
Synchronisation des Chaleurs avec la GnRH pour Utilisation en Insémination chez les Ovins

CASTONGUAY¹, F., DUFOUR², J.J., LAFOREST², J.P. ET L.M. DEROY³

(1) Chercheur en production ovine au Centre de recherche et de développement sur les bovins laitiers et le porc d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à Lennoxville ; (2) Département des sciences animales, Université Laval (3) Centre d'insémination ovine du Québec.

Rapport de recherche remis en 1999 au CORPAQ

Résumé de la Recherche

Pour réaliser des inséminations chez les ovins, il est nécessaire de synchroniser l'oestrus des brebis. Pour ce faire, on utilise depuis le début des années '60, une éponge vaginale imprégnée d'un progestagène qui inhibe la venue en chaleur pendant la durée du traitement de 14 j. Au retrait de l'éponge, de vieilles études françaises avaient montré qu'il était nécessaire d'injecter de la PMSG pour assurer le regroupement des oestrus, et donc des ovulations, des brebis à inséminer et ainsi obtenir de bons résultats de fertilité avec une seule insémination réalisée à temps fixe suivant le retrait de l'éponge. Cependant, ce traitement est très dispendieux et de plus, on a récemment démontré que l'utilisation à répétition de la PMSG diminuait la fertilité en insémination en raison de la production d'anticorps contre la PMSG chez la brebis traitée. Une alternative pour assurer le regroupement des ovulations serait d'utiliser un analogue de la GnRH, un produit commercialement disponible et connu pour induire l'ovulation.

L'objectif global de cette recherche était de définir les meilleurs traitements de synchronisation de l'oestrus en fonction de la saison d'accouplement (saison ou contre-saison sexuelle) et de la prolificité de la brebis utilisée (génotype prolifique ou non-prolifique). L'objectif spécifique était d'évaluer l'utilisation de la GnRH pour améliorer la technique de synchronisation de l'oestrus et de l'ovulation chez la brebis.

Les résultats de cinq expériences démontrent qu'il est essentiel de tenir compte de la prolificité de la brebis dans l'élaboration d'un programme de synchronisation utilisé en

insémination. Toutes les expériences réalisées dans le cadre de ce projet démontrent bien les différences de réponse aux traitements de synchronisation entre les races prolifiques et non-prolifiques. Nos observations nous amènent à conclure qu'il est nécessaire de modifier le protocole d'injection de la GnRH et également le moment de l'insémination en fonction du type de génotype utilisée. Dans certaines circonstances, et surtout en fonction du moment de l'insémination, l'utilisation de la GnRH peut améliorer la fertilité des brebis inséminées. Cette augmentation de la fertilité pourrait cependant être également obtenue en précisant le meilleur moment pour l'insémination pour les génotypes prolifiques et non-prolifiques. En tenant compte des coûts et des résultats, l'éponge vaginale demeure le meilleur outil de base dans un programme de synchronisation de l'oestrus comparativement à la $PGF_{2\alpha}$. Il apparaît que pour les brebis prolifiques, il est possible de réduire de moitié le coût du traitement en saison sexuelle en éliminant la PMSG du programme de synchronisation. Par contre, en contre-saison, nos résultats suggèrent que la PMSG est essentielle.

Hypothèses

Nos hypothèses de travail étaient que :

1. En saison sexuelle, la fertilité des brebis inséminées à temps fixe est équivalente pour les brebis synchronisées avec $PGF_{2\alpha}$ et GnRH ou avec des éponges vaginales et de la PMSG ;
2. La GnRH est aussi efficace que la PMSG pour regrouper l'oestrus et l'ovulation de brebis ;
3. Les résultats des différents protocoles de synchronisation des chaleurs sont affectés par le génotype de la brebis et par la saison d'accouplement.

