



Utilisation du CIDR^{MD} pour l'insémination artificielle avec semence congelée chez la brebis

Mémoire

Geneviève Pouliot

Maîtrise en sciences animales
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© Geneviève Pouliot, 2015

RÉSUMÉ COURT

Cette étude visait à évaluer différents protocoles d'utilisation d'un nouvel implant vaginal de progestérone (CIDR^{MD}) pour la synchronisation des chaleurs dans le cadre d'un programme d'insémination artificielle (IA) par laparoscopie avec semence congelée chez la race ovine Romanov. Trois protocoles ont été comparés : (T14) traitement au CIDR de 14 j avec injection d'eCG la veille du retrait et IA 24 h après le début de l'œstrus; (T5) traitement au CIDR de 5 j avec injection d'eCG et de PGF2 α la veille du retrait et IA 24 h après le début de l'œstrus; (Témoin) traitement au CIDR de 14 j avec injection d'eCG au retrait et IA à 48 h du retrait. Six essais ont été réalisés dans quatre bergeries commerciales sur 360 brebis. Le CIDR a été très efficace pour induire et synchroniser la venue en chaleur des brebis (97,1 %). Les trois traitements ont permis l'atteinte d'un taux de fertilité similaire (74,9 %). Le protocole avec IA à heure fixe, 48 h après le retrait du CIDR, serait à privilégier puisqu'il est techniquement plus facile à réaliser dans des conditions commerciales.

RÉSUMÉ LONG

L'insémination artificielle (IA) avec semence congelée gagne en popularité depuis quelques années au Québec, surtout dans l'objectif d'améliorer la génétique des troupeaux et de réduire le taux de consanguinité devenu inquiétant dans certaines races présentes au Canada. Son utilisation nécessite l'élaboration d'un protocole de synchronisation des chaleurs efficace. Depuis 2010, un nouvel implant hormonal pour la synchronisation des chaleurs a fait son apparition sur le marché canadien : le CIDR^{MD} (« Controlled Internal Drug Release »). Cependant, aucune étude n'est encore rapportée associant le CIDR et l'IA avec semence congelée dans le contexte de production canadien. L'objectif principal de ce projet était de développer un protocole de synchronisation des chaleurs avec CIDR efficace lorsqu'utilisé avec l'IA par laparoscopie avec semence congelée dans le but d'augmenter la fertilité des brebis Romanov. Trois protocoles ont été comparés : (T14) traitement au CIDR de 14 j avec injection d'eCG la veille du retrait et IA 24 h après le début de l'œstrus; (T5) traitement au CIDR de 5 j avec injection d'eCG et de PGF2 α la veille du retrait et IA 24 h après le début de l'œstrus; (Témoin) traitement au CIDR de 14 j avec injection d'eCG au retrait et IA à 48 h du retrait. L'étude a eu lieu sur deux saisons sexuelles (automne 2012 et 2013) dans quatre bergeries commerciales. Un total de six essais a été effectué sur 360 brebis Romanov. Le CIDR a été très efficace pour induire et synchroniser la venue en chaleur des brebis dans un délai de 27 h suivant le retrait (97,1 %). Toutefois le traitement de synchronisation de 5 j a induit les chaleurs plus tardivement que les traitements de 14 j (T14 et Témoin). Les trois protocoles ont permis l'atteinte de taux de fertilité similaires (73,9, 71,8 et 78,9 % pour T14, T5 et Témoin). L'efficacité (nombre d'agneaux nés/nombre de brebis inséminées) et la prolificité des trois traitements ont aussi été similaires. En conclusion, aucun traitement n'a permis l'atteinte d'un taux de fertilité ou d'efficacité plus élevé. Le traitement à heure fixe du retrait serait le plus approprié pour l'utilisation dans les bergeries commerciales puisqu'il est techniquement plus facile à réaliser dans des conditions commerciales tout en permettant l'atteinte d'un taux de fertilité élevé.

TABLE DES MATIÈRES

RESUME COURT	III
RESUME LONG	V
TABLE DES MATIERES	VII
Liste des Tableaux	IX
Liste des Figures	XI
AVANT-PROPOS	XIII
CHAPITRE 1. INTRODUCTION	1
CHAPITRE 2. REVUE DES TRAVAUX ANTERIEURS	3
2.1. La reproduction chez la brebis.....	3
2.1.1. La saisonnalité	3
2.1.2. Le cycle sexuel.....	4
2.1.3. La fécondation	8
2.2. Particularités de l'utilisation de la semence congelée chez les ovins	9
2.2.1. Étapes de préparation de la semence	9
2.2.2. Effets de la congélation et décongélation	10
2.2.3. Concentration de la semence	13
2.3. Techniques d'insémination avec semence congelée.....	17
2.3.1. Insémination cervicale	17
2.3.2. Insémination intra-utérine par laparoscopie.....	20
2.3.3. Insémination transcervicale	25
2.4. Protocoles d'insémination avec semence congelée	28
2.4.1. Synchronisation de l'œstrus en saison sexuelle	28
2.4.1.1. <i>Traitement à la progestérolone</i>	28
2.4.1.2. <i>Utilisation de l'eCG dans les protocoles de synchronisation</i>	35
2.4.2. Programme d'insémination par laparoscopie.....	43
2.4.2.1. <i>Synchronisation de l'œstrus dans un programme d'insémination</i>	43
2.4.2.2. <i>Moment idéal pour procéder à l'insémination par laparoscopie</i>	47
2.5. Facteurs qui influencent la fertilité suite à l'insémination par laparoscopie en semence congelée	54
2.5.1. Race	54
2.5.2. Âge.....	57
2.5.3. Intervalle mise bas - IA.....	59
2.5.4. État de chair	60
2.6. Conclusions	62
2.7. Objectifs et hypothèses de recherche.....	64

