal mortality in those ewes that conceived to one service. *J. Reprod. Fert.* 11: 379-390.

Rawlings, N.C. et Hyland, J.H. 1985. Prostaglandin F and E levels in the conceptus, uterus and plasma during early pregnancy in the ewe. *Prostaglandins*. 29: 933-951.

Restall, B.J., Brown, G.H., de B. Blockey, M., Cahil, L. et Kearins, R. 1976. Assessment of reproductive wastage in sheep - 1. Fertilization failure and early embryonic survival. *Austr. J. Exp. Agri. Anim. Husb.*, 16: 329-335.

Rhind, S.M., Doney, J.M., Gunn, R.G. et Leslie, I.D. 1984. Effects of body condition and environmental stress on ovulation rate, embryo survival, and associated plasma follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone profiles in Scottish Blackface ewes. *Anim. Prod.*, 38: 201-209.

Ricordeau, G., Poivey, J.P., Lajous, D. et Eychenne, F. 1986. Genetic aspects of ovulation rate and embryo mortality in Romanov ewes. 3<sup>rd</sup> World Congress on genetics applied to livestock production. Nebraska. Pages 90-95.

Rondo, P.H.C., Abbott, R., Rodrigues, L.C. et Tomkins, A.M. 1995. Vitamin A, folate, and iron concentrations in corn and maternal blood of intra-uterine growth retarded and appropriate birth weight babies. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 49: 391-399.

Rosenquist, T.H., Ratashak, S.A. et Selhub, J. 1996. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93: 15227-15232.

Scholl, T.O., Hediger, M.L., Schall, J.I., Khoo, C.S. et Fisher, R.L. 1996. Dietary and serum folate: their influence on the outcome of pregnancy. *Am. J. Clin. Nutr.*, 63: 520-525.

Shelton, K., Gayerie De Abreu, M.F., Hunter, M.G., Parkinson, T.J. et Lamming, G.E. 1990. Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows. *J. Reprod. Fert.*, 90: 1-10.

Shin, J.H. et Shiota, K. 1999. Folic acid supplementation of pregnant mice suppresses heat-induced neural tube defects in the offspring. *J. Nutr.*, 129: 2070-2073.

Silvia, W.J., Ottobre, J.S. et Inskeep, E.K. 1984. Concentrations of prostaglandins E<sub>2</sub>, F<sub>2α</sub> and 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> in the utero-ovarian venous plasma of nonpregnant and early pregnant ewes. *Biol. Reprod.*, 30: 936-944.

Strum, W.B. 1979. Enzymatic reduction and methylation of folate following pH-dependent, carrier-mediated transport in rat jejunum. *Biochim. Biophys. Acta.*, 554: 249-257.

Tagbo, I.F. et Hill, D.C. 1977. Effects of folic acid deficiency on pregnant rats and their offspring. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 55: 427-433.

Tamura, T., Goldenberg, R.L., Johnston, K.E., Cliver, S.P. et Hoffman, H.J. 1997. Serum concentrations of zinc, folate, vitamins A and E, and proteins, and their relationships to pregnancy outcome. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 76 (suppl. 165): 63-70.

Thaler, R.C., Nelssen, J.L., Goodband, R.D. et Allee, G.L. 1989. Effect of dietary folic acid supplementation on sow performance through two parities. *J. Anim. Sci.*, 67: 3360-3369.

Thenen, S.W. 1979. Correlation between maternal and fetal folic acid status at day 21 of gestation in rats. *Nutr. Rep. Internat.*, 19: 267-274.

Thenen, S.W. 1991. Gestational and neonatal folate deficiency in rats. *Nutr. Res.*, 11: 105-116.

- Thwaites, C.J. 1972. The time course of embryonic resorption in the ewe. *Aust. J. Biol. Sci.* 25: 597-603.
- Tremblay, G.F., Matte, J.J., Dufour, J.J. et Brisson, G.J. 1989a. Survival rate and development of fetuses during the first 30 days of gestation after folic acid addition to a swine diet. *J. Anim. Sci.*, 67: 724-732.
- Tremblay, G.F., Matte, J.J., Girard, C.L. et Brisson, G.J. 1989b. Serum zinc, iron and copper status during early gestation in sows fed a folic acid-supplemented diet. *J. Anim. Sci.*, 67: 733-737.
- Tremblay, G.F., Matte, J.J., Lemieux, L. et Brisson, G.J. 1986. Serum folates in gestating swine after folic acid addition to diet. *J. Anim. Sci.*, 63: 1173-1178.
- Vollset, S.E., Refsum, H., Irgens, L.M., Emblem, B.M., Tverdal, A., Gjessing, H.K., Monsen, A.L.B. et Ueland, P.M. 2000. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes : the Hordaland homocysteine study. *Am. J. Clin. Nutr.* 71: 962-968.
- Wald, N., Sneddon, J. Densem, J., Frost, C. et Stone, R. 1991. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 338: 131-137.
- Wald, N.J., Hackshaw, A.K., Stone, R. et Sourial, N.A. 1996. Blood folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in relation to neural tube defects. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 103: 319-324.
- Wales, R.G. et Waugh, E.E. 1993. Catabolic utilization of glucose by the sheep conceptus between days 13 and 19 of pregnancy. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5: 111-122.
- Wang, T.T.Y., Reisenauer, A.M. et Halsted, C.H. 1985. Comparison of folate conjugase activities in human, pig, rat and monkey intestine. *J. Nutr.* 115: 814-819.
- Werler, M.M., Shapiro, S. et Mitchell, A.A. 1993. Periconceptional folic acid exposure and risk of occurrent neural tube defects. *J. Am. Med. Ass.*, 269: 1257-1261.
- West, K.S., Meyer, H.H. et Nawaz, M. 1991. Effects of differential ewe condition at mating and early postmating nutrition on embryo survival. *J. Anim. Sci.*, 69: 3931-3938.
- Willianne, L.D.M.H., Blom, H.J., Steegers, E.A.P., den Heijer, M. et Eskes, T.K.A.B. 2000a. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil. Steril.*, 74: 1196-1199.
- Willianne, L.D.M.H., Blom, H.J., Steegers, E.A.P., den Heijer, M., Thomas, C.M.G. et Eskes, T.K.A.B. 2000b. Homocysteine and folat levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstet. Gynecol.*, 95: 519-524.

Wilmot, I., Ashworth, C.J. et Sales, D.I. 1986. The influence of progesterone profile on embryo survival in ewe. Pages 135-141 *Dans Embryonic mortality in farm animals*. Eds. J.M. Sreenan & Mg Diskin.

Wilmot, I. et Sales, D.I. 1981. Effect of an asynchronous environment on embryonic development in sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 61: 179-184.

Wilmot, I., Sales, D.I. et Ashworth, C.J. 1985a. Physiological criteria for embryo mortality: is asynchrony between embryo and ewe a significant factor? Pages 275-289 *Dans Genetics of reproduction in sheep*, RB Land & DW Robinson, Butterworths, Londres, Angleterre.

Wilmot, I., Sales, D.I. et Ashworth, C.J. 1985b. The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals. *Therio.*, 23: 107-117

Wouters, M.G.A.J., Thomas, C.M.G., Boers, G.H.J., Borm, G.F., Blom, H.J., Steegers-Theinissen, R.P.M., Trijbels, F.J.M. et Eskes, T.K.A.B. 1993. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil. Steril.*, 60: 820-825.

Yankey, S.J., Hicks, B.A., Garnahan, K.G., Assiri, A.M., Sinor, S.J., Kodali, K., Stellflug, J.N. et Ott, T.L. 2001. Expression of the antiviral protein Mx in peripheral blood mononuclear cells of pregnant and bred, non-pregnant ewes. *J. Endo.* 170: R7-R11.

Zavy, M.T. et Geisert, R.D. 1994. Embryonic mortality in domestic species. CRC Press. Boca Ratn. Floride, États-Unis. 224 pages.

## Chapitre 3

### **Supplémentation en acide folique de la ration de brebis prolifiques et non-prolifiques pour améliorer la fertilité et la prolificité**

#### **3.0. Résumé**

L'objectif de ce projet était d'évaluer l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique (AF) sur la productivité de brebis prolifiques et non-prolifiques en saison et en contre-saison sexuelle. Une expérience préliminaire sur 32 brebis Dorset a permis de déterminer que de quatre doses, soit 0, 70, 140 ou 210 mg d'AF/brebis/jour, c'est celle de 210 mg d'AF/jour/brebis qui entraînait une augmentation supérieure des folates plasmatiques. En saison sexuelle, 39 brebis Dorset et 39  $\frac{1}{2}$ Finnois $\frac{1}{2}$ Dorset au site A et 80 Dorset au site C ont été séparées en deux groupes recevant 0 ou 210 mg d'AF/brebis/jour de 21 jours précédant la saillie jusqu'à 30 jours post-saillie. En contre-saison sexuelle, 80 Dorset au site A, 56  $\frac{1}{2}$ Romanov au site B et 78 Dorset au site C ont été soumises au même protocole que celui des essais en saison sexuelle. Les folates plasmatiques (FP) et les folates érythrocytaires (FE) en saison sexuelle, ont été mesurés du début du traitement à 30 ou 90 jours suivant la saillie. Le traitement en AF a permis d'augmenter les concentrations de FP et de FE mais n'a eu aucun effet sur le taux d'ovulation, la taille de portée, le taux de mortalité embryonnaire, le poids des agneaux et de la portée à la naissance. Les performances reproductives de brebis prolifiques et non prolifiques, autant en saison sexuelle qu'en contre-saison sexuelle, n'ont pu être améliorées par le présent protocole de supplémentation en AF.

### **3.1. Introduction**

La principale cause de diminution de la taille de portée maximale potentielle, par rapport au taux d'ovulation, est la mortalité embryonnaire survenant avant l'attachement puisque seulement 5% des ovules ne seront pas fécondés (Edey, 1979). En fait, chez l'espèce ovine, de 20 à 40% des ovules fécondés sont perdus (Ashworth, 1995) et environ 30% le seraient entre les jours 2 et 30 de la gestation (Quinlivan et *al.*, 1966). Plusieurs équipes de recherche ont montré que différentes espèces, comme le cobaye (Habibzadeh et *al.*, 1986) et le porc (Matte et *al.*, 1984), pouvaient bénéficier d'un apport exogène en acide folique (AF) par la diminution de la mortalité embryonnaire. Chez la brebis, les concentrations en folates sériques diminuent en début de gestation et ce, particulièrement chez les races prolifiques (Girard et *al.*, 1996). Par ailleurs, un apport exogène en AF a permis d'augmenter les concentrations en folates sériques dans les 24 heures suivant la supplémentation (Girard et *al.*, 1999). Cependant, aucune démonstration de l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle de longue durée en AF sur les paramètres sanguins, le taux de mortalité embryonnaire et, conséquemment, sur la taille de portée n'a été réalisée chez les ovins.

Cette recherche a pour objectif de vérifier l'impact d'une supplémentation péri-conceptionnelle en AF sur les paramètres sanguins et les performances reproductives de brebis prolifiques et non prolifiques, en saison et en contre-saison sexuelle.

### **3.2. Matériel et méthodes**

#### ***3.2.1. Expérience préliminaire***

L'objectif de l'expérience préliminaire est de déterminer quelle dose d'acide folique, parmi les trois évaluées, permet d'augmenter les concentrations en folates plasmatiques chez des brebis recevant la supplémentation pendant cinq jours. La dose retenue servira pour les expériences subséquentes.

### ***Animaux***

Dans une bergerie commerciale (site A), 32 brebis Dorset (DP) ont été réparties de façon à obtenir quatre groupes uniformes pour l'état de chair et le poids moyens. Chacun de ces groupes s'est ensuite vu attribuer un des quatre traitements alimentaires.

### ***Logement et régie d'alimentation***

Les animaux ont été logés en parquet de huit d'un même traitement alimentaire. Des mangeoires de type « cornadis » ont été installées de façon à assurer une alimentation individuelle pour les concentrés servis. Ce dispositif fait en sorte que l'unité expérimentale est la brebis. Les fourrages étaient servis à volonté pour tous les animaux et leur renouvellement dans les mangeoires était fait après avoir servi les concentrés, matin et soir.

### ***Traitement expérimental***

Pendant les cinq jours qu'a duré la supplémentation (J0=début de la supplémentation en AF), les brebis ont reçu des concentrés de type commercial (15% PB) et de l'AF servi en « top-dressing », simultanément pour tous les animaux, le matin (7h00) et le soir (17h30). Les brebis ont reçu deux repas de 250 g/tête de concentré matin et soir (500 g/tête/jour) supplémentés avec des doses de 0, 70, 140 ou 210 mg d'AF/jour divisées également sur les deux repas servis (Rovimix 10 % acide ptéroylmonoglutamique, Hoffman-LaRoche, Cambridge, Ontario).

### ***Paramètres sanguins***

Afin de mesurer les folates plasmatiques (FP), des échantillons sanguins ont été récoltés à l'aide de tubes Vacutainer® EDTA pour le plasma avant le tout premier repas d'AF de la première journée de supplémentation (J0H0), 4 heures après le repas (J0H4), 7 heures après (J0H7), 10 heures après (J0H10, juste avant le repas du soir), 4 heures après le deuxième repas de la journée (J0H15) et 13 heures après le deuxième repas (J1H0). Les mêmes prélèvements ont été faits à J5 soit J5H0, J5H4, J5H7, J5H10, et J5H15, le dernier repas en AF étant celui du soir au jour 5. Immédiatement après les prélèvements, les échantillons ont été centrifugés à 2500 tours/min pendant 12 minutes. Le plasma a ensuite été transféré dans des microtubes en polypropylène puis congelé à -20 °C jusqu'aux analyses.