Buts et Objectifs

En insémination chez les ovins, il est nécessaire de synchroniser l'oestrus des brebis. Pour ce faire, on utilise traditionnellement une éponge vaginale imprégnée d'un progestagène combinée à une injection de PMSG qui permet de diminuer la variation entre les brebis du début de la chaleur et des ovulations. Le regroupement des chaleurs et des ovulations est une condition essentielle pour pouvoir pratiquer une seule insémination à temps fixe, ce qui permet de diminuer les coûts de la technique. Cependant, le traitement éponge-PMSG est très dispendieux (env. 8.00\$) et de plus, on a récemment démontré que l'utilisation à répétition de

PMSG diminuait la fertilité en insémination en raison de la production d'anticorps anti-PMSG chez la brebis traitée. Une alternative serait d'utiliser un analogue de la GnRH, un produit commercialement disponible à relativement peu de frais et connu pour induire un pic de LH et donc contrôler le moment de l'ovulation.

L'objectif global de cette recherche est d'évaluer l'utilisation de la GnRH pour améliorer la technique de synchronisation de l'oestrus et de l'ovulation chez la brebis. L'objectif est de définir les meilleurs traitements de synchronisation en fonction de la saison d'accouplement (saison ou contre-saison sexuelle) et du génotype utilisé (prolifique ou non-prolifique).

Matériel et Méthode

Expérience 1.

Au mois de sept. 1995 (saison sexuelle), 26 brebis prolifiques Arcott Outaouais (OU) et 27 Suffolk non-prolifiques (SU) ont été synchronisées par deux injections de 15 mg $PGF_{2\alpha}$ à intervalle de 11 j. Après la 2e injection de $PGF_{2\alpha}$ (T0), les brebis recevaient un des traitements suivants : (1) 50 μ g GnRH 24 h après la 2e injection de $PGF_{2\alpha}$ (T24) ; (2) 50 μ g GnRH 36 h après la 2e injection de $PGF_{2\alpha}$ (T36) ; (3) 50 μ g GnRH 48 h après la deuxième $PGF_{2\alpha}$ (T48). Les saillies contrôlées étaient réalisées à 48 et 60 h après la 2e $PGF_{2\alpha}$. On a évalué le début de l'oestrus à l'aide de béliers munis de harnais marqueur, le moment du pic de LH (échantillons sanguins aux 4 h) et le taux d'ovulation par laparoscopie.

Expérience 2.

En juin 1996 (contre-saison), 30 brebis OU et 30 SU ont été réparties dans un des trois traitements : 1) Éponge vaginale laissée en place pendant 14 jours. Au retrait, 500 U.I. PMSG aux OU et 700 U.I. aux SU ; 2) Éponge vaginale pendant 14 jours. Au retrait, 500 U.I. PMSG aux OU et 700 U.I. aux SU, et 50 μ g GnRH 34 h après le retrait; 3) 100 μ g GnRH, 20 mg $PGF_{2\alpha}$ 6 jours plus tard, et 100 μ g GnRH à 52 h après $PGF_{2\alpha}$. Les inséminations ont eu lieu 55 h après le retrait des éponges pour les traitements 1 et 2 et à 72 h pour le traitement 3.

Expérience 3.

En oct. 1996 (saison), des non-prolifiques DLS (n=44) et prolifiques 1/2Romanov1/2SU (RVSU; n=33) ont été synchronisées avec des éponges vaginales. Au retrait, les brebis étaient distribuées dans trois traitements : 1) aucune injection ; 2) 50 µg GnRH 48 h après le retrait; 3) 50 µg GnRH 54 h après le retrait. Les brebis étaient inséminées 65 h après le retrait.

Expérience 4.

En oct. 1996, 58 OU sont réparties dans trois traitements de synchronisation : 1) 50 µg GnRH, 20 mg PGF_{2α} 5 jours plus tard ; 2) 50 µg GnRH, 20 mg PGF_{2α} 5 jours plus tard, et 50 µg GnRH 48 h après PGF_{2α} ; 3) 50 µg GnRH, 20 mg PGF_{2α} 5 jours plus tard, et 50 µg GnRH 54 h après PGF_{2α}. Les inséminations ont lieu 65 h après PGF_{2α}.

Expérience 5.