CHAPITRE 3. UTILISATION DU CIDR EN INSEMINATION AVEC SEMENCE CONGEELEE CHEZ LA BREBIS ROMANOV	67
3.1. Introduction.....	67
3.2. Matériel et Méthodes	68
3.2.1. Semence congelée.....	68
3.2.2. Animaux.....	69
3.2.3. Régie d'élevage.....	69
3.2.4. Répartition et traitements	71
3.2.5. Détection des chaleurs	72
3.2.6. Inséminations	74
3.2.7. Gestation et agnelage	74
3.2.8. Mesures de la progestérone et de la LH.....	74
3.2.8.1. <i>Mesures de la progestérone</i>	75
3.2.8.2. <i>Mesures de la LH</i>	75
3.2.9. Paramètres mesurés et calculés	76
3.2.10. Analyses statistiques	76
3.2.10.1. <i>Paramètres zootechniques</i>	76
3.2.10.2. <i>Dosages hormonaux</i>	78
3.3. Résultats.....	79
3.3.1. Traitement d'induction et de synchronisation des chaleurs	79
3.3.1.1. <i>Concentration de progestérone sanguine pendant le traitement au CIDR</i>	79
3.3.1.2. <i>Taux d'induction et répartition des chaleurs</i>	79
3.3.1.3. <i>Moment de l'induction du pic de LH</i>	84
3.3.2. Taux de fertilité.....	84
3.3.2.1. <i>Effet des traitements</i>	84
3.3.2.2. <i>Effet de l'intervalle entre le retrait du CIDR et l'IA</i>	84
3.3.2.3. <i>Effet de l'intervalle entre le début de la chaleur et l'IA</i>	88
3.3.2.4. <i>Effet de l'âge des brebis</i>	88
3.3.2.5. <i>Effet de la semence des béliers</i>	88
3.3.3. Prolificité.....	91
3.3.4. Efficacité globale des traitements	91
3.4. Discussion.....	94
3.5. Conclusion	103
CHAPITRE 4. DISCUSSION GENERALE.....	105
LISTE DES OUVRAGES CITES	109
ANNEXE A. TABLEAU SYNTHESE DES ETUDES SCIENTIFIQUES PORTANT SUR L'UTILISATION DU CIDR EN INSEMINATION ARTIFICIELLE PAR LAPAROSCOPIE AVEC SEMENCE CONGEELEE CHEZ LA BREBIS	127
ANNEXE B. FREQUENCES CUMULATIVES DE L'INDUCTION DES CHALEURS 27 H SUITE AU RETRAIT DES CIDR LORS DE L'ANNEE 1 (ESSAIS A1, B, C1)...	131

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Taux de gestation des brebis suivant une insémination par laparoscopie en fonction du nombre de spermatozoïdes (spz) motiles décongelés inséminés.....	15
Tableau 2.2	Comparaison du taux de gestation des brebis (%) à la suite d'une insémination cervicale ou intra-utérine par laparoscopie avec semence congelée	18
Tableau 2.3	Comparaison du taux de gestation des brebis (%) à la suite d'une insémination intra-utérine transcervicale par voie physique ou par laparoscopie avec semence congelée	26
Tableau 3.1	Description des brebis Romanov traitées au CIDR dans le cadre des six essais de comparaison des protocoles d'insémination	70
Tableau 3.2	Caractéristiques des brebis Romanov traitées au CIDR et performances de synchronisation des chaleurs des trois traitements d'insémination des six essais	81
Tableau 3.3	Caractéristiques des brebis Romanov inséminées et performances de reproduction des trois traitements d'insémination des six essais	86
Tableau 3.4	Fertilité des brebis Romanov selon les trois traitements d'insémination par laparoscopie lors des six essais.....	87
Tableau 3.5	Fertilité des brebis Romanov inséminées selon leur âge	89
Tableau 3.6	Fertilité des brebis Romanov inséminées en fonction de la semence des béliers utilisée dans chacun des essais de l'année 2	90
Tableau 3.7	Prolificité (nombre d'agneaux nés/brebis agnelée) des brebis Romanov selon les trois traitements d'insémination lors des six essais	92
Tableau 3.8	Efficacité globale (nombre d'agneaux nés/brebis inséminée) des trois traitements d'insémination lors des six essais sur des brebis Romanov	93
Tableau 4.1	Coûts associés à chacun des protocoles d'insémination à l'essai	108