La dose choisie pour les expériences principales a été la dose minimale qui a permis de doubler la concentration maximale des FP mesurée chez les brebis témoins (0 mg d'AF/jour).

### ***3.2.2. Expérience 1 – saison sexuelle***

#### ***Animaux***

Dans deux bergeries commerciales (sites A et C), les brebis ont été réparties dans les traitements expérimentaux trois semaines avant la date prévue des saillies (novembre). Au site A, 39 brebis Dorset (DP) et 39 ½Finnois½Dorset (FLDP) ont été séparées de façon à obtenir deux groupes, comportant autant de DP que de FLDP, uniformes pour l'état de chair et le poids moyens ainsi que pour la prolificité moyenne à vie. Chacun de ces groupes s'est ensuite vu attribuer un traitement d'AF. Les brebis ont été de nouveau réparties en deux sous-groupes, à l'intérieur de chacun des traitements, toujours en respectant le génotype, le poids, l'état de chair et la prolificité moyenne à vie. La moitié de ces sous-groupes (un de chaque traitement d'AF) a été soumise au même protocole mais à trois semaines d'intervalle par rapport aux deux autres sous-groupes. La formation de ces deux sous-groupes a permis une répartition des agnelages dans le temps visant à faciliter la réalisation de l'expérimentation. Une brebis DP recevant la supplémentation en AF a été éliminée en cours d'expérimentation pour cause de maladie.

Le même protocole a été répété dans une deuxième bergerie, au site C, où 80 brebis DP ont également été réparties en deux groupes uniformes pour l'état de chair et le poids moyens ainsi que pour la prolificité moyenne à vie. Chacun de ces groupes s'est ensuite vu attribuer un traitement d'AF.

#### ***Logement et régie d'alimentation***

Les animaux ont été logés en parquet de 10. Des mangeoires de type « cornadis » ont été installées de façon à assurer une alimentation individuelle pour les concentrés servis. Ce dispositif fait en sorte que l'unité expérimentale est la brebis. Les mangeoires étaient installées environ une semaine avant le début de l'expérimentation et une petite quantité de

moulée commerciale a été servie aux animaux deux fois par jour durant cette période, en guise d'acclimatation aux installations d'alimentation. Au moment de commencer l'expérimentation proprement dite, les brebis consommaient la totalité de leur ration dans un délai suffisamment rapide pour éviter le vol de concentré entre elles. Les fourrages étaient servis à volonté pour tous les animaux et leur renouvellement dans les mangeoires était fait après avoir servis les concentrés, matin et soir.

### ***Traitement expérimental***

Suite aux résultats de l'expérience préliminaire, les brebis ont reçu quotidiennement et simultanément 210 mg d'acide folique (acide ptéroylmonoglutamique). Deux repas d'AF étaient distribués en « top dressing » sur 250 g/brebis/repas de moulée commerciale (16% PB) à la moitié des animaux (traitement avec AF) alors que les autres ne recevaient que la moulée commerciale (traitement témoin). La supplémentation en AF a débuté au jour -21, le jour 0 correspondant à la mise aux béliers. Le dernier repas d'AF a été servi au jour 32 post-saillie au site A et au jour 30 post-saillie au site C.

### ***Accouplements***

L'oestrus des brebis a été synchronisé avec des éponges vaginales imprégnées de 60 mg d'acétate de médroxyprogestrone (Veramix, Upjohn, Orangeville, Ontario, Canada) insérées pour 14 jours. Au retrait de l'éponge, 500 UI de PMSG (Folligon, Intervet, Whitby, Ontario, Canada) ont été administrées par injection intramusculaire afin de stimuler le développement folliculaire. Quarante-huit heures plus tard, les béliers ont été introduits dans les parquets (un bélier pour 10 brebis) pendant sept jours puis retirés pour sept jours pour ensuite être réintroduits pour une autre période de sept jours de façon à couvrir le retour en chaleur des brebis non gestantes. Les béliers étaient équipés de harnais marqueurs, ce qui a permis de noter la date de saillie exacte de chacune des femelles. Des laparoscopies ont été réalisées sur les brebis des deux sites autour du jour 7 post-saillie afin de dénombrer les corps jaunes, ceci correspondant au nombre d'ovulations. Autour du jour 60, la gestation a été confirmée par échographie.

### *Paramètres sanguins*

Afin de mesurer les FP, des échantillons sanguins ont été récoltés sur toutes les brebis à l'aide de tubes Vacutainer® EDTA pour le plasma aux jours -21, 0, 10, 16, 32, 60 et 90 au site A. Au site C, les prélèvements ont eu lieu aux jours -21, 0, 6, 12, 20 et 30. Au jour 0, au site A (sur 39 brebis) et au site C (sur 40 brebis), des prélèvements sanguins supplémentaires ont été réalisés quatre heures suivant le repas du matin, de même que huit heures suivant le repas du matin, de façon à suivre l'évolution postprandiale des FP. Immédiatement après les prélèvements, les échantillons ont été centrifugés à 2500 tours/min pendant 12 minutes. Le plasma a ensuite été transféré dans des microtubes en polypropylène puis congelé à -20 °C jusqu'aux analyses.

Au site A, les folates totaux et l'hématocrite de toutes les brebis ont été mesurés aux mêmes jours que les FP pour calculer la concentration en folates érythrocytaires (FÉ). Le sang a été prélevé à l'aide de tubes Vacutainer® EDTA dont 0,5 ml était ensuite transféré dans des microtubes et mélangé à 0,5 ml d'une solution d'acide ascorbique (0,4 g d'acide ascorbique dans 100 ml d'eau distillée, conservé au réfrigérateur). Le mélange a ensuite été congelé à -20 °C jusqu'aux analyses.

Au site A, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur 39 brebis aux jours -10, -7, -3, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 et 18 afin de suivre le cycle oestral des femelles par les mesures de la concentration sanguine de progestérone. Le sang a été prélevé à l'aide d'un tube Vacutainer® sans anti-coagulant. Après avoir été laissés à la température ambiante pour une période maximale de deux heures afin de permettre la coagulation, les échantillons ont été centrifugés à 2500 tours/min pendant 20 minutes. Le sérum a ensuite été transféré dans des microtubes puis congelé à -20 °C.

Sur les deux sites, un échantillon de plasma a été conservé au jour -21 pour mesurer la concentration en vitamine B<sub>12</sub> en début d'expérimentation chez tous les sujets à l'étude.

### ***Performances de production***

Le poids et l'état de chair des brebis ont été notés aux jours -21 et 0 au site A et au jour -21 au site C. Le nombre d'agneaux nés par agnelage par brebis mises à l'accouplement, le nombre d'agneaux nés par agnelage par brebis gestantes à la saillie synchronisée (prolificité), le nombre d'agneaux sevrés par agnelage par brebis, le poids des agneaux à la naissance et au sevrage ainsi que le poids total de la portée à la naissance ont été notés. Le nombre de fœtus perdus a été calculé en soustrayant du nombre de corps jaunes (taux d'ovulation) le nombre d'agneaux nés chez la même brebis. La mortalité embryonnaire a été calculée comme suit :  $(1 - (\text{nombre d'agneaux nés} / \text{nombre de corps jaunes})) \times 100$ .

### ***3.2.3. Expérience 2 – contre-saison sexuelle***

#### ***Animaux***

L'expérience a été répétée dans trois sites expérimentaux, dont deux étaient les mêmes bergeries commerciales que pour l'expérience 1 (sites A et C). Les brebis ont été réparties trois semaines avant la date prévue des saillies entre mai et juin.

Au site A, 80 brebis DP ont été séparées de façon à obtenir deux groupes uniformes pour l'état de chair et le poids moyens ainsi que pour la prolificité moyenne à vie. Deux sous-groupes ont ensuite été formés tel que décrit dans l'expérience 1, avec un décalage de 22 jours dans la mise à l'accouplement entre les deux sous-groupes.

Au site B, 56 brebis  $\frac{1}{2}$ Romanov ( $\frac{1}{2}$ RV) ont été réparties en deux groupes uniformes pour l'état de chair et le poids moyens ainsi que pour la composition génétique. Deux sous-groupes ont ensuite été formés tel que décrit dans l'expérience 1, avec un décalage de neuf jours entre les deux sous-groupes. Parmi ces brebis, 21 étaient  $\frac{1}{2}$ RV $\frac{1}{2}$ Dorset, 25 étaient  $\frac{1}{2}$ RV $\frac{1}{2}$ Texel et 10 étaient  $\frac{1}{2}$ RV $\frac{1}{2}$ Suffolk. Au site B, une brebis  $\frac{1}{2}$ RV $\frac{1}{2}$ Texel ne recevant pas de supplémentation en AF a été éliminée en cours d'expérimentation pour cause de maladie.

Au site C, 78 brebis DP ont été réparties en deux groupes uniformes pour l'état de chair et le poids moyens ainsi que pour la prolificité moyenne à vie, chacun étant associé à un traitement en AF (huit parquets au total). Tous les animaux ont été soumis aux manipulations simultanément.

### ***Logement et alimentation***

Aux sites A et C, les animaux ont été logés en parquet de 10. Au site B, toutes les brebis recevant le même traitement ont été logées dans un seul parquet.

### ***Traitement expérimental***

La même dose d'AF que pour l'expérience 1 a été choisie pour ce deuxième essai soit 210 mg/jour. Par contre, au cours de cette deuxième série d'expérimentation, l'AF a été incorporé directement dans les concentrés à une meunerie desservant la région géographique de chaque site, selon la même recette. Les concentrés (16% PB), supplémentés ou non en AF, ont été servis individuellement tel que dans l'expérience 1. Ce dispositif fait en sorte que l'unité expérimentale est la brebis. Le protocole d'alimentation et les quantités d'aliments et d'AF offertes étaient identiques à celles de l'expérience 1.

### ***Accouplements***

Les procédures relatives à l'accouplement étaient similaires à celles de l'expérience 1. La dose de PMSG (Folligon, Intervet, Whitby, Ontario, Canada) administrée au retrait de l'éponge vaginale était de 600 UI sur tous les sites. Aux sites A et B, les béliers ont été introduits dans les parquets pour cinq jours puis réintroduits 10 jours plus tard pour une période d'accouplement de 20 jours. Au site C, ils ont été introduits dans le groupe 1 pour huit jours puis réintroduits quatre jours plus tard pour 28 jours alors que pour le groupe 2, ce fut pour 40 jours consécutifs. Des laparoscopies ont été réalisées au site C autour du jour 7 post-saillie afin d'évaluer le taux d'ovulation. Autour du jour 60, la gestation a été confirmée par échographie sur tous les sites.

### ***Paramètres sanguins***

Aux sites A (40 brebis) et B (27 brebis), des échantillons sanguins ont été récoltés aux jours -21, 0, 12 et 30 afin de doser les FP. Au site C, les FP ont été dosés aux jours -21, 0, 6, 12,

20, 29, 60 et 90 sur 40 brebis. Au jour 0, des prélèvements sanguins supplémentaires ont été réalisés quatre heures suivant le repas du matin sur les trois sites pour mesurer les FP. Au jour -21, un échantillon de plasma a aussi été conservé pour mesurer la concentration en vitamine B<sub>12</sub> en début d'expérimentation chez tous les sujets à l'étude. Les échantillons de sang ont été traités de la même façon que celle décrite dans l'expérience 1.

### ***Performances de production***

Le poids et l'état de chair des brebis ont été notés aux jours -21 et 0. Les mêmes paramètres de production que ceux mesurés dans l'expérience 1 ont été mesurés dans la présente expérience.

#### ***3.2.4. Dosages et analyses***

Les procédures visant la détermination des concentrations en FP (Girard et *al.*, 1996), en FÉ (Lévesque et *al.*, 1993) et en vitamine B<sub>12</sub> (Girard et Matte, 1988) ont précédemment été décrites. Les concentrations en FÉ et FP, de même que les concentrations en vitamine B<sub>12</sub> ont été mesurées en duplicata par dosage radioisotopique avec des trousse de dosage commerciales pour le sérum humain (Quantaphase Folate and Quantaphase B<sub>12</sub>, Bio-Rad Laboratories Ltd, Mississauga, Ontario, Canada) et validée pour le sérum ovin (Girard et *al.*, 1999). Les coefficients de variation inter-essais étaient de 3,0% ( $n = 1246$ ), 3,6% ( $n = 426$ ) et 2,8% ( $n = 137$ ) pour les FP, les FÉ et la vitamine B<sub>12</sub> respectivement. L'hématocrite a été mesuré par microcentrifugation en duplicata sur du sang frais. La concentration en progestérone a été mesurée en duplicata sur des échantillons de plasma à l'aide d'une trousse commerciale de dosage (Active Progesterone DSL-3900, Diagnostic Systems Laboratories Inc., Texas, USA). Le coefficient de variation inter-essais était de 4,0% ( $n = 230$ ).