En mars 1997 (début contre-saison), des non-prolifiques 3/4Dorset1/4RV (n=24) et 1/2Dorset1/4RV1/4SU (n=12) ainsi que des prolifiques RVSU (n=30) ont été synchronisées avec des éponges vaginales. Au retrait, les brebis étaient réparties dans trois groupes : (T1) 500 U.I. PMSG au retrait; (T2) 500 U.I. PMSG au retrait et 50 µg GnRH 48 h après le retrait; (T3) 50 µg GnRH 48 h après le retrait (sans PMSG). Les brebis étaient inséminées 55 h après le retrait pour le T1 et à 65 h pour T2 et T3.

Résultats

Expérience 1.

La proportion des brebis en chaleur 48 h après la 2e injection de PGF_{2α} était plus élevée pour les traitements T2 et T3 (77.8% et 88.2% vs 25.0% pour T1). Cependant, la proportion des brebis en chaleur à 60 h n'était pas différente entre les traitements, même si on observait une augmentation avec le retard de l'injection de GnRH (62.5%, 77.8% et 88.2% pour T1, T2 et T3). Toutes les brebis ont ovulé et le taux d'ovulation des OU était plus élevé que celui des SU (4.5 vs 2.8). Chez les OU, le nombre d'ovulations était de 4.5, 5.2 et 3.9 pour T1, T2 et T3, alors que pour les SU, il était de 3.4, 2.7 et 2.4. L'effet des traitements sur la fertilité était influencé par la race de la brebis. Ainsi, le taux d'agnelage était plus élevé chez les OU du T3

(0%, 33.3% et 75.0% pour T1, T2 et T3), alors que pour les SU, les traitements n'ont pas influencé la fertilité (12.5%, 22.2 et 25.0%). Le pic de LH est survenu 2 h après l'injection de GnRH chez toutes les brebis prélevées.

Expérience 2.

Des brebis du T1, 90% sont venues en chaleur, alors que pour le T2, 70% des OU et 90% des SU ont montré des signes d'oestrus. Une seule brebis traitée avec GnRH+PGF_{2α}+GnRH est venue en chaleur. Les OU des T1 et T2 sont venues en chaleur 35.8 h et 25.0 h après le retrait de l'éponge alors que les SU des T1 et T2 venaient en chaleur à 25.7 h. Plus de 90% des brebis des T1 et T2 ont eu des ovulations comparativement à 45% pour le T3. Globalement, une plus grande proportion des SU ont ovulé (86.7% vs 66.7%), et les taux d'ovulation étaient similaires (4.0 vs 3.7 pour les OU et SU). Chez les OU, les nombres d'ovulations étaient de 4.5, 3.9 et 2.7 pour T1, T2 et T3, alors que pour les SU, ils étaient de 5.2, 3.6 et 1.3. Chez les OU synchronisées avec les éponges, l'injection de GnRH a amélioré la fertilité (70% vs 40%) alors que l'effet a été le contraire chez les SU (60% vs 80%). La fertilité a été pratiquement nulle pour les SU (11.1%) et les OU (0.0%) traitées avec GnRH+PGF_{2α}+GnRH. La taille de portée était de 3.3 et 2.9 pour les OU des traitements 1 et 2 et de 2.0 et 2.2 pour les SU des T1 et T2. L'intervalle entre le début de la chaleur et le pic de LH était en moyenne de 16.5±1.0 h pour les SU et de 22.7±12.2 h pour les OU.

Expérience 3.