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	Représentation schématique des évènements physiologiques pendant le cycle œstral chez la brebis et les variations des hormones sexuelles impliquées : œstradiol (E2), progestérone (P4), prostaglandines F _{2α} (PGF _{2α}), hormone folliculostimulante (FSH) et hormone lutéinisante (LH).....	5
Figure 2.2	Migration de l'ovule et de l'embryon de l'oviducte vers l'utérus chez la brebis.	8
Figure 2.3	Représentation schématique du cervix chez la brebis.	19
Figure 2.4	Illustration d'une insémination par laparoscopie. Vue latérale du système reproducteur femelle ainsi que les principaux instruments, l'endoscope et le pistolet d'insémination.....	21
Figure 2.5	Variabilité de l'occurrence des évènements physiologiques qui suivent le retrait d'un CIDR chez la brebis. L'étendue des rectangles illustre les variations de valeurs (minimum et maximum) alors que les flèches montrent la moyenne du début de l'œstrus, du pic de LH et de l'ovulation des études recensées.	30
Figure 2.6	Concentration du taux de progestérone dans le sang des brebis lors d'un traitement au CIDR de 12 ou 14 j en saison sexuelle selon diverses études.	32
Figure 3.1	Dispositif expérimental présentant les traitements de synchronisation des chaleurs et d'insémination artificielle.	73
Figure 3.2	Évolution de la concentration de progestérone sanguine des brebis sans progestérone endogène au moment de la pose du CIDR selon le traitement au CIDR.....	80
Figure 3.3	Fréquence cumulative des chaleurs induites dans un délai de 27 h suivant le retrait des CIDR selon le traitement de synchronisation lors des essais A2 et C2.	83
Figure 3.4	Moment du pic de LH suite au retrait des CIDR (0 h) selon le traitement de synchronisation.	85

AVANT-PROPOS

Je dois d'abord remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce projet, sans quoi il n'aurait pu être ce qu'il est actuellement. Je me dois de remercier en premier Dr François Castonguay, chercheur en production ovine du Département des sciences animales de l'Université Laval. J'ai eu le privilège d'être encadrée, soutenue et guidée par une personne passionnée par son métier et qui est disponible pour ses étudiants. Les nombreuses heures passées dans son bureau m'ont appris à être soucieuse de mon travail, à toujours chercher plus loin et à devenir plus autonome. Tu m'as donné accès à toutes tes connaissances et tu m'as remise sur le bon chemin maintes fois, sans quoi je n'aurais pas été en mesure de remettre un travail de cette qualité. Tu as été mon deuxième père de Québec, qui m'a soutenue tout le long de ce travail. Malgré les moments plus difficiles qui ont pu arriver pendant ma maîtrise, tu as su garder le moral et tu as fait de mon mémoire de maîtrise un plaisir au quotidien. Je garderai que de bons souvenirs de ces nombreuses années à travailler avec toi et ton équipe.

Ensuite, je me dois de remercier mille fois Mireille Thériault, qui était adjointe de recherche à Agriculture et Agroalimentaire Canada. Sans toi, il m'aurait été impossible d'être aussi efficace pendant ma phase animale. Tu m'as appris à travailler, tu m'as soutenue et tu m'as fait connaître encore plus la personne incroyable que tu es. Tu es passionnée par ton travail et tu as su me transmettre cette passion. Merci encore mille fois pour les heures innombrables que tu as dû investir dans mon projet, pour ta patience face à mes nombreuses questions et pour ton talent. Malgré le choix de carrière déchirant que tu as dû faire, tu es demeurée présente pour moi et ça a beaucoup compté. Je dois aussi remercier grandement Vincent Demers Caron, chargé de projet du Département des sciences animales de l'Université Laval. Merci de m'avoir accompagnée sur le terrain, d'avoir passé de longues heures avec moi à préparer des brebis pour les inséminations. Tu es une personne minutieuse qui a à cœur un travail bien fait, et avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à

travailler. Tu as été d'une aide indispensable tout au long de mon projet. Enfin, merci à Élise Blais, étudiante de 2e cycle, qui a réalisé les dosages de progestérone.

Un gros merci aussi au Centre d'expertise en production ovine du Québec (CEPOQ) qui a été un collaborateur financier pour ce projet. Je remercie spécialement Hélène Méthot, Catherine Element-Boulianne et Léda Villeneuve pour le suivi financier. Je tiens également à remercier du fond du cœur les quatre producteurs (et leurs employés) qui nous ont « prêté » leurs brebis, qui ont été présents lors de la phase animale et qui nous ont reçu comme des amis : Karine Fortier et Marc-Antoine Roy, Johanne Cameron et Martin Brodeur-Choquette, Geneviève Forest et Simon Parent et finalement Serge Lefebvre. Vous avez su nous faire confiance et vous nous avez accueillis à bras ouverts dans ce projet. Votre collaboration a permis l'aboutissement d'un projet formidable.

Je tiens à souligner que ce projet n'aurait pas été possible sans la contribution financière du Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ) par l'entremise du Programme canadien d'adaptation agricole (PCAA), appuyé financièrement par Agriculture et Agroalimentaire Canada. De plus, je désire remercier la Société des éleveurs de moutons de race pure du Québec (SEMRPQ) pour leur appui au projet. Je désire aussi souligner le soutien financier de la compagnie Zoetis (une attention particulière au Dr Paul Baillargeon et à France Lanthier) pour leur collaboration à la réussite de ce projet. En terminant, je tiens à remercier le Dr Richard Bourassa, vétérinaire, pour ses conseils.