#### ***3.2.5. Analyses statistiques***

Les différentes variables sanguines ont été analysées à l'aide de la procédure MIXED de SAS (1999-2001). Toutes les variables sanguines étaient répétées dans le temps et analysées comme tel à l'exception des concentrations en vitamine B<sub>12</sub>. Les paramètres

zootechniques de type catégorique (taux d'ovulation, nombre d'agneaux nés et sevrés, nombre de fœtus perdus) ont été analysés à l'aide de la procédure LOGISTIC. Les autres variables de production (état de chair, poids, prolificité moyenne à vie, taux de gestation, longueur de gestation, mortalité embryonnaire, gain moyen quotidien) ont été analysées avec la procédure MIXED. Les variables dépendantes ont été étudiées selon les facteurs suivants : le traitement d'AF, le génotype (si applicable selon le site et la saison), le jour de prélèvement (pour les paramètres sanguins) et la saison de reproduction (saison ou contre-saison sexuelle pour les sites A et B).

Puisqu'aucun effet du traitement d'AF n'a été observé sur le taux de gestation après la saillie synchronisée, seules les données des brebis gestantes après la saillie synchronisée et ayant agnelé ont été utilisées pour les analyses décrites sur tous les sites. Les brebis ainsi retenues ont donc reçu le même traitement en AF, celui-ci débutant 21 jours avant la saillie fécondante et se terminant 30 jours après la saillie fécondante alors que les brebis gestantes après la saillie au retour de chaleur ont reçu un traitement en AF de 35 jours pré-saillie et de 16 jours post-saillie.

Chaque site a été analysé individuellement puisque des interactions significatives complexes impliquant le facteur « site » ont été notées lorsque les jours de prélèvement communs à tous les sites étaient comparés (jours -21, 0, 12 et 30). Bien que cette approche diminue la force du modèle, elle permet une analyse de l'effet de facteurs propres à chaque site, tels que le génotype. Afin de permettre la comparaison entre les sites, les prélèvements effectués aux jours 10 et 32 suivant la saillie au site A en saison sexuelle ont été considérés comme étant des jours 12 et 30 respectivement. Au site C, les prélèvements effectués au jour 29 post-saillie ont été considérés comme étant du jour 30.

Pour les analyses portant sur le facteur *saison de reproduction*, seuls les jours de prélèvement communs aux protocoles des deux saisons ont été comparés (site A : jours -21, 0, 12 et 30 ; site B : jours -21, 0, 6, 12, 20 et 30). Les données pour l'analyse de l'effet de la saison de reproduction étaient disponibles pour les sites A et C et elles ont été analysées par site pour la raison évoquée précédemment. Afin de permettre la comparaison

entre les saisons de reproduction, les prélèvements effectués aux jours 10 et 32 suivant la saillie au site A en saison sexuelle ont été considérés comme étant des jours 12 et 30 respectivement. Au site C, en contre-saison sexuelle, les prélèvements effectués au jour 29 post-saillie ont été considérés comme étant du jour 30.

### **3.3. Résultats**

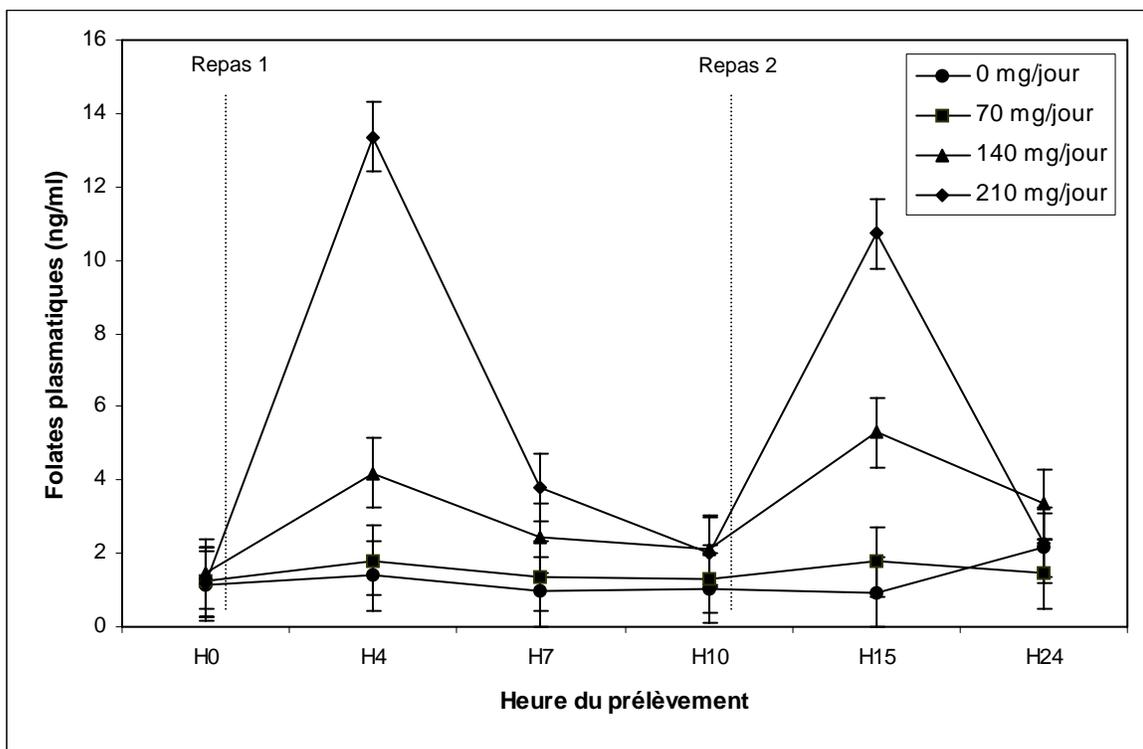
#### ***3.3.1. Expérience préliminaire***

L'évolution dans le temps des FP (Figure 3-1) a différé selon le traitement en AF (traitement\*heure ;  $P < 0,001$ ) alors que la dose de 210 mg d'AF/brebis/jour a entraîné une hausse de la concentration moyenne en FP supérieure aux autres doses administrées (0 mg/jour =  $1,26 \pm 0,44$  ng/ml vs 70 mg/jour =  $1,49 \pm 0,44$  ng/ml vs 140 mg/jour =  $3,13 \pm 0,44$  ng/ml vs 210 mg/jour =  $5,57 \pm 0,44$  ng/ml ;  $P < 0,001$ ). L'augmentation de la dose d'AF administrée entraîne une augmentation dans le temps des FP ( $P < 0,001$ ). Toutefois, cette augmentation des FP selon la dose d'AF administrée n'est pas constante alors qu'elle est plus importante pour les doses supérieures ( $P < 0,05$ ).

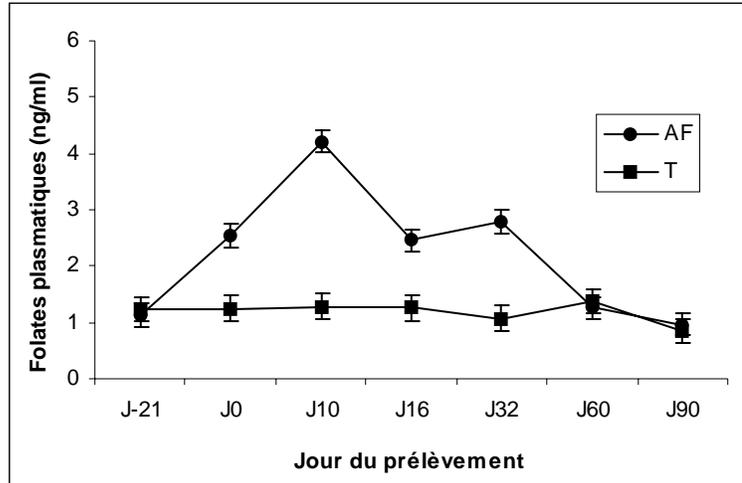
#### ***3.3.2. Folates plasmatiques***

Dans une analyse globale, l'évolution dans le temps des FP en fonction de la saison de reproduction a différé selon le site (site\*saison\*jour ;  $P < 0,01$ ) de même que l'évolution dans le temps des FP selon le traitement (site\*traitement\*jour ;  $P < 0,001$ ). La réponse au traitement en AF selon la saison a varié également selon le site (site\*saison\*traitement ;  $P < 0,01$ ). Pour ces raisons, les analyses subséquentes ont été réalisées pour chacun des sites individuellement.

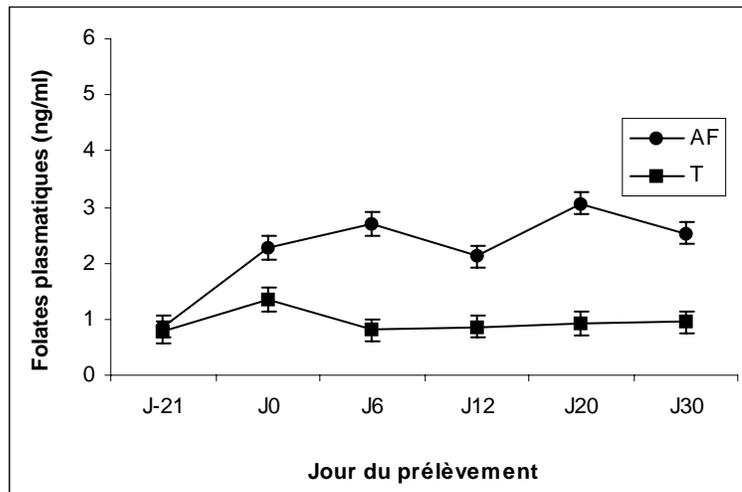
L'évolution dans le temps des concentrations en FP a différé entre les deux traitements sur tous les sites (Figures 3-2 et 3-3), peu importe la saison (traitement\*jour ;  $P < 0,001$ ), alors que les brebis supplémentées en AF présentaient, au cours de la période de supplémentation, des concentrations supérieures à celles des brebis témoin. Sur tous les sites, la concentration en FP 4 heures après le repas (Figures 3-4 et 3-5) des brebis recevant le supplément d'acide folique était plus élevée que la concentration mesurée une heure



**Figure 3-1** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes supplémentées à différentes doses d'acide folique et mesurées avant le premier repas (H0), 4 heures (H4), 7 heures (H7) et 10 heures (H10) suivant le premier repas ainsi que 4 heures (H15) et 13 heures (H24) suivant le deuxième repas (n=16).

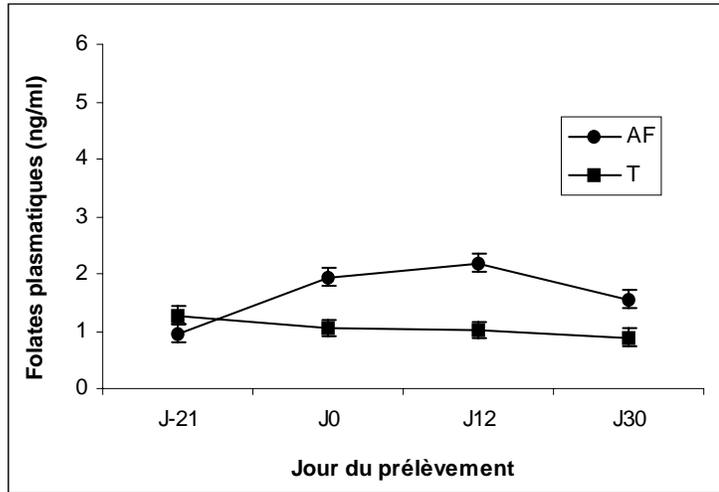


a) Site A (n=78)

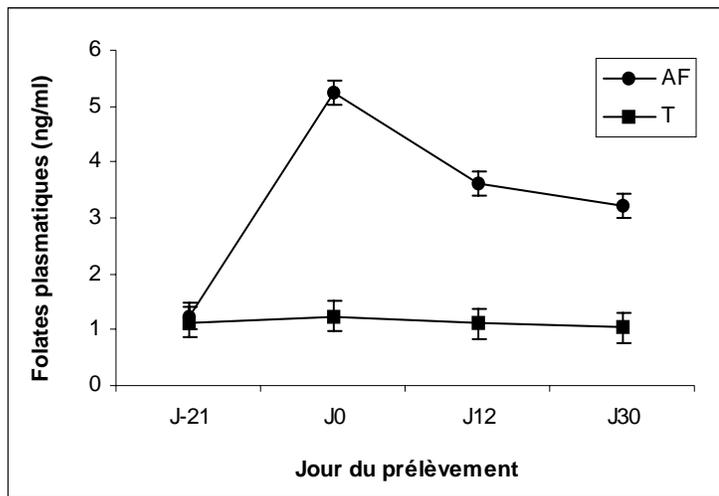


b) Site C (n=80)