Presque toutes les brebis ont ovulé (97.7% pour DLS et 100% pour RVSU). Le nombre d'ovulations n'a pas été affecté par les traitements (2.5, 2.3 et 2.4 pour T1, T2 et T3) mais était plus élevé pour les RVSU comparativement aux DLS (3.1 vs 1.9). Les RVSU ont eu une meilleure fertilité que les DLS (79.4% vs 52.3%) et les effets des traitements étaient différents selon le génotype. Les RVSU du T1 ont obtenu un taux de fertilité exceptionnel et supérieur aux DLS (81.8% vs 46.7%). Pour les RVSU, l'injection de GnRH à 48 h a permis une très légère amélioration des résultats par rapport au T1 (90.9% vs 81.8%), alors que l'administration à 54 h a produit une baisse de fertilité (66.7%). Par contre, chez les DLS, c'est l'injection de GnRH à 54 h qui a permis d'augmenter la fertilité (64.3%) par rapport aux T1 et T2 (46.7% et 46.7%). La taille des portées n'a pas été affectée par les traitements (2.0,

2.1 et 2.1 pour T1, T2 et T3) mais était plus élevée pour les RVSU comparativement aux DLS (2.4 vs 1.7). Les prélèvements sanguins ont permis de montrer que le pic de LH endogène des RVSU (n=20) se produisait en moyenne à 46.7±8.0 h après le retrait de l'éponge et à 48.4±6.8 h pour les DLS (n=18). L'analyse des résultats montre que 80% des brebis RVSU avaient ovulé avant 48 h après le retrait de l'éponge comparativement à 56% pour les DLS. La fertilité des brebis était maximale lorsque le pic de LH survenait entre 44 et 50 h pour les RVSU et entre 51 et 56 h pour les DLS.

Expérience 4.

Suite aux traitements, presque toutes les brebis ont ovulé (94.7%, 94.7% et 100% pour T1, T2 et T3). Les taux d'ovulation ont varié entre 3.4 pour T1, 4.1 pour T2 et 3.6 ovulations pour T3. La fertilité des brebis a été de 52.6% pour le T1, 21.1% pour T2 et de 60.0% pour T3. La taille de la portée à la naissance a été affectée par les traitements s'établissant à 1.5 pour T1, 2.8 pour T2 et 2.5 agneaux nés pour T3. Les prélèvements sanguins ont montré que le pic de LH endogène des brebis survenait à 58±12.5 h (n=13). Ainsi, dans toutes les brebis prélevées dans les traitements 2 et 3, seules deux brebis du T3 ont eu leur pic de LH endogène avant celui induit par l'injection de GnRH. La fertilité des brebis était de 42.9% lorsque le pic de LH survenait avant 51 h (n=16), 60.0% lorsqu'il se situait à 56 h (n=10) et de 42.9% lorsqu'il se produisait après 56 h (n=7). L'analyse des profils de progestérone révèle que la 1ère injection de GnRH provoque une augmentation de la progestérone en dedans de 5 j chez 84.2% des brebis, indicateur que cette injection induit l'ovulation et la formation de corps jaunes. L'injection de la PGF_{2α} provoque une diminution de la progestérone en dedans de 2 j.

Expérience 5.

Les résultats montrent que la fertilité du T3 a été très faible (5%), ce qui laisse supposer que les brebis avaient débuté leur anoestrus saisonnier et que la PMSG est essentielle à cette période de l'année. Les génotypes n'ont pas répondu de la même façon aux traitements T1 et T2. Ainsi, les brebis prolifiques RVSU du T1 ont obtenu d'excellents résultats (80% de fertilité), alors que les brebis non-prolifiques ont eu une fertilité réduite (50%). À l'inverse, dans le T2, 20% des brebis prolifiques RVSU ont agnelé comparativement à 85% pour les

non-prolifiques. Il n'est cependant pas possible de séparer l'effet du temps d'insémination de l'effet de l'injection de GnRH.

Discussion

Chez les ovins, pour la synchronisation de l'oestrus, qui s'avère nécessaire pour l'utilisation de l'insémination, on a recours traditionnellement à un traitement avec un progestatif (éponge vaginale) auquel on ajoute l'injection de PMSG au retrait de l'éponge. Ceci permet de mieux synchroniser la venue en chaleurs et par conséquent les ovulations. Cependant, ce traitement est très dispendieux (8.00\$/brebis) et on a récemment démontré que l'utilisation de PMSG à répétition diminuait la fertilité en insémination par la production d'anticorps contre la PMSG. Nous nous sommes donc intéressés à de nouveaux protocoles de synchronisation qui utiliseraient la GnRH, une hormone connue pour induire un pic de LH et ainsi provoquer l'ovulation.