Finalement, un gros merci à ma famille pour le soutien constant tout au long de ces années et leur écoute. Une note particulière à mon frère qui s'est impliqué dans la correction de mon mémoire et qui a su me conseiller dans ma recherche. Des remerciements spéciaux vont à l'homme avec qui je partage ma vie, Jean-Michel, qui a su me comprendre et m'écouter pendant les hauts et les bas d'un tel projet et qui a su me motiver. Sans toi, j'aurais eu envie de me décourager maintes fois, mais tu m'as soutenu et encouragé, et maintenant je suis fière de tout ce que j'ai accompli. Avec la nouvelle aventure qui nous attend, je sais que tu seras toujours là pour moi et je tenterai de te rendre la pareille.

Merci à vous tous de m'avoir soutenue pendant cette aventure. Je clos maintenant un chapitre de ma vie et j'en sors grandie. Sans vous, ce travail n'aurait jamais été ce qu'il est aujourd'hui !

CHAPITRE 1.

INTRODUCTION

L'insémination artificielle (IA) est une technique moderne de reproduction utilisée en production animale. Présente en production laitière et porcine, elle a fait ses preuves en termes d'amélioration génétique. Elle permet notamment la dissémination rapide du potentiel génétique d'un mâle améliorateur sur de grands groupes de femelles. En production ovine, cela signifie une augmentation des performances globales de plusieurs troupeaux de race pure. L'IA chez les ovins est utilisée à grande échelle depuis longtemps dans plusieurs pays, notamment en France et en Australie. Ce n'est toutefois pas le cas du Québec, où l'utilisation de cette technique est relativement récente (Rousseau *et al.*, 1991). Ce n'est qu'en 1980 que les premiers essais d'insémination cervicale ont été effectués. En 1988, le Centre d'insémination ovine du Québec (CIOQ) a été créé afin d'assurer un service d'IA en semence fraîche un peu partout au Québec. Cependant, vers la fin des années 90, la popularité de l'insémination a diminué grandement, ce qui a entraîné la fermeture du CIOQ en 2002. Depuis quelques années, l'objectif d'augmenter la productivité des élevages a fait renaître l'intérêt pour l'insémination chez les éleveurs de races pures du Québec, notamment en semence congelée, puisqu'il est possible d'importer de la semence de béliers élites provenant d'autres pays. Un autre objectif actuel des éleveurs de races pures est la volonté d'apporter du sang neuf dans leur troupeau dans le but de diminuer le taux de consanguinité qui commence à devenir problématique chez certaines races comme la Romanov. Aussi, plusieurs producteurs sont impliqués dans le Programme canadien des ressources génétiques animales d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, qui encourage la congélation de semence de certains béliers à la ferme afin de conserver les ressources génétiques présentes dans les provinces. Tous ces objectifs convergent vers l'utilisation d'une même ressource : la semence congelée. Malheureusement, les résultats de fertilité suite à l'insémination cervicale en semence congelée sont réputés pour être très décevants, soit aux environs de 10-30 % de fertilité. Une des raisons qui explique cette faible fertilité réside dans le fait que les spermatozoïdes de béliers sont plus fragiles au

processus de congélation et décongélation. De plus, le cervix chez la brebis rend le passage des spermatozoïdes décongelés très difficile, en plus d'empêcher une pipette d'insémination standard de pouvoir le traverser aisément. Ainsi, chez les ovins, l'utilisation de la semence congelée s'avère une procédure beaucoup plus complexe que chez les bovins.

Il y a plus de 30 ans, une technique d'insémination directement dans la lumière des cornes utérines a été développée, afin d'améliorer la fertilité en semence congelée chez la brebis. Il s'agit de l'insémination par laparoscopie. Cette chirurgie mineure est simple et rapide à réaliser pour un vétérinaire avec de l'expérience. Cette technique est la seule montrant un taux de fertilité intéressant, aucune autre alternative efficace n'ayant été développée à ce jour, malgré les nombreuses méthodes décrites dans la littérature. L'IA avec semence congelée comprend son lot de défis à relever pour les producteurs québécois. En effet, cette technologie est dispendieuse et très peu de vétérinaires possèdent assez d'expérience pour garantir un bon taux de fertilité et assurer au producteur un retour sur son investissement. De plus, chez les ovins, la synchronisation des chaleurs des brebis est nécessaire aux inséminations afin de pouvoir créer un chantier d'insémination efficace. Les références en IA avec de la semence congelée utilisent majoritairement l'éponge vaginale, implant de type progestatif qui était utilisé au Québec jusqu'en 2010. Suite à la disparition de l'éponge, un nouvel implant a fait son apparition, le CIDR. L'efficacité de synchronisation du CIDR est méconnue et n'a jamais fait l'objet d'études scientifiques sérieuses au Canada. L'adaptation d'un protocole aux conditions uniques du Québec permettrait un retour de l'utilisation de l'insémination artificielle à plus grande échelle qui garantirait une amélioration génétique plus rapide des troupeaux ovins.

CHAPITRE 2.