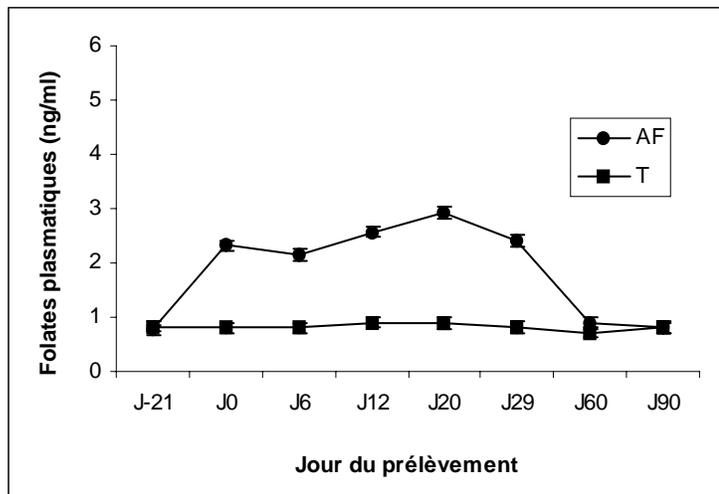
**Figure 3-2** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) des brebis gestantes supplémentées avec 210 mg/jour d'acide folique (AF) ou non (T) en saison sexuelle selon le site d'expérimentation. J-21=début de la supplémentation, J0=mise aux béliers, J30 ou J32=fin de la supplémentation.



a) Site A (n=40)

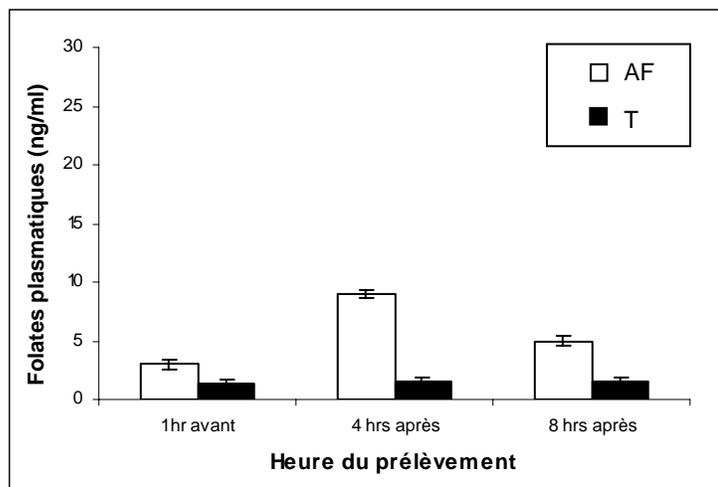


b) Site B (n=27)

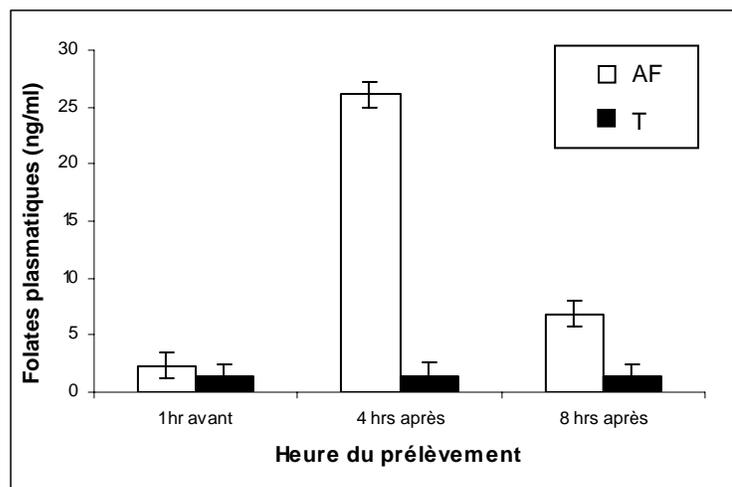


c) Site C (n=40)

**Figure 3-3** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes supplémentées avec 210 mg/jour d'acide folique (AF) ou non (T) en contre-saison sexuelle selon le site d'expérimentation. J-21=début de la supplémentation, J0=mise aux béliers, J30=fin de la supplémentation.

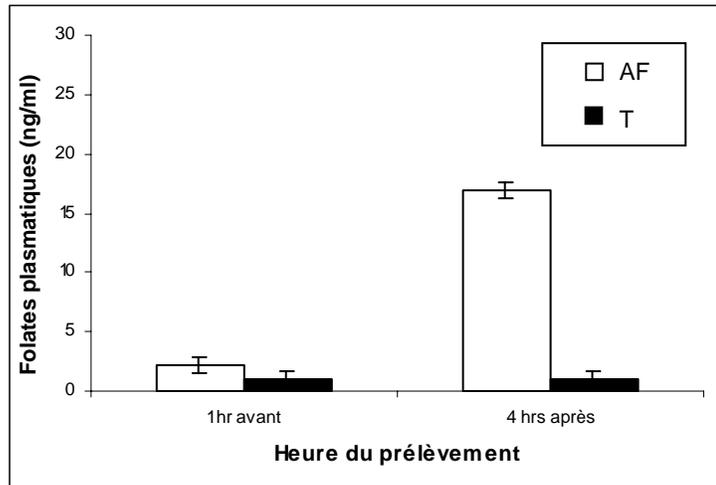


a) Site A (n=39)

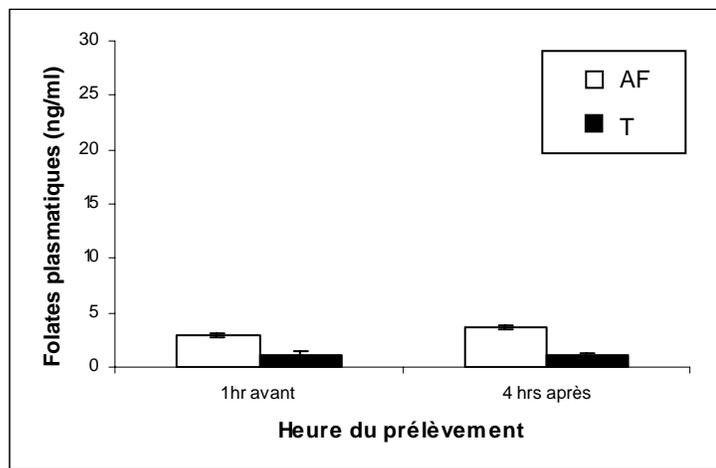


b) Site C (n=40)

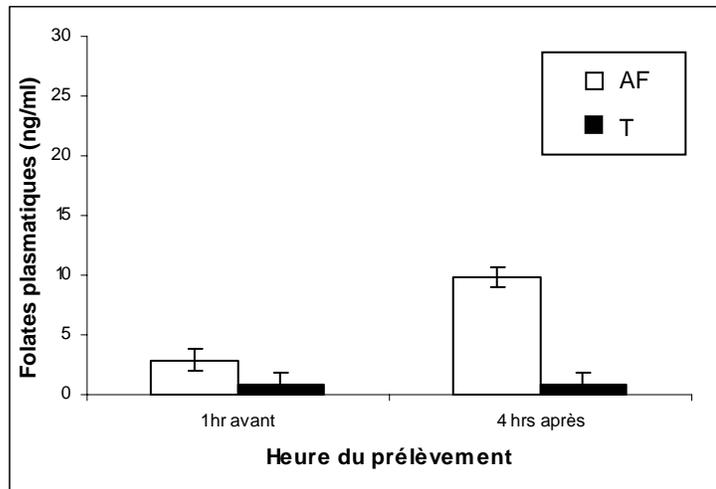
**Figure 3-4** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes supplémentées avec 210 mg/jour d'acide folique (AF) ou non (T) en saison sexuelle selon le site d'expérimentation et mesurées 1 heure avant, 4 heures après et 8 heures après la supplémentation.



a) Site A (n=40)



b) Site B (n=27)



c) Site C (n=40)

**Figure 3-5** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) des brebis gestantes supplémentées avec 210 mg/jour d'acide folique (AF) ou non (T) en contre-saison sexuelle selon le site d'expérimentation et mesurées 1 heure avant et 4 heures après la supplémentation.

avant le repas (traitement\*heure ;  $P < 0,001$ ) alors que, chez les témoins, il n'y avait pas de différences entre les concentrations pré- et post-prandiales.

Au site A, les concentrations en FP n'ont pas différé entre les génotypes DP et FLDP en saison sexuelle (Figure 3-6). L'effet du traitement a également différé selon la saison (traitement\*saison ;  $P < 0,001$ ); l'augmentation des folates plasmatiques suite à l'ingestion des suppléments d'acide folique a été plus marquée en saison sexuelle qu'en contre-saison.

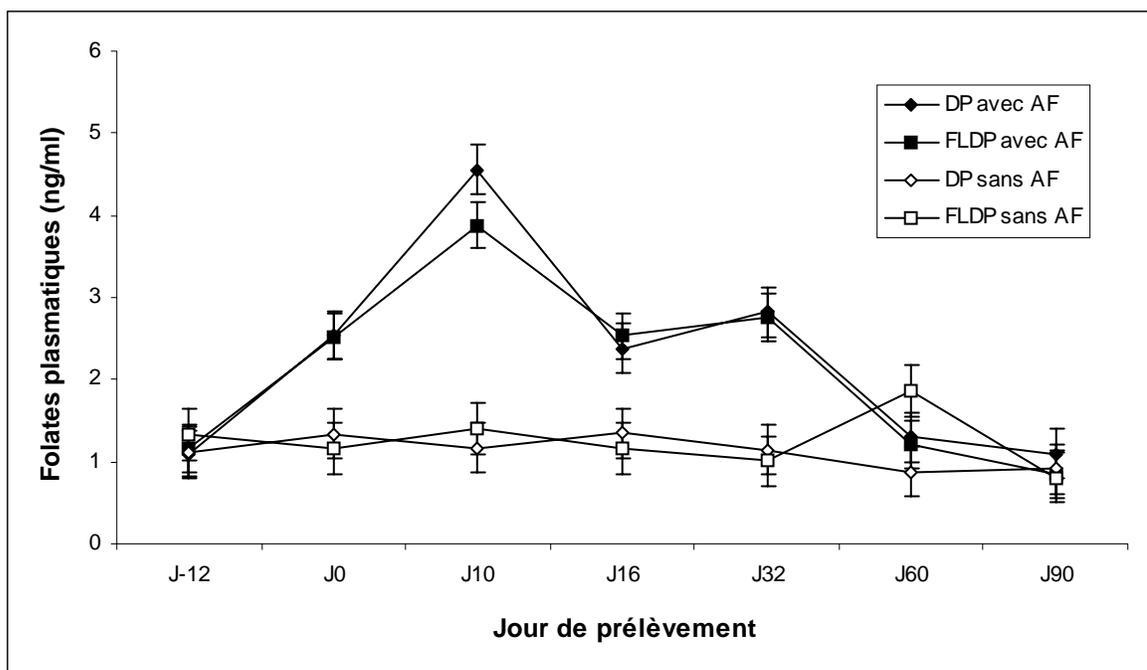
Au site C, la réponse dans le temps des concentrations en FP (Figure 3-7) a différé entre les deux saisons (traitement\*saison\*jour ;  $P < 0,05$ ). Les concentrations en FP avant le début des traitements différaient selon la saison et le groupe qui était soumis à l'un ou l'autre des traitements en AF ( $0,828 \pm 0,021$  ng/ml en saison avec supplémentation vs  $0,861 \pm 0,028$  ng/ml en contre-saison avec supplémentation vs  $0,801 \pm 0,021$  ng/ml en saison sans supplémentation vs  $0,770 \pm 0,028$  ng/ml en contre-saison sans supplémentation ;  $P < 0,05$ ).

### **3.3.3. Folates érythrocytaires**

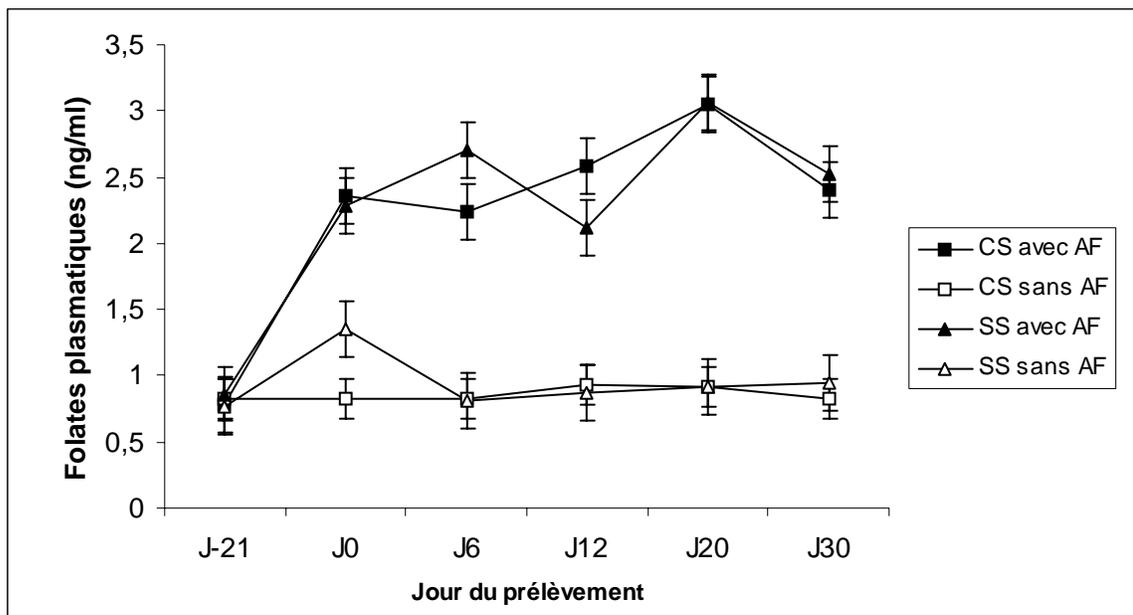
Au site A en saison sexuelle, les concentrations en FÉ (Figure 3-8) ont varié selon le jour de prélèvement ( $P < 0,001$ ), le génotype de la brebis (FLDP =  $3,72 \pm 0,16$  ; DP =  $4,19 \pm 0,17$  ;  $P < 0,05$ ) et le traitement (Sans AF =  $3,70 \pm 0,16$  ; Avec AF =  $4,21 \pm 0,16$  ;  $P < 0,05$ ).