Les résultats de toutes les expériences menées dans le cadre de la présente recherche démontrent clairement qu'il existe des différences importantes entre les génotypes dans la réponse à un traitement de synchronisation de l'ovulation. Il apparaît également que la saison d'accouplement influence les résultats et que les programmes de synchronisation doivent être développés spécifiquement pour chaque saison.

En saison sexuelle, les résultats de l'expérience 3 démontrent qu'il est possible de synchroniser les brebis prolifiques sans utiliser de PMSG, en autant que l'insémination soit retardée à 65 h après le retrait de l'éponge. Pour les non-prolifiques, nos résultats sont moins concluants et demanderont d'autres essais pour identifier le temps d'insémination optimal. Cette observation est importante car depuis le début de l'insémination artificielle chez les ovins en France, les chercheurs français ont toujours soutenu le fait qu'il était indispensable d'utiliser la PMSG en insémination peu importe la saison. L'élimination de l'utilisation de la PMSG du protocole de synchronisation en saison sexuelle permet de réduire de moitié le coût de la synchronisation ce qui devrait stimuler l'intérêt des producteurs pour réaliser plus d'inséminations à l'automne.

La synchronisation avec $\text{PGF}_{2\alpha}$ a donné des résultats très variables (exp. 1, 2 et 4) malgré le fait qu'elle soit très efficace pour induire la destruction des corps jaunes et la chute de la progestérone (exp. 4). D'abord, l'expérience 2 a démontré que l'utilisation de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ doit être réservée à la saison sexuelle. En contre-saison sexuelle la GnRH n'est pas efficace pour amorcer une reprise adéquate de l'activité ovarienne (exp. 2 et 5) et la PMSG semble demeurer essentielle à cette période de l'année. Un traitement progestatif est donc indispensable à cette période de l'année. Même en saison sexuelle, l'expérience 1 montre que la fertilité des brebis après une synchronisation avec $\text{PGF}_{2\alpha}$ est très influencée par la race et ce même en saillies naturelles. L'expérience 4 démontre que la combinaison GnRH- $\text{PGF}_{2\alpha}$ peut donner des résultats intéressants en insémination (53%) en saison sexuelle à un coût avantageux (4.90\$) par rapport au protocole éponge-PMSG. Cependant, si on parvient à éliminer la PMSG du protocole traditionnel éponge-PMSG en saison sexuelle, c'est le traitement éponge seule qui coûtera le moins cher (3.35\$). Il s'agirait alors de préciser le moment de l'insémination pour les non-prolifiques. D'après nos résultats et les protocoles testés, il nous apparaît que le traitement avec $\text{PGF}_{2\alpha}$ n'apporte rien de plus par rapport au protocole avec éponge, mais son utilisation à l'intérieur de d'autres protocoles serait à réévaluer.

Pour ce qui est de l'utilisation de la GnRH, nos résultats démontrent que son injection provoque un pic de LH 2 h après son administration (exp. 1) et qu'elle est très efficace pour induire l'ovulation même injectée au hasard du cycle oestral (exp. 4). Globalement, il ressort que le moment idéal pour l'injecter varie d'un génotype à l'autre et doit être intimement relié au moment de l'insémination. L'injection prématurée de la GnRH pourrait provoquer l'ovulation précipitée de follicules de taille intermédiaire encore immatures. L'effet de race observé dans tous les résultats des expériences pourrait s'expliquer par le fait que les follicules des brebis prolifiques atteignent leur maturité à un diamètre inférieur à ceux des brebis non-prolifiques. En saison sexuelle, pour les prolifiques, l'addition d'une injection de GnRH à 48 h n'améliore que très peu la fertilité. Pour les non-prolifiques, l'injection de GnRH à 54 h sans PMSG améliore la fertilité des brebis inséminées à 65 h. En ce qui concerne l'effet de la GnRH sur le taux d'ovulation, les résultats sont contradictoires et demandent à être précisés

Impact des Résultats de la Recherche

Les résultats de cette recherche pourront être utilisés rapidement par les producteurs à travers les recommandations du CIOQ. Après l'analyse complète des résultats qui se fera dans les mois prochains et avec la publication des articles scientifiques, nous comptons écrire un article de synthèse dans la revue l'OVNI du Centre d'expertise en production ovine du Québec pour diffuser les résultats.