REVUE DES TRAVAUX ANTÉRIEURS

2.1. La reproduction chez la brebis

2.1.1. La saisonnalité

Chez la brebis, les inséminations artificielles sont réalisées sur une chaleur synchronisée qui veut reproduire le plus fidèlement possible un cycle sexuel naturel. Il est donc essentiel de bien comprendre la suite des événements physiologiques qui mènent à la fécondation lors d'une chaleur naturelle afin de mieux maîtriser et comprendre les protocoles d'insémination et maximiser la fertilité des brebis. D'abord, il faut prendre en considération que les femelles de l'espèce ovine se reproduisent de façon saisonnière, c'est-à-dire qu'elles ne sont pas cycliques tout au long de l'année (Thibault *et al.*, 1966). Les brebis font partie des espèces caractérisées par une période de reproduction suivie d'une période d'inactivité sexuelle durant laquelle les gonades ont une activité réduite; cette période est nommée l'anœstrus ou contre-saison sexuelle (Thibault *et al.*, 1966). Cet anœstrus saisonnier est une adaptation de l'espèce afin d'assurer la naissance des agneaux au printemps, lorsque les conditions environnementales sont favorables à leur survie (Goodman et Inskeep, 2006). Les changements saisonniers de l'activité sexuelle sont contrôlés par la durée du jour (photopériode). Les jours courts sont responsables de l'induction de l'activité sexuelle des brebis tandis que les jours longs l'inhibent. Le moment de la saison sexuelle des brebis dépend donc de l'hémisphère dans lequel elles vivent ; les brebis de l'hémisphère nord ayant leur saison sexuelle en automne et en hiver (Rosa et Bryant, 2003; Bartlewski *et al.*, 2011). En saison comme en contre-saison sexuelle, la durée du jour est perçue par les photorécepteurs de la rétine de l'œil de la brebis, qui transmettent le message à la glande pinéale grâce à l'hypothalamus et aux ganglions cérébraux (Chemineau *et al.*, 1992; Rosa et Bryant, 2003). La perception de la noirceur par la glande pinéale entraîne la synthèse et la libération de la mélatonine. Cette dernière est sécrétée seulement pendant la noirceur et agit comme intermédiaire entre l'information

photopériodique et le signal hormonal (Chemineau *et al.*, 1992). C'est le signal positif donné par la mélatonine aux cellules sécrétrices de l'hypothalamus qui, en saison sexuelle, augmentera leur activité qui entrainera l'augmentation de la fréquence des pulses de LH (hormone lutéinisante) et de la sécrétion de FSH (hormone folliculo-stimulante) par la stimulation de la GnRH (gonadotrophines) de l'hypophyse, induisant par le fait même une stimulation gonadique qui résultera en la reprise de l'activité sexuelle (Chemineau *et al.*, 1992). Il faut toutefois considérer que même si la photopériode est le facteur majeur influençant l'initiation et la durée de la saison sexuelle, la race, la régie de troupeau, l'alimentation, la température ambiante et l'âge peuvent aussi la modifier de façon plus ou moins importante (Rosa et Bryant, 2003).

2.1.2. Le cycle sexuel

Le cycle sexuel est un système complexe qui établit un lien entre les gonades et l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ce système comprend de nombreuses hormones qui sont responsables d'établir le lien entre les différents organes, telles la GnRH, la LH, la FSH, l'œstradiol, l'inhibine, la progestérone et les prostaglandines (PGF_{2α}). Il est donc important de bien comprendre les nombreux évènements qui régulent l'œstrus et surtout l'ovulation pendant le cycle œstral afin d'être en mesure d'obtenir de bons taux de fertilité en insémination, technique où toutes les étapes menant à la fécondation doivent être recréées artificiellement.

Le cycle sexuel de la brebis a une durée entre 14 et 19 j pour une moyenne de 16 à 17 j chez la majorité des sujets (Goodman et Inskeep, 2006). Il est séparé en deux phases : la phase folliculaire et la phase lutéale (Figure 2.1).