### **3.3.4. Progestérone**

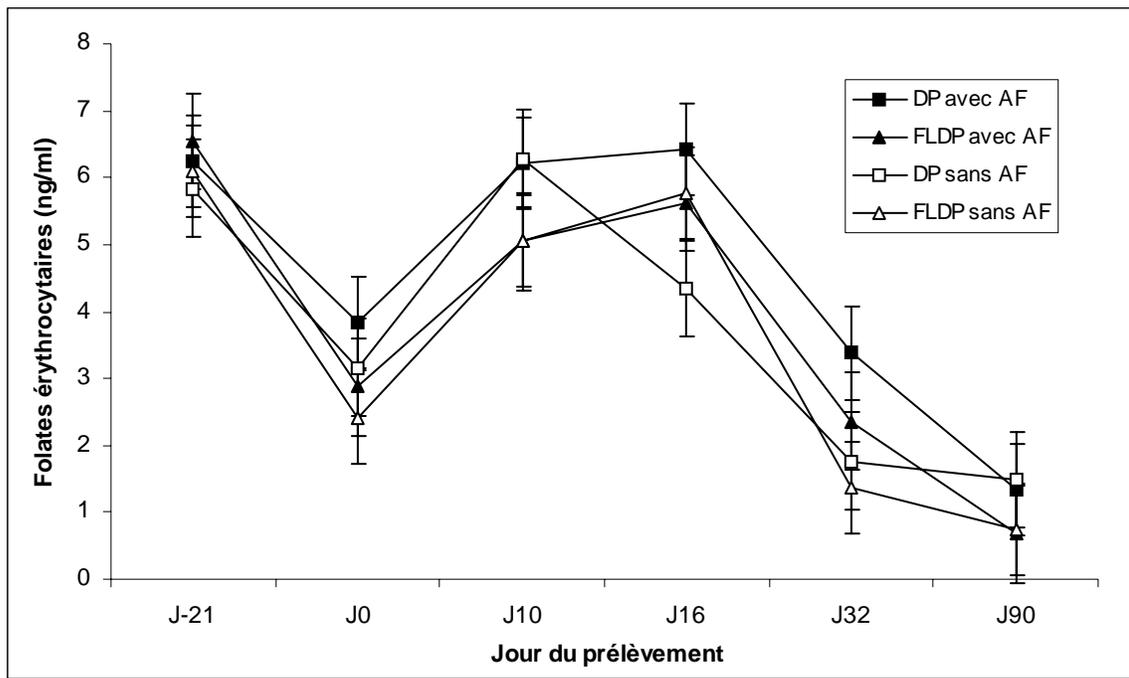
En saison sexuelle, au site A, chez les brebis gestantes de l'oestrus synchronisé, l'évolution dans le temps des concentrations sanguines en progestérone (Figure 3-9) a différé selon la combinaison des deux traitements et des deux génotypes (traitement\*génotype\*jour ;  $P < 0,001$ ). La concentration en progestérone plasmatique mesurée au jour 6 de la gestation était supérieure à celles mesurées aux jours 8 ( $P < 0,001$ ), 10 ( $P < 0,001$ ) et 12 ( $P = 0,001$ ) qui étaient équivalentes entre elles. La concentration mesurée au jour suivant, soit le 14<sup>e</sup> jour de gestation, était supérieure aux concentrations mesurées aux jours 0 à 12 ( $P < 0,001$ ). La concentration moyenne en progestérone plasmatique entre les jours 0 et 14 de la gestation était lié au taux d'ovulation (1 ovulation =  $1,31 \pm 0,60$  ng/ml ; 2 ovulations =  $1,52 \pm 0,47$  ng/ml ; 3 ovulations et plus =  $2,04 \pm 0,44$  ng/ml ;  $P < 0,05$ ) et au nombre



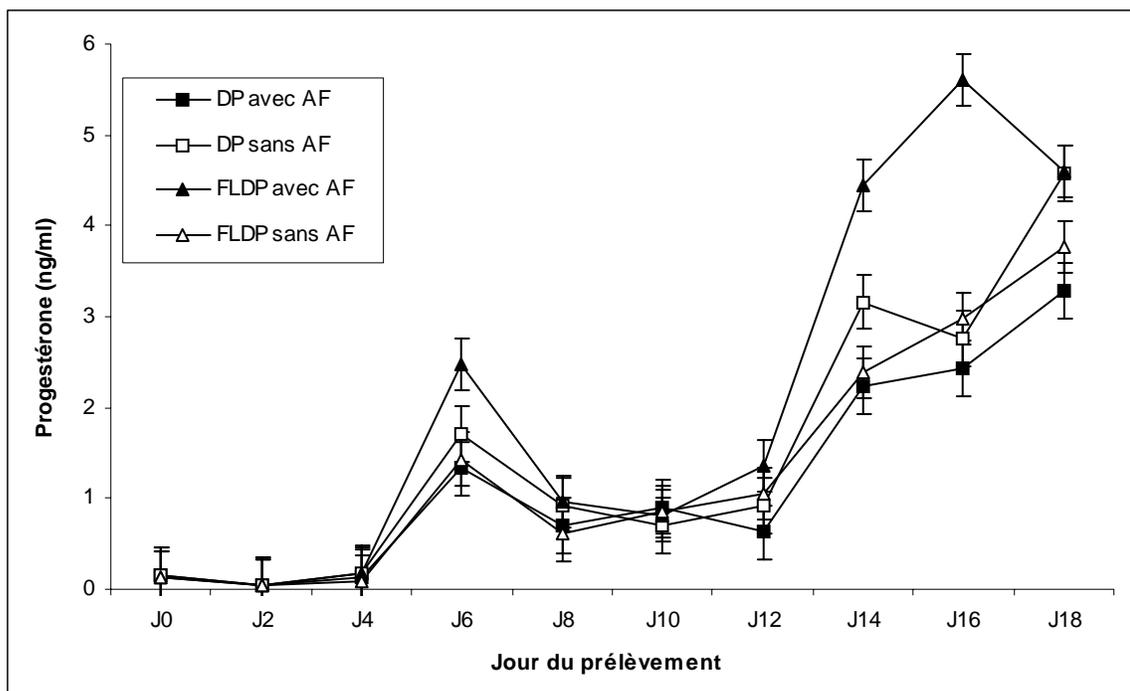
**Figure 3-6** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes en fonction du jour de prélèvement, du génotype et du traitement en acide folique au site A en saison sexuelle. J-21=début de la supplémentation, J0=mise aux béliers, J30=fin de la supplémentation (n=78).



**Figure 3-7** Concentrations en folates plasmatiques ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes en fonction du jour de prélèvement, de la saison de reproduction (CS = contre-saison sexuelle ; SS = saison sexuelle) et du traitement en acide folique au site C. J-21=début de la supplémentation, J0= mise aux béliers, J30=fin de la supplémentation (n=160).



**Figure 3-8** Concentrations en folates érythrocytaires ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes en fonction du jour de prélèvement, du génotype et du traitement en acide folique au site A en saison sexuelle. J-21=début de la supplémentation, J0=mise aux béliers, J30=fin de la supplémentation (n=80).



**Figure 3-9** Concentrations en progestérone plasmatique ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes en fonction du traitement en acide folique, du génotype (DP = Dorset ; FLDP = 1/2Finnois1/2Dorset) et du jour de prélèvement au site A en saison sexuelle. J-21=début de la supplémentation, J0=mise aux béliers, J30=fin de la supplémentation (n=39).

d'agneaux nés (1 agneau =  $1,29 \pm 0,48$  ng/ml ; 2 agneaux et plus =  $1,71 \pm 0,49$  ng/ml ;  $P < 0,05$ ).

### **3.3.5. Vitamine B<sub>12</sub>**

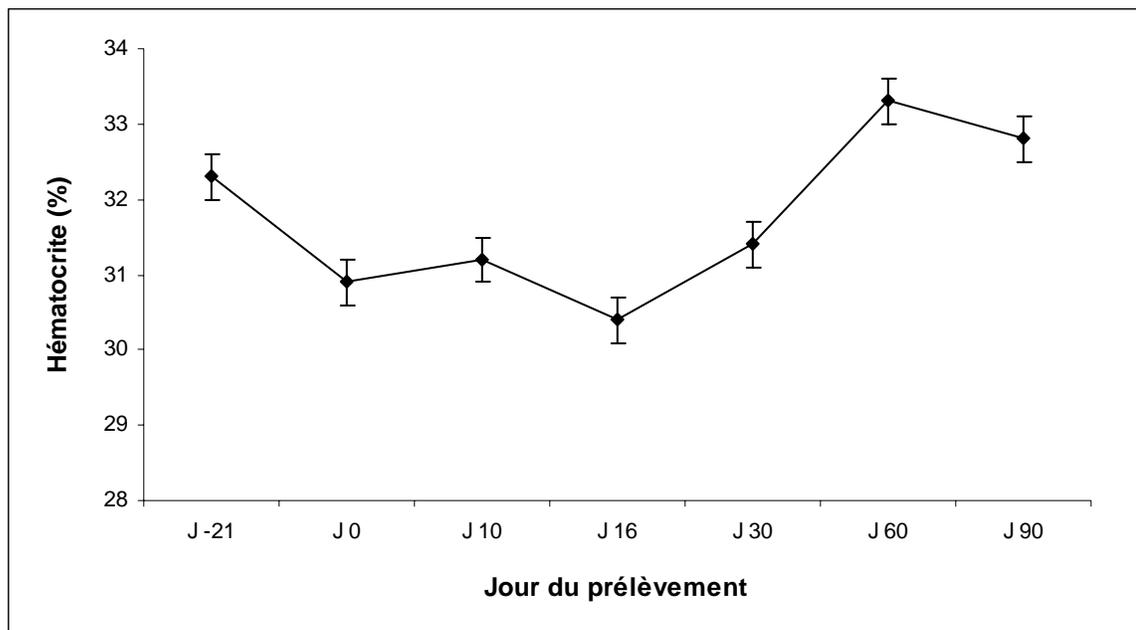
Au site A, en saison sexuelle, la concentration sanguine en vitamine B<sub>12</sub>, 21 jours avant la saillie, soit avant le premier repas expérimental, tend à différer selon les groupes (traitement ultérieur\*génotype) ( $1638 \pm 165$  pg/ml pour les DP et  $2003 \pm 155$  pg/ml pour les FLDP qui seront supplémentées vs  $1876 \pm 165$  pg/ml pour les DP et  $1623 \pm 170$  pg/ml pour les FLDP qui ne seront pas supplémentées ;  $P = 0,0642$ ). Toutefois, en contre-saison sexuelle, de même qu'au site C lors des deux saisons, aucune différence entre les groupes associés à l'un ou l'autre des traitements n'a été observée dans les concentrations en vitamine B<sub>12</sub>, 21 jours avant la saillie ( $2959 \pm 205$  pg/ml avec AF et  $3008 \pm 188$  pg/ml sans AF au site A en contre-saison sexuelle ;  $1978 \pm 318$  pg/ml avec AF et  $2649 \pm 390$  pg/ml sans AF au site B en contre-saison sexuelle ;  $3266 \pm 205$  pg/ml avec AF et  $3068 \pm 205$  pg/ml sans AF au site C en saison sexuelle ;  $4207 \pm 191$  pg/ml avec AF et  $3956 \pm 204$  pg/ml sans AF au site C en contre-saison sexuelle). Au site B, en contre-saison sexuelle, la concentration en vitamine B<sub>12</sub>, trois semaines précédant la saillie, était inférieure ( $P < 0,05$ ) chez les brebis  $\frac{1}{2}$ Romanov $\frac{1}{2}$ Dorset ( $1618 \pm 390$  pg/ml comparativement aux brebis  $\frac{1}{2}$ Romanov $\frac{1}{2}$ Texel ( $3009 \pm 318$  pg/ml). Sur les deux sites où le protocole a été répété en saison et en contre-saison sexuelle, la saison a influencé la concentration en vitamine B<sub>12</sub>, 21 jours avant la saillie, alors qu'elle était supérieure ( $P < 0,001$ ) en contre-saison par rapport à la concentration obtenue en saison sexuelle (site A :  $2984 \pm 124$  pg/ml vs  $1792 \pm 88$  pg/ml; site C :  $4081 \pm 153$  pg/ml vs  $3167 \pm 136$  pg/ml).

### **3.3.6. Hématocrite**

Au site A, en saison sexuelle, la valeur de l'hématocrite (Figure 3-10) a varié selon le jour de prélèvement ( $P < 0,001$ ).