Cependant, avant de modifier le protocole de synchronisation utilisé par les producteurs, il reste quelques essais à réaliser avec un plus grand nombre de sujets avec les protocoles de synchronisation les plus prometteurs. La différence de résultats observée entre les génotypes prolifiques et non-prolifiques dans toutes les expériences réalisées met en lumière un facteur de réussite extrêmement important des programmes de synchronisation et donc de l'insémination. Le développement de programmes de synchronisation spécifiques à chacun des génotypes pourrait faire progresser rapidement les résultats obtenus jusqu'à présent en insémination ovine qui se maintienne autour de 60% d'année en année au niveau provincial et à travers le monde.

La possibilité d'inséminer les brebis en saison sexuelle sans avoir recours à la PMSG, démontrée pour les brebis prolifiques, permet de réduire de moitié les coûts de la synchronisation, ce qui devrait stimuler l'intérêt des producteurs à augmenter le nombre d'inséminations pratiquées à l'automne.

Conclusion

Il apparaît essentiel de tenir compte de la prolificité de la brebis dans l'élaboration d'un programme de synchronisation utilisé en insémination. Toutes les expériences réalisées dans le cadre de ce projet démontrent bien les différences de réponse aux traitements de synchronisation entre les races prolifiques et non-prolifiques. Ces observations entraîneront une modification du protocole d'injection de la GnRH et également du moment de l'insémination en fonction du type de la race utilisée. Dans certaines circonstances, et surtout en fonction du moment de l'insémination, l'utilisation de la GnRH peut améliorer la fertilité

des brebis inséminées. Cette augmentation de la fertilité pourrait cependant être également obtenue en précisant le meilleur moment pour l'insémination pour les génotypes prolifiques et non-prolifiques. En tenant compte des coûts et des résultats, l'éponge vaginale demeure le meilleur outil de base dans un programme de synchronisation de l'oestrus comparativement à la $\text{PGF}_{2\alpha}$. Il apparaît que pour les brebis prolifiques, il est possible de réduire de moitié le coût du traitement en saison sexuelle en éliminant la PMSG du programme de synchronisation. Par contre, en contre-saison, nos résultats suggèrent que la PMSG est essentielle.

Publications et Conférences

Castonguay, F., Dufour, J.J., Laforest, J.P. et Deroy, L.M.. 1998. *Synchronisation des chaleurs avec la GnRH pour utilisation en insémination chez les ovins*. Journées de recherche et Colloque en productions animales, 21 et 22 mai, Sainte-Foy, p. 100.

Castonguay, F., Dufour, J.J., Laforest, J.-P. et Deroy, L.M.. 1996. *Synchronisation hormonale de l'oestrus chez la brebis avec un analogue de la GnRH*. Journées de recherche et colloque en zootechnie, 30 et 31 mai, Sainte-Foy, p.167.

Castonguay F., Dufour, J.J., Laforest, J.-P. et DeRoy, L.M.. 1996. *Synchronisation de l'oestrus chez la brebis avec un analogue de la GnRH* (Poster). Rencontres autour des recherches sur les Ruminants. 4 et 5 décembre, Paris, 3:199.

Castonguay F., Dufour, J.J., Laforest, J.-P. Utilization of GnRH analogue in oestrus synchronization program for insemination in sheep. Soumis à *Theriogenology* (en préparation).

Castonguay F., Dufour, J.J., Laforest, J.-P. Utilization of $\text{PGF}_{2\alpha}$ and GnRH analogue in oestrus synchronization program for insemination in sheep. Soumis à *Theriogenology* (en préparation).