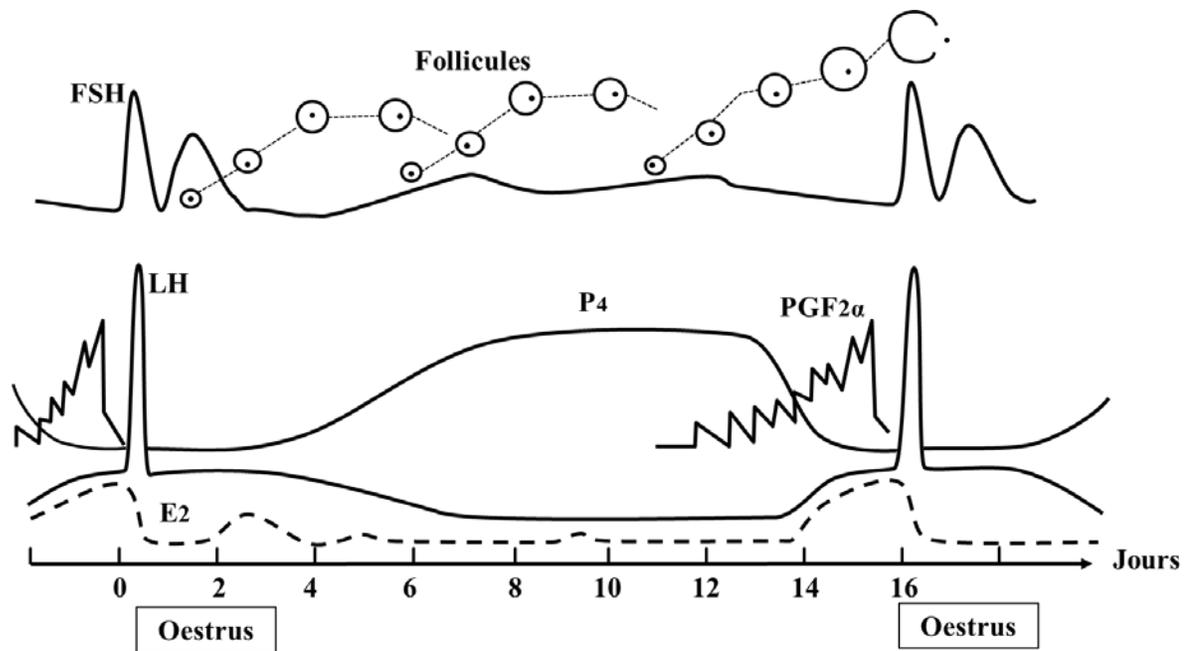


Figure 2.1 Représentation schématique des évènements physiologiques pendant le cycle œstral chez la brebis et les variations des hormones sexuelles impliquées : œstradiol (E2), progestérone (P4), prostaglandines F_{2α} (PGF_{2α}), hormone folliculostimulante (FSH) et hormone lutéinisante (LH).

Adaptée de Goodman et Inskeep (2006)

Les évènements hormonaux menant à l'ovulation ont lieu pendant les deux à trois jours que dure la phase folliculaire. Cette phase débute par la régression du ou des corps jaunes présents sur les ovaires par la PGF_{2α} qui cause la chute de progestérone et qui entraîne par la suite une succession d'évènements hormonaux menant à l'ovulation (Karsch *et al.*, 1980). Concrètement, la chute de la progestérone lève la rétroaction négative de la progestérone sur la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus (Knickerbocker *et al.*, 1988; Bartlewski *et al.*, 2011). La GnRH est une hormone pulsatile qui est sécrétée pendant toute la durée du cycle sexuel et qui stimule la sécrétion de la FSH et de la LH par l'hypophyse (Clarke *et al.*, 1987). Toutefois, lors de la phase folliculaire, l'amplitude du signal de la GnRH diminue et sa fréquence augmente, donnant le signal hormonal à la LH qui suivra le même schéma (Clarke *et al.*, 1987; Moenter *et al.*, 1991). La phase folliculaire est caractérisée par la période durant laquelle les follicules ayant un antrum de plus de 2 mm de diamètre démarrent leur croissance (Baril *et al.*, 1993b). La croissance de ces follicules est

dépendante de la LH et de la FSH (Evans et Maxwell, 1987). Plus spécifiquement, le rôle de la FSH est de stimuler le début du développement folliculaire tandis que la LH permet le développement folliculaire et la maturation de ceux-ci pendant les phases subséquentes (Evans et Maxwell, 1987).

Lors de la phase folliculaire, il existe un phénomène de recrutement des follicules qui a comme conséquence que seuls quelques-uns d'entre eux pourront se rendre jusqu'à l'ovulation. Ce recrutement des follicules est plus élevé que le taux d'ovulation qui sera observé puisque de nombreux follicules n'atteindront pas la maturité nécessaire et subiront une atresie durant le processus de maturation (Bartlewski *et al.*, 2011). Il faut savoir que les mécanismes de sélection et d'ovulation diffèrent selon les races, notamment chez les brebis prolifiques. Par exemple, le recrutement folliculaire chez une race prolifique (Romanov) est plus important que chez une race non-prolifique (Île-de-France), alors que la sélection de ces follicules est similaire (Driancourt *et al.*, 1986; Baril *et al.*, 1993b). Au final, cela correspond à un taux d'ovulation et une prolificité supérieurs pour la race Romanov. Par ailleurs, chez la race prolifique Finish Landrace, la stratégie est différente : le recrutement n'est pas supérieur à celui des races non-prolifiques, mais la sélection est faible, ce qui résulte en une prolificité élevée (Driancourt *et al.*, 1986). Une troisième stratégie a aussi été observée chez la race prolifique Booroola, pour laquelle les chercheurs ont observé un recrutement continu de follicules pendant la phase folliculaire et très peu de pertes menant à l'atresie (Driancourt *et al.*, 1986). Il existe aussi une différence entre les races prolifiques et non-prolifiques concernant la croissance folliculaire. Il apparaît que les follicules qui atteignent leur maturité chez les races prolifiques sont de plus petit diamètre que ceux des races non-prolifiques (Bartlewski *et al.*, 2011).