### **3.3.7. Performances de production**

Sur tous les sites, le traitement d'AF n'a eu aucun effet sur le taux de fertilité à la saillie synchronisée, mesuré à l'agnelage (Tableaux 3-1 à 3-5). Seul le génotype de la femelle au



**Figure 3-10** Valeurs d'hématocrite ( $\pm$  erreur standard) de brebis gestantes en fonction du jour du prélèvement au site A en saison sexuelle. J-21=début de la supplémentation, J0=mise aux béliers, J30=fin de la supplémentation (n=80).

**Tableau 3-1. Performances de production de brebis Dorset (DP) et 1/2Finnois1/2Dorset (FLDP) supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en saison sexuelle au site A**

Paramètres	Génotype				Statistiques	
	DP		FLDP		Effet	P
	Témoin	AF	Témoin	AF		
Nb brebis de départ	19	19	19	20		-
État de chair 30 j avant l'accouplement	2,8 ± 0,4	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,3 ± 0,3	génotype	<0,001
Poids 30 j avant l'accouplement (kg)	60,7 ± 7,9	61,7 ± 9,2	65,1 ± 9,5	62,0 ± 6,8		NS
Prolificité moyenne à vie	1,27 ± 0,41	1,20 ± 0,37	1,77 ± 0,57	1,85 ± 0,30	génotype	<0,001
Intervalle « pose éponge-dernier agnelage » (j)	190,1 ± 10,9	207,8 ± 35,3	184,8 ± 37,3	168,8 ± 46,7	génotype	<0,05
État de chair à la mise aux béliers	2,8 ± 0,4	3,7 ± 0,3	3,3 ± 0,5	3,1 ± 0,4	génotype	<0,01
Nb brebis saillies sur la chaleur synchronisée	16 (84%)	16 (84%)	15 (79%)	18 (90%)		NS
Taux d'ovulation à la chaleur synchronisée	1,8 ± 0,6	1,6 ± 0,5	1,9 ± 0,5	2,3 ± 0,6	génotype*trait	<0,05
Brebis gestantes à l'échographie (%)	100,0	100,0	84,2	95,0		NS
Brebis agnelées de la saillie à la chaleur synchronisée (%)	84,2	84,2	78,9	90,0		NS
Brebis agnelées (%)	94,7	100,0	84,2	95,0		NS
Longueur de la gestation (j)	145,8 ± 2,2	145,3 ± 3,5	145,8 ± 1,3	145,0 ± 4,9		NS
Prolificité <sup>z</sup>	1,44 ± 0,51	1,50 ± 0,52	1,80 ± 0,56	1,78 ± 0,55	génotype	<0,1
Mortalité embryonnaire <sup>z</sup> (%)	14,6 ± 22,7	6,3 ± 17,1	12,2 ± 21,3	20,4 ± 27,2		NS
Poids agneaux naissance <sup>z</sup> (kg)	5,2 ± 0,7	5,0 ± 0,7	4,9 ± 0,9	4,8 ± 1,3		NS
Poids portée naissance <sup>z</sup> (kg)	7,3 ± 2,3	7,2 ± 2,1	8,5 ± 1,9	7,9 ± 1,3	génotype	<0,05
Nb d'agneaux sevrés/agnelage <sup>z</sup>	1,4 ± 0,5	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,5	1,7 ± 0,5	génotype	<0,1
Poids agneaux sevrage <sup>z</sup> (kg)	24,2 ± 3,7	23,4 ± 3,4	24,5 ± 2,9	23,6 ± 4,2		NS
Âge sevrage <sup>z</sup> (j)	54,1 ± 4,7	53,9 ± 3,7	54,7 ± 3,3	54,0 ± 2,7		NS
GMQ naissance-sevrage* (g/j)	351 ± 51	344 ± 55	359 ± 39	348 ± 62		NS

<sup>z</sup> Paramètre calculé pour les brebis fécondées à la saillie synchronisée

**Tableau 3-2. Performances reproductives de brebis Dorset supplémentées (AF) ou non (Témoïn) à l'acide folique en saison sexuelle au site C**

Paramètres	Traitement		Statistiques	
	Témoïn	AF	Effet	P
Nb brebis de départ	40	40		-
État de chair 30 j avant l'accouplement	2,5 ± 0,6	2,5 ± 0,4		NS
Poids 30 j avant l'accouplement (kg)	68,9 ± 12,0	68,5 ± 10,5		NS
Prolificité moyenne à vie	1,34 ± 0,38	1,36 ± 0,35		NS
Intervalle « pose éponge-dernier agnelage » (j)	114,4 ± 32,7	110,1 ± 29,5		NS
État de chair à la mise aux béliers	2,8 ± 0,5	2,7 ± 0,4		NS
Nb brebis saillies sur la chaleur synchronisée	33 (83%)	35 (88%)		NS
Taux d'ovulation à la chaleur synchronisée	2,2 ± 0,7	2,3 ± 0,7		NS
Brebis gestantes à l'échographie (%)	100,0	95,0		NS
Brebis agnelées de la saillie à la chaleur synchronisée (%)	89,2	89,7		NS
Brebis agnelées (%)	94,9	95,0		NS
Longueur de la gestation (j)	147,7 ± 2,0	148,1 ± 1,8		NS
Prolificité <sup>z</sup>	1,88 ± 0,65	1,83 ± 0,62		NS
Mortalité embryonnaire <sup>z</sup> (%)	14,9 ± 21,8	19,3 ± 24,0		NS
Poids agneaux naissance <sup>z</sup> (kg)	5,4 ± 1,2	5,7 ± 1,1		NS
Poids portée naissance <sup>z</sup> (kg)	9,6 ± 2,2	9,9 ± 2,3		NS
Nb d'agneaux sevrés/agnelage <sup>z</sup>	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,6		NS
Poids agneaux sevrage <sup>z</sup> (kg)	21,7 ± 4,8	22,3 ± 5,2		NS
Âge sevrage <sup>z</sup> (j)	52,7 ± 1,9	52,6 ± 1,7		NS
GMQ naissance-sevrage <sup>z</sup> (g/j)	308 ± 79	317 ± 86		NS

<sup>z</sup> Paramètre calculé pour les brebis fécondées à la saillie synchronisée

**Tableau 3-3. Performances reproductives de brebis Dorset supplémentées (AF) ou non (Témoïn) à l'acide folique en contre-saison sexuelle au site A**

Paramètres	Traitement		Statistiques	
	Témoïn	AF	Effet	P
Nb brebis de départ	40	40		-
État de chair 30 j avant l'accouplement	2,8 ± 0,3	2,8 ± 0,4		NS
Poids 30 j avant l'accouplement (kg)	66,6 ± 6,2	66,8 ± 8,3		NS
Prolificité moyenne à vie	1,51 ± 0,52	1,54 ± 0,50		NS
Intervalle « pose éponge-dernier agnelage » (j)	190,4 ± 62,5	168,7 ± 59,4		NS
État de chair à la mise aux béliers	3,1 ± 0,4	3,3 ± 0,5	traitement	<0,1
Nb brebis saillies sur la chaleur synchronisée	37 (93%)	33 (83%)		NS
Taux d'ovulation à la chaleur synchronisée	n.d.	n.d.		NS
Brebis gestantes à l'échographie (%)	95,0	87,5		NS
Brebis agnelées de la saillie à la chaleur synchronisée (%)	92,5	82,5		NS
Brebis agnelées (%)	95,0	87,5		NS
Longueur de la gestation (j)	142,9 ± 3,7	142,4 ± 2,4		NS
Prolificité <sup>z</sup>	2,03 ± 0,90	2,21 ± 1,08		NS
Mortalité embryonnaire <sup>z</sup> (%)	n.d.	n.d.		NS
Poids agneaux naissance <sup>z</sup> (kg)	4,1 ± 1,1	3,9 ± 1,1		NS
Poids portée naissance <sup>z</sup> (kg)	7,6 ± 2,2	7,9 ± 1,8		NS
Nb d'agneaux sevrés/agnelage <sup>z</sup>	1,8 ± 0,7	1,9 ± 0,6		NS
Poids agneaux sevrage <sup>z</sup> (kg)	23,0 ± 3,2	22,1 ± 4,8		NS
Âge sevrage <sup>z</sup> (j)	61,0 ± 1,8	59,9 ± 6,0		NS
GMQ naissance-sevrage <sup>z</sup> (g/j)	310 ± 43	298 ± 55		NS

<sup>z</sup> Paramètre calculé pour les brebis fécondées à la saillie synchronisée

**Tableau 3-4. Performances reproductives de brebis croisées Romanov supplémentées (AF) ou non (Témoin) à l'acide folique en contre-saison sexuelle au site B**

Paramètres	Traitement		Statistiques	
	Témoin	AF	Effet	P
Nb brebis de départ	28	29		-
État de chair 30 j avant l'accouplement	2,5 ± 0,8	2,6 ± 0,8		NS
Poids 30 j avant l'accouplement (kg)	52,6 ± 6,7	53,8 ± 9,2		NS
Prolificité moyenne à vie	2,20 ± 0,79	2,17 ± 0,39		NS
Intervalle « pose éponge-dernier agnelage » (j)	97,7 ± 15,5	119,4 ± 69,3		NS
État de chair à la mise aux béliers	2,8 ± 0,4	3,0 ± 0,4	traitement	<0,1
Nb brebis saillies sur la chaleur synchronisée	14 (50%)	18 (62%)		NS
Taux d'ovulation à la chaleur synchronisée	n.d.	n.d.		NS
Brebis gestantes à l'échographie (%)	51,9	65,5		NS
Brebis agnelées de la saillie à la chaleur synchronisée (%)	51,9	62,1		NS
Brebis agnelées (%)	51,9	62,1		NS
Longueur de la gestation (j)	145,5 ± 2,0	144,3 ± 1,7		NS
Prolificité <sup>z</sup>	2,00 ± 0,78	2,06 ± 0,80		NS
Mortalité embryonnaire <sup>z</sup> (%)	n.d.	n.d.		NS
Poids agneaux naissance <sup>z</sup> (kg)	3,9 ± 1,1	4,1 ± 0,8		NS
Poids portée naissance <sup>z</sup> (kg)	7,5 ± 3,0	8,0 ± 2,7		NS
Nb d'agneaux sevrés/agnelage <sup>z</sup>	1,8 ± 1,0	1,6 ± 0,9		NS
Poids agneaux sevrage <sup>z</sup> (kg)	23,5 ± 6,1	24,6 ± 5,4		NS
Âge sevrage <sup>z</sup> (j)	76,7 ± 6,0	77,9 ± 5,9		NS
GMQ naissance-sevrage <sup>z</sup> (g/j)	254 ± 68	265 ± 63		NS

<sup>z</sup> Paramètre calculé pour les brebis fécondées à la saillie synchronisée

**Tableau 3-5. Performances reproductives de brebis Dorset supplémentées (AF) ou non (Témoïn) à l'acide folique en contre-saison sexuelle au site C**

Paramètres	Traitement		Statistiques	
	Témoïn	AF	Effet	P
Nb brebis de départ	39	39		-
État de chair 30 j avant l'accouplement	2,5 ± 0,6	2,6 ± 0,6		NS
Poids 30 j avant l'accouplement (kg)	77,6 ± 10,7	76,9 ± 9,9		NS
Prolificité moyenne à vie	1,60 ± 0,36	1,60 ± 0,37		NS
Intervalle « pose éponge-dernier agnelage » (j)	92,9 ± 7,8	93,4 ± 6,5		NS
État de chair à la mise aux béliers	3,7 ± 0,6	3,8 ± 0,5		NS
Nb brebis saillies sur la chaleur synchronisée	32 (82%)	28 (72%)		NS
Taux d'ovulation à la chaleur synchronisée	3,0 ± 1,6	2,6 ± 1,3		NS
Brebis gestantes à l'échographie (%)	94,9	87,2		NS
Brebis agnelées de la saillie à la chaleur synchronisée (%)	82,1	71,8		NS
Brebis agnelées (%)	89,7	84,6		NS
Longueur de la gestation (j)	147,3 ± 2,0	146,2 ± 2,2		NS
Prolificité <sup>z</sup>	2,19 ± 0,90	2,00 ± 1,02		NS
Mortalité embryonnaire <sup>z</sup> (%)	26,6 ± 25,7	19,4 ± 26,8		NS
Poids agneaux naissance <sup>z</sup> (kg)	4,5 ± 1,3	4,6 ± 1,5		NS
Poids portée naissance <sup>z</sup> (kg)	9,1 ± 2,4	8,1 ± 2,2	traitement	<0,1
Nb d'agneaux sevrés/agnelage <sup>z</sup>	1,7 ± 0,7	1,4 ± 0,7		NS
Poids agneaux sevrage <sup>z</sup> (kg)	22,9 ± 4,7	24,3 ± 4,9		NS
Âge sevrage <sup>z</sup> (j)	59,7 ± 1,9	60,8 ± 2,3		NS
GMQ naissance-sevrage <sup>z</sup> (g/j)	307 ± 71	323 ± 67		NS

<sup>z</sup> Paramètre calculé pour les brebis fécondées à la saillie synchronisée

site B a influencé le nombre total de brebis ayant agnelé ( $\frac{1}{2}RV\frac{1}{2}Suffolk = 8,3\%$  ;  $\frac{1}{2}RV\frac{1}{2}Dorset = 74,0\%$  ;  $\frac{1}{2}RV\frac{1}{2}Texel = 83,1\%$  ;  $P < 0,001$ ).