À mesure que la taille des follicules augmente, ils sécrètent de plus en plus d'œstradiol dans la circulation sanguine (Baird, 1978). Lorsque la concentration sanguine d'œstradiol atteint un niveau suffisant, environ 24 à 30 h avant l'ovulation, il y a induction d'un pic de LH qui agit comme signal endocrinien responsable de la lutéinisation des follicules et des modifications qui conduiront à la libération de l'ovule (Baird, 1978; Baril *et al.*, 1993b). Ce

pic de LH, induit pendant le début de la chaleur des brebis, est essentiel pour que l'ovulation ait lieu, sans quoi elle sera bloquée. C'est l'augmentation du niveau d'œstradiol qui précède le pic de LH qui est responsable du comportement œstral chez la brebis. Ce comportement d'œstrus est caractérisé par la réceptivité sexuelle des femelles lors de la présence d'un mâle et a une durée de 18 à 72 h selon l'âge, la race, la situation géographique et le contact préalable avec un bélier (Evans et Maxwell, 1987; Goodman et Inskeep, 2006).

L'ovulation a lieu vers la fin de l'œstrus, soit entre 25 et 30 h après l'apparition des premiers comportements de réceptivité sexuelle (Evans et Maxwell, 1987; Baril *et al.*, 1993b; Goodman et Inskeep, 2006). À la suite de l'ovulation, les follicules ovulés se transformeront en corps jaunes qui persisteront pendant 12 à 14 jours si les ovules n'ont pas été fécondés ou jusqu'à la mise bas si la brebis est gestante (Baril *et al.*, 1993b). C'est la phase lutéale. Le corps jaune produit de la progestérone (Figure 2.1) qui est responsable de la préparation de l'utérus à recevoir un embryon et du maintien de la gestation (Evans et Maxwell, 1987). La progestérone libérée par le corps jaune atteint sa concentration sanguine la plus haute environ trois jours après l'ovulation (Bartlewski *et al.*, 2011). Cette activité stéroïdienne des cellules du corps jaune est sous le contrôle de la LH et de la prolactine hypophysaire (Baril *et al.*, 1993b). La progestérone libérée par le corps jaune agit négativement sur la sécrétion de la GnRH, ce qui empêche la libération de LH et de FSH, qui sont indispensables au développement folliculaire et à l'ovulation (Karsch *et al.*, 1977; Baril *et al.*, 1993a). Donc, lorsque la concentration de progestérone demeure élevée, aucun pic de LH ne peut être induit (Hauger *et al.*, 1977). S'il n'y a pas eu de fécondation, il y aura lutéolyse, c'est-à-dire destruction du ou des corps jaunes présents, qui sera initiée par les prostaglandines F2 α sécrétées par l'endomètre de l'utérus à la fin de la phase lutéale, à partir du jour 13 du cycle (Knickerbocker *et al.*, 1988; Baril *et al.*, 1993a; Abecia *et al.*, 2011). À la suite de la destruction des corps jaunes, l'effet inhibiteur de la progestérone sur la GnRH disparaît, et un nouveau cycle peut recommencer (Gordon, 1997).

2.1.3. La fécondation

La fécondation est le point culminant du cycle sexuel de la brebis et dépend entièrement du synchronisme entre la saillie et l'ovulation. Il faut donc connaître la durée de vie des spermatozoïdes et des ovules afin de bien évaluer les chances de fécondation. Les spermatozoïdes frais ont une durée de vie fécondante dans l'appareil génital des femelles qui se situe entre 30 et 48 h, tandis qu'un ovule peut garder son aptitude à la fécondation pour une durée de 16 à 24 h (Bonnes et Batellier, 2005). Dans les conditions naturelles, lors de la saillie, les spermatozoïdes doivent remonter entièrement le tractus reproducteur des femelles jusqu'au lieu de la fécondation, dans la partie médiane de l'oviducte (Figure 2.2). Ce « voyage » de la semence dure environ 9 h. Étant donné la durée de vie plus courte des ovules comparativement aux spermatozoïdes, il faut que le moment de la saillie soit fait en prenant en considération le temps du transport des spermatozoïdes. Ainsi, il faut que la saillie ait eu lieu avant l'ovulation pour que les spermatozoïdes soient présents au site de fécondation avant que l'ovule soit trop âgé (Bonnes et Batellier, 2005). En considérant la durée de vie des ovules et des spermatozoïdes et le temps de transport de ces derniers vers les ovules, la fécondation devrait avoir lieu vers la fin de la chaleur en conditions naturelles (Brice *et al.*, 1995b).

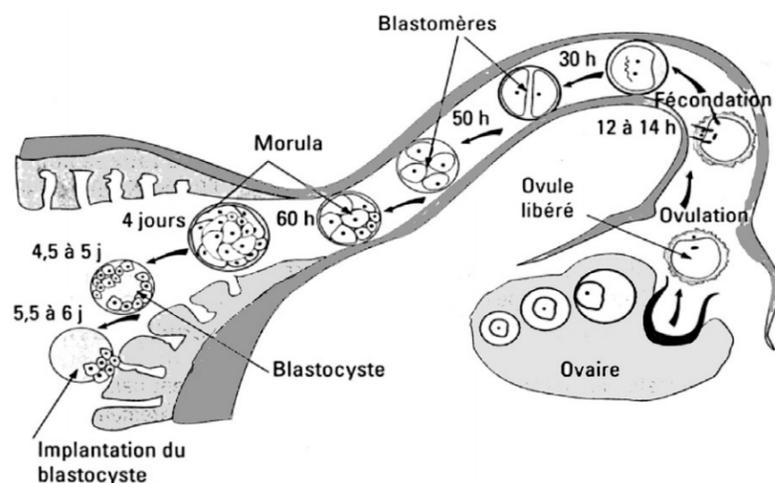


Figure 2.2 Migration de l'ovule et de l'embryon de l'oviducte vers l'utérus chez la brebis.