La concentration en FP au jour de la saillie n'a pas eu d'influence sur le taux d'ovulation (sites A et C en saison sexuelle et site C en contre-saison sexuelle). Au site A en saison sexuelle, le taux d'ovulation du groupe de brebis FLDP recevant le traitement d'AF était supérieur à celui des trois autres groupes à l'étude (Tableau 3-1).

Sur tous les sites, peu importe la saison, le traitement en AF n'a eu aucune influence sur les paramètres zootechniques mesurés, y compris le taux de mortalité embryonnaire. Au site C en contre-saison sexuelle, le poids de la portée des brebis recevant le traitement d'AF a toutefois eu tendance à être inférieur à celui des brebis du groupe témoin ( $8,1 \pm 2,2$  kg pour les supplémentées vs  $9,1 \pm 2,4$  kg pour les témoins ;  $P = 0,078$ ) (Tableau 3-5). La concentration en FP aux jours 10 ou 12 suivant la saillie, la concentration moyenne entre les jours 0, 12 et 30 et la valeur maximale mesurée entre les jours 0, 12 et 30 n'ont eu aucune influence sur le nombre d'agneaux nés, ainsi que sur la mortalité embryonnaire. La concentration moyenne en FP entre les jours 0, 12 et 30 n'a influencé aucun des autres paramètres de production mesurés. Seul le génotype, au site A en saison sexuelle, a influencé le poids total de la portée qui était supérieur chez les FLDP ( $7,24 \pm 2,18$  kg pour les DP vs  $8,16 \pm 1,60$  kg pour les FLDP ;  $P < 0,05$ ) et a eu tendance à faire varier le nombre d'agneaux nés ( $1,5 \pm 0,5$  pour les DP vs  $1,8 \pm 0,6$  pour les FLDP ;  $P = 0,076$ ) et le nombre d'agneaux élevés ( $1,4 \pm 0,5$  pour les DP vs  $1,7 \pm 0,5$  pour les FLDP ;  $P = 0,051$ ).

Le nombre d'agneaux nés, la mortalité embryonnaire, de même que les autres paramètres de reproduction mesurés n'ont pas été influencés par les concentrations en folates érythrocytaires. Les concentrations en progestérone aux différents jours de prélèvement, la concentration moyenne mesurée entre les jours 0 et 18 et la concentration maximale rencontrée entre les jours 0 et 18 n'ont eu aucune influence sur les paramètres zootechniques mesurés. La concentration en vitamine B<sub>12</sub> n'a influencé aucun des paramètres zootechniques mesurés sur tous les sites, toutes saisons confondues.

### 3.4. Discussion

Le protocole de la présente étude n'a pas permis la réduction de la mortalité embryonnaire chez la brebis par une supplémentation péri-conceptionnelle en AF. Elle a toutefois permis de confirmer les résultats obtenus par d'autres groupes de recherche, chez le porc (Tremblay et *al.*, 1986 ; Matte et Girard, 1999 ; Matte et *al.*, 1996) et la femme (Scholl et *al.*, 1996), en montrant qu'une supplémentation péri-conceptionnelle en AF permettait l'augmentation des FP et des FÉ chez des brebis de géotypes prolifique et non prolifique. Chez les ruminants, soit le veau (Girard et *al.*, 1992) et la vache (Girard et Matte, 1999), une supplémentation en AF permettait l'augmentation des folates plasmatiques sans toutefois en faire la vérification en période péri-conceptionnelle, et sans faire de lien avec les performances reproductives qui en découlent. Chez les ovins, seule une supplémentation ponctuelle en cours de gestation, sans analyse de l'impact sur les performances reproductives, avait été expérimentée (Girard et *al.*, 1999). Dans la présente étude, les taux moyens atteints chez les brebis supplémentées étaient augmentés de 1,6 fois à 3,0 fois par rapport à ceux des brebis témoins. Ces résultats montrent bien que l'AF servi *per os* a été absorbé.

L'assimilation très rapide de l'AF chez les brebis supplémentées est confirmée par une hausse importante des concentrations en FP mesurés quatre heures après le repas. Les concentrations en FP diminuent au cours des quatre heures suivantes, ce qui confirme l'impact direct et rapide de l'ajout de la vitamine à la ration des brebis. Les concentrations en FP mesurées quatre heures après le repas d'acide folique varient cependant passablement entre les différents sites. Ceci pourrait être en lien avec le fait que la distribution de l'AF dans la moulée pourrait ne pas être parfaitement uniforme et que ces mesures ont été faites seulement à une reprise. Cette augmentation rapide des FP après une supplémentation avait aussi été observée par Girard et *al.* (1999) sur une fenêtre de 24 heures suivant un repas supplémenté en AF chez des brebis, de même que par Girard et *al.* (1992) chez des veaux. Cette dernière étude avait toutefois mis en lumière que des veaux pré-ruminants nécessitaient une supplémentation en AF moins élevée que des veaux ayant une fonction ruminale active. Girard et *al.* (1992) justifiaient principalement cette différence par le fait que la vitamine serait diluée dans le contenu ruminal, ce qui en ralentirait le passage

jusqu'à l'intestin, et qu'elle serait en partie utilisée par la flore ruminale. Cette caractéristique des ruminants est donc à considérer lors de la comparaison des quantités d'acide folique à offrir chez le porc et celles à offrir chez la brebis.

Le traitement d'AF n'a pas permis de réduire la mortalité embryonnaire qui survient au cours des deux premières semaines de gestation chez la brebis (Moor, 1968). Toutefois, malgré que le traitement d'AF ait permis la hausse des concentrations moyennes en FÉ, qui sont un indice des réserves corporelles en folates, les concentrations en FÉ diminuent tout de même en cours de la gestation malgré la supplémentation. Cette baisse des FÉ, même sans supplémentation en AF, avait déjà été observée chez la brebis (Girard et *al.*, 1999) et pourrait être expliquée par une demande accrue des fœtus en folates au détriment des réserves maternelles. Il semble donc que le niveau de supplémentation en acide folique utilisé dans la présente expérience n'ait pas réussi à empêcher la diminution des FÉ. Ceci pourrait indiquer que le traitement n'a pu maintenir le niveau des réserves corporelles en folates de la femelle gestante lors de la période critique.

Sur chacun des deux sites où le protocole fut répété en saison et en contre-saison sexuelle, l'évolution des FP dans le temps différait selon la saison. Au site A, cet effet pourrait être expliqué par le fait que la supplémentation en AF était faite en *top dressing* dans l'essai réalisé en saison alors que la vitamine était incorporée à la moulée à la meunerie dans l'expérience en contre-saison sexuelle. Par contre, cette explication ne s'applique pas au site C puisque la méthode d'incorporation de l'AF à la ration était semblable lors des deux saisons. Par ailleurs, le protocole de la présente expérimentation n'avait pas pour objectif principal de vérifier l'effet de la saison sur la réponse à une supplémentation péri-conceptionnelle en acide folique. Plusieurs facteurs ont donc pu interférer avec cet effet de saison, ce qui fait en sorte qu'aucune conclusion précise à ce sujet ne peut être tirée à la lumière des présents résultats.

Girard et *al.* (1996) ont montré que les brebis gestantes de races prolifiques avaient des concentrations en FP supérieures à celles mesurées chez des brebis de race moins prolifique (Romanov > Finnois > Suffolk). Cependant, dans les deux essais où plus d'un génotype

était à l'étude, aucune différence entre les génotypes n'a été observée dans la présente étude et ce, autant pour les femelles ne recevant pas de supplémentation en AF (niveaux de base en folates) que pour celles recevant la supplémentation (réponse à la supplémentation). Au site B, l'effet potentiel de la race prolifique Romanov sur la variation des concentrations en FP a possiblement été dilué par le croisement avec des races non prolifiques. De plus, toutes les brebis étant  $\frac{1}{2}$ Romanov, il n'était pas possible d'isoler l'effet de ce génotype. Au site A, le génotype plus prolifique (FLDP) était également le résultat d'un croisement entre une race prolifique (FL) et une non prolifique (DP). Par ailleurs, les tailles de portée moyennes des brebis de la présente étude ( $\frac{1}{2}$ RV ou  $\frac{1}{2}$ FL) sont inférieures à celles mesurées chez les brebis de l'étude de Girard et *al.* (1996).

Puisque l'augmentation du taux d'ovulation entraîne généralement l'augmentation de la mortalité embryonnaire (Cumming et *al.*, 1975 ; Restall et *al.*, 1976), il est possible que le taux d'ovulation des brebis à l'étude (entre 1,6 et 3,0 ovulations) ait été trop faible pour assurer un potentiel de mortalité embryonnaire suffisant pour mettre en valeur l'impact d'une supplémentation en AF pour ces génotypes, voire même cette espèce. Il est possible qu'un protocole similaire réalisé avec des races ayant un taux d'ovulation supérieur, comme la Romanov, puisse résulter en un effet bénéfique de la vitamine sur la survie embryonnaire. Toutefois, malgré que les brebis FLDP du groupe supplémenté au site A en saison sexuelle présentaient un taux d'ovulation supérieur aux autres combinaisons de traitement, le taux de mortalité embryonnaire n'a été influencé ni par le génotype ni par le traitement.

Le génotype des brebis a cependant eu un impact sur le poids total de la portée à la naissance alors que les brebis FLDP présentaient une valeur moyenne supérieure à celle des brebis DP. Ces résultats découlent probablement de la tendance du croisement FLDP à présenter une taille de portée supérieure aux brebis DP. Cette dernière observation, mise en perspective avec des valeurs en FÉ inférieures chez les FLDP et des valeurs en FP équivalentes, suggère qu'il est possible que les brebis FLDP aient une aptitude plus grande à rendre leurs réserves corporelles disponibles aux fœtus plutôt qu'à les intégrer à leurs tissus. Girard et *al.* (1996) ont observé, sans supplémentation en AF, que les races

prolifiques présentaient des concentrations de folates sériques supérieures au moment de la saillie et lors de la gestation. La supplémentation en AF, dans la présente étude au site A, a permis l'augmentation des concentrations en FP des brebis DP non prolifiques à des concentrations comparables à celles mesurées chez les brebis du croisement prolifique FLDP.

Les concentrations de FÉ ont varié selon le génotype et étaient supérieures chez les brebis DP. Le fait que les taux mesurés soient inférieurs chez les brebis FLDP, qui montraient une tendance à être plus prolifiques que les brebis de race pure DP, pourrait indiquer que la demande en folates a été supérieure chez ces brebis. Cette concentration plus faible chez certaines races ovines prolifiques avait aussi été observée par Girard et *al.* (1996). Ceci pourrait être explicable par un poids de la portée à la naissance supérieur chez ces brebis, comparativement aux brebis Dorset. Le poids individuel des agneaux n'a toutefois pas varié selon le génotype alors que le nombre d'agneaux nés avait tendance à être supérieur pour les brebis FLDP, ce qui explique le poids de portée supérieur chez ces brebis. Ainsi, le fait que les agneaux issus des brebis FLDP avaient un poids à la naissance comparable à celui des agneaux de race pure DP indique un fort développement fœtal. La demande des fœtus de brebis FLDP a donc été supérieure du fait de ce développement et, possiblement, de leur nombre. Higgins et *al.* (2000) avaient d'ailleurs montré que la demande croissante en AF au cours de la gestation était liée aux besoins importants pour la synthèse cellulaire.

L'interaction entre l'effet du traitement et du génotype sur le taux d'ovulation, au site A en saison sexuelle, est explicable par le fait que les brebis FLDP recevant la supplémentation en AF présentaient une moyenne de  $2,3 \pm 0,6$  ovulations comparativement à des valeurs se situant entre 1,6 et 1,9 ovulations pour les autres combinaisons de traitement. Quelques études ont montré que, chez l'espèce porcine, la supplémentation en AF n'a pas d'effet sur le taux d'ovulation des femelles (Matte et *al.*, 1996 ; Tremblay et *al.*, 1989 ; Harper et *al.*, 1988-1989). Or, dans la présente étude, il n'est pas impossible que la différence entre le taux d'ovulation des brebis de génotype prolifique soit attribuable au traitement en AF puisque les concentrations en FP et érythrocytaires étaient supérieures dans la période ovulatoire chez les brebis supplémentées. Le traitement en AF a cependant été impuissant à

réduire la mortalité embryonnaire chez ces brebis puisque, malgré un taux d'ovulation supérieur, la taille de portée n'était pas plus élevée que chez les autres combinaisons de traitement et de génotype. Aucun effet n'a été noté chez les brebis de génotype non prolifique.

La concentration moyenne en progestérone, depuis le jour de la saillie jusqu'au 14<sup>e</sup> jour de gestation, diffère selon la combinaison du traitement et du génotype. Il est toutefois possible qu'il ne s'agisse pas d'une conséquence du traitement en AF puisque Duquette et *al.* (1997) et Tremblay et *al.* (1989) n'ont observé aucun effet d'une supplémentation en la vitamine sur le poids et la surface placentaire ainsi que sur le poids du tractus reproducteur, du stroma, des corps lutéaux et du liquide folliculaire. Par ailleurs, la diminution des concentrations en progestérone plasmatique aux jours 8, 10 et 12 de la gestation par rapport à la concentration mesurée au jour 6, et ce indépendamment du génotype et du traitement, pourrait possiblement être liée au stress induit par la laparoscopie survenue au jour 7. Différentes études ont rapporté qu'un stress, thermique (Osadchuk et *al.*, 2003), alimentaire (Razdan et *al.*, 2004) ou lié à la peur (Hydbring-Sandberg et *al.*, 2004), pouvait parfois diminuer ou augmenter les concentrations en progestérone plasmatique, entre autres selon qu'il s'agit d'un stress thermique aigu ou chronique (De Rensis et Scaramuzzi, 2003). Des travaux plus poussés sur les effets du stress induit par la laparoscopie seraient toutefois nécessaires pour élucider ce phénomène de diminution des concentrations en progestérone plasmatique observé dans notre étude.

D'autre part, Parr et *al.* (1987) avaient ciblé une valeur optimale pour la concentration en progestérone au jour 12 suivant la saillie pour assurer un taux de conception supérieur. Toutefois, dans la présente étude, la concentration plasmatique moyenne entre la saillie et le 14<sup>e</sup> jour de gestation n'a eu aucune influence sur la mortalité embryonnaire. Il apparaît donc que les taux de progestérone n'ont pas été un paramètre majeur contrôlant la taille de la portée. D'ailleurs, Diskin et Niswender (1989) ont déjà avancé l'hypothèse que, lorsque la fertilité est élevée chez la brebis et qu'il y a plus de 75% de survie embryonnaire, des concentrations de progestérone insuffisantes ne seraient pas une cause prédominante de mortalité embryonnaire. Or, les taux de mortalité embryonnaire moyens mesurés chez les

brebis à l'étude se situent entre 7 et 27%, ce qui contribue à confirmer une fois de plus l'absence d'influence de la concentration en progestérone plasmatique sur les performances reproductives.

L'activité de l'AF est tributaire de la présence de la B<sub>12</sub> (Mayes, 1995). Les concentrations en vitamine B<sub>12</sub> ont donc été mesurées en début d'expérimentation afin de vérifier que les brebis ne présentaient pas de carence en cette vitamine, ce qui aurait pu interférer avec l'action de l'AF. Selon Clark et *al.* (1989), la limite inférieure en terme de valeurs normales pour le mouton serait d'environ 500 pmol/l (675 pg/ml) alors que les valeurs moyennes des brebis à l'étude variaient de 1623 ± 170 pg/ml à 4207 ± 191 pg/ml. Ces animaux présentaient donc un statut en vitamine B<sub>12</sub>, au départ du projet, qui était adéquat pour assurer des fonctions physiologiques normales. Par ailleurs, les concentrations sanguines en vitamine B<sub>12</sub> étaient supérieures en contre-saison par rapport à celles obtenues en saison sexuelle et ce, sur les deux sites (sites A et C) sur lesquels les mesures ont été prises.

### **3.5. Conclusion et Impact**

Une supplémentation exogène en AF permet l'augmentation des folates sanguins des brebis mais une dose de 210 mg d'AF/brebis/jour de 21 jours précédant la mise aux béliers à 30 jours suivant n'a pas permis de réduire les pertes embryonnaires en début de gestation chez les brebis ayant un taux d'ovulation moyen variant de 1,6 à 3,0 ovulations. À la lumière des présents résultats, il ne semble donc pas pertinent de recommander à l'industrie ovine la supplémentation péri-conceptionnelle des femelles dans le but d'améliorer la fertilité et la prolificité de celles-ci.

### **3.6. Ouvrages cités**

**Ashworth, C.J.** 1995. Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos. *Livest. Prod. Sci.* **44**: 99-105.

**Clark, R.G., Wright, D.F., Millar, K.R. et Rowland, J.D.** 1989. Reference curves to diagnose cobalt deficiency in sheep using liver and serum vitamin B<sub>12</sub> levels. *N.Z. Vet. J.* **37**: 7-11.

**Cumming, I.A., de B. Blockey, M.A., Winfield, C.G., Parr, R.A. et Williams, A.H.** 1975. A study of relationship of breed, time of mating, level of nutrition, live weight, body condition, and face cover to embryo survival in ewes. *J. Agri. Sci. Camb.* **84**: 559-565.

- De Rensis, F. et Scaramuzzi, R.J.** 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow – a review. *Therio.* **60**: 1139-1151.
- Diskin, M.G. et Niswender, G.D.** 1989. Effect of progesterone supplementation on pregnancy and embryo survival in ewes. *J. Anim. Sci.* **67**: 1559-1563.
- Duquette, J., Matte, J.J., Farmer, C., Girard, C.L. et Laforest, J.P.** 1997. Pre- and post-mating dietary supplements of folic acid and uterine secretory activity in gilts. *Can. J. Anim. Sci.* **77**: 415-420.
- Edey, T.N.** 1979. Embryo mortality. Pages 315-325 *Dans* Sheep Breeding. Eds G.J. Tomes, D.E. Robertson, R.J. Lightfoot & W. Haresign. Butterworths, Londres, Angleterre.
- Girard, C.L., Castonguay, F., Fahmy, M.H. et Matte, J.J.** 1996. Serum and milk folates during the first two gestations and lactations in Romanov, Finnsheep, and Suffolk ewes. *J. Anim. Sci.* **74**: 1711-1715.
- Girard, C.L., Castonguay, F. et Matte, J.J.** 1999. Response of serum concentrations of folates to dietary supplements of folic acid given to ewes during gestation. *Can. J. Anim. Sci.* **79**: 387-389.
- Girard, C.L. et Matte, J.J.** 1988. Blood serum concentrations of folates and vitamin B<sub>12</sub> during growth period of white veal calves. *Can. J. Anim. Sci.* **68**: 455-460.
- Girard, C.L. et Matte, J.J.** 1999. Changes in serum concentrations of folates, pyridoxal, pyridoxal-5-phosphate and vitamin B<sub>12</sub> during lactation of dairy cows fed dietary supplements of folic acid. *Can. J. Anim. Sci.* **79**: 107-113.
- Girard, C.L., Matte, J.J. et Lévesque, J.** 1992. Responses of serum folates of preruminant and ruminant calves to a dietary supplement of folic acid. *J. Anim. Sci.* **70**: 2847-2851.
- Habibzadeh, N., Schorah, C.J. et Smithells, R.W.** 1986. The effects of maternal folic acid and vitamin C nutrition in early pregnancy on reproductive performance in the guinea-pig. *Br. J. Nutr.* **55**: 23-35.
- Harper, A.F., Lindemann, M.D. et Kornegay, E.T.** 1988-1989. The effects of supplemental folic acid on ovulation rate and on fetal survival and development at day 45 of gestation in gilts. Animal Science Research Report. Virginia Agricultural Experiment Station. **8**: 119-122.
- Higgins, J.R., Quinlivan, E.P., McPartlin, J., Scott, J.M., Weir, D.G. et Darling, M.R.N.** 2000. The relationship between increased folate catabolism and the increased requirement for folate in pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **107**: 1149-1154.
- Hydbring-Sandberg, E., von Walter, L.W., Höglund, K., Svartberg, K., Swenson, L. et Forkman, B.** 2004. Physiological reactions to fear provocation in dogs. *J. Endocr.* **180**: 439-448.
- Lévesque, J., Girard, C.L., Matte, J.J. et Brisson, G.J.** 1993. Dietary supplements of folic acid : blood and growth responses of white veal calves. *Livest. Prod. Sci.* **34**: 71-82.
- Matte J.J., Farmer, C., Girard, C.L. et Laforest, J.P.** 1996. Dietary folic acid, uterine function and early embryonic development in sows. *Can. J. Anim. Sci.* **76**: 427-433.
- Matte, J.J. et Girard, C.L.** 1999. An estimation of the requirement for folic acid in gestating sows: the metabolic utilization of folates as a criterion of measurement. *J. Anim. Sci.* **77**: 159-165.
- Matte, J.J., Girard, C.L. et Brisson, G.J.** 1984. Folic acid and reproductive performances of sows. *J. Anim. Sci.* **59**: 1020-1025.

- Mayes, P.A.** 1995. Structure et fonction des vitamines hydrosolubles. Pages 655-671 *Dans Précis de biochimie de Harper*. 8<sup>e</sup> édition. Les Presses de l'Université Laval. Québec, Canada.
- Moor, R.M.** 1968. The corpus luteum of the sheep : functional relationship between the embryo and corpus luteum. *J. Anim. Sci.* **27** (suppl. 1) : 97.
- Osadchuk, L.V., Braastad, B.O., Hovland, A.L. et Bakken, M.** 2003. Reproductive and pituitary-adrenal axis parameters in normal and prenatally stressed prepubertal blue foxes (*Alopex lagopus*). *Anim. Sci.* **76**: 413-420.
- Parr, R.A., Davis, I.F., Fairclough, R.J. et Miles, M.A.** 1987. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *J. Reprod. Fertil.* **80**: 317-320.
- Quinlivan, T.D., Martin, C.A., Taylor, W.B. et Cairney, I.M.** 1966. Estimates of pre- and perinatal mortality in the New Zealand Romney Marsh ewe – I. Pre- and perinatal mortality in those ewes that conceived to one service. *J. Reprod. Fert.* **11**: 379-390.
- Razdan, P., Tummaruk, P., Kindahl, H., Rodriguez-Martinez, H., Hultén, F. et Einarsson, S.** 2004. Hormonal profiles and embryo survival of sows subjected to induced stress during days 13 and 14 of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* **81**: 295-312.
- Restall, B.J., Brown, G.H., de B. Blockey, M., Cahil, L. et Kearins, R.** 1976. Assessment of reproductive wastage in sheep - 1. Fertilization failure and early embryonic survival. *Austr. J. Exp. Agri. Anim. Husb.* **16**: 329-335.
- SAS.** 1999-2001. SAS Institute, Inc. Release 8.02.
- Scholl, T.O., Hediger, M.L., Schall, J.I., Khoo, C.S. et Fisher, R.L.** 1996. Dietary and serum folate: their influence on the outcome of pregnancy. *Am. J. Clin. Nutr.* **63**: 520-525.
- Tremblay, G.F., Matte, J.J., Dufour, J.J. et Brisson, G.J.** 1989. Survival rate and development of fetuses during the first 30 days of gestation after folic acid addition to a swine diet. *J. Anim. Sci.* **67**: 724-732.
- Tremblay, G.F., Matte, J.J., Lemieux, L. et Brisson, G.J.** 1986. Serum folates in gestating swine after folic acid addition to diet. *J. Anim. Sci.* **63**: 1173-1178.

## Conclusions générales

L'intérêt d'une supplémentation péri-conceptionnelle en AF pour l'industrie ovine réside dans le fait que cette vitamine pourrait permettre l'augmentation de la fertilité et de la taille de portée de la brebis, comme c'est le cas chez le porc. Or, le présent protocole de supplémentation, bien qu'il ait permis d'augmenter les folates plasmatiques et les folates érythrocytaires, n'a pas entraîné l'augmentation de la taille de portée par la réduction de la mortalité embryonnaire. À cet égard, le coût lié à l'ajout de l'AF à la moulée en conditions commerciales n'est pas justifié par une augmentation des revenus en terme d'agneaux commercialisables. Il apparaît donc que la période de supplémentation ciblée ne couvrait pas suffisamment la période à risque, que la dose d'AF offerte était insuffisante ou que l'AF est tout simplement inefficace pour réduire les pertes embryonnaires chez la brebis. Il pourrait donc être pertinent d'étudier l'impact d'une supplémentation en AF débutant plus tôt que 21 jours pré-saillie, de façon à éviter la chute des folates érythrocytaires observée malgré la supplémentation de la présente expérimentation. De plus, puisque aucun plateau dans l'augmentation des folates plasmatiques en réponse à différentes doses d'AF n'a été observé lors de l'expérience préliminaire, des essais avec des doses supérieures à 210 mg d'AF/brebis/jour pourraient également être tentés.

Les éleveurs de brebis de génotypes non prolifiques n'ont pas plus d'intérêt que les éleveurs de brebis prolifiques à utiliser le présent protocole de supplémentation en AF. En effet, malgré des concentrations en folates érythrocytaires supérieures chez les brebis non prolifiques, aucune différence entre les deux types n'a pu être observée en terme de folates plasmatiques et de mortalité embryonnaire. La supplémentation offerte n'a donc pas été apte à bien cerner les risques de pertes embryonnaires. Les génotypes prolifiques utilisés dans la présente expérimentation étaient toutefois issus de croisements qui incluaient des races non prolifiques. L'utilisation de races prolifiques « pures » (Finnish Landrace ou Romanov) pourrait possiblement conduire à des résultats différents.

Bien que pour l'un des sites à l'étude le protocole de supplémentation et le génotype des brebis aient été les mêmes au cours de la saison sexuelle et de la contre-saison sexuelle,

plusieurs facteurs ont pu interférer avec l'analyse de l'effet de la saison de reproduction. Un protocole plus spécifique à l'étude de l'effet de la saison de reproduction serait nécessaire pour en arriver, avec plus de certitude, à des conclusions. Le fait qu'au site en question la réponse dans le temps des concentrations en folates plasmatiques ait différé entre les deux saisons nous laisse entrevoir que la saison de reproduction pourrait jouer un rôle dans la réponse obtenue à une supplémentation en AF.

À la lumière des résultats des présents essais, il apparaît prématuré de recommander l'addition d'AF dans la ration de brebis en période péri-conceptionnelle. Des essais additionnels seraient souhaitables pour en arriver à des conclusions plus sûres.