Brice *et al.* (1995b)

2.2. Particularités de l'utilisation de la semence congelée chez les ovins

La semence congelée peut être utilisée en insémination artificielle chez les ovins. Cette semence a comme avantage de se conserver sur une très longue période de temps, ce qui rend possible les échanges entre pays qui permettent d'assurer une diversité génétique chez les sujets de race pure. De plus, utilisée dans un contexte optimal, la semence congelée permet l'atteinte des taux de gestation élevés, de l'ordre de 70 % et plus, selon la qualité de celle-ci et la technique d'insémination utilisée (Fukui *et al.*, 1994; Hill *et al.*, 1998; Hiwasa *et al.*, 2009). Cependant, la semence ovine congelée est reconnue pour être moins fertile que la semence fraîche et est beaucoup plus sensible aux dommages causés par la congélation que la semence de taureau (Watson et Martin, 1972; Salamon et Maxwell, 1995a; Papadopoulos *et al.*, 2005). Cette section présente la problématique liée à la congélation de la semence ovine dans un contexte d'insémination artificielle. Elle permet de mieux comprendre les facteurs qui sont responsables de la perte de fertilité importante de la semence de bélier, après décongélation.

2.2.1. Étapes de préparation de la semence

Le processus de congélation et la préparation de la semence ont un impact direct sur sa fertilité de celle-ci. La dilution, la « cryoprotection », le refroidissement, la congélation, l'entreposage et la décongélation sont toutes les étapes qui peuvent influencer la structure et la fonction des spermatozoïdes (Tasseron *et al.*, 1977; Bailey *et al.*, 2003). Lors de la dilution, la semence est mélangée avec un diluant généralement à base de lait ou d'œuf. La dilution a trois fonctions principales reliées à sa composition : 1) les protéines ont un rôle tampon sur le pH et de protection des membranes des spermatozoïdes contre l'oxydation ; 2) les glucides comme le lactose maintiennent l'osmolarité et sont une source énergétique essentielle aux spermatozoïdes ; 3) les lipides qui composent le jaune d'œuf permettent de stabiliser les membranes des spermatozoïdes lors du refroidissement (Druart *et al.*, 2009). Lorsque le taux de dilution est élevé, l'activité métabolique et la viabilité des spermatozoïdes diminuent chez les taureaux et les béliers. Cela est causé par le mélange avec le diluant et l'absence de contact des spermatozoïdes avec les composants du plasma séminal (Garner *et al.*, 2001; Bailey *et al.*, 2003). C'est pour cette raison qu'il est conseillé

d'éviter une trop grande dilution afin d'assurer un taux de spermatozoïdes motiles maximal. C'est d'ailleurs ce qui a été montré par Ritar et Ball (1993) lors d'une expérience menée avec de la semence de bélier et de bouc. Ils ont évalué la motilité de la semence décongelée provenant de paillettes ayant des taux de dilution différents de 1:0,5, 1:1 et 1:2. Les résultats ont montré une augmentation de la motilité de la semence pouvant aller jusqu'à 73 % chez la semence diluée dans un ratio 1:0,5 comparativement à de la semence diluée 1:2. Cette étude a aussi mis en lumière que la composition de la paillette varierait selon le taux de dilution utilisé, indiquant que le diluant lui-même pourrait être responsable de cette perte de motilité suite à la décongélation (Ritar et Ball, 1993). Après la dilution, il y a un refroidissement de la semence à 5°C avant la congélation dans l'azote liquide. Cette dernière induit un stress à la membrane plasmique des spermatozoïdes. C'est pourquoi un agent qui protège de la congélation est ajouté au moment de la préparation de la semence (Bailey *et al.*, 2003). De nombreux produits sont utilisés comme cryoprotectant, tels le diméthyle sulfoxyde, l'éthylène glycol et, plus communément, le glycérol (Taşdemir *et al.*, 2013). Ces agents de protection, en plus des diluants, permettent de mieux protéger les cellules lors de la congélation puisque c'est l'étape la plus importante en termes de dommages à la membrane des spermatozoïdes. En effet, lorsque les spermatozoïdes sont congelés, il y a formation de cristaux de glace tout autour des cellules, créant un gradient osmotique des cellules vers l'espace extracellulaire, résultant en une déshydratation de celles-ci. À la décongélation, le phénomène inverse se produit, induisant une entrée d'eau substantielle dans les cellules qui a pour conséquence une déformation de celles-ci (Bailey *et al.*, 2003). Les agents cryoprotecteurs ont comme fonction de retarder la formation des cristaux de glace réduisant ainsi les dommages sévères aux cellules (Colas, 1975).

2.2.2. Effets de la congélation et décongélation

Le principal problème rencontré avec la semence congelée chez l'espèce ovine concerne sa qualité après décongélation. La congélation est réputée pour ses dommages plus importants chez l'espèce ovine que chez d'autres espèces comme les bovins (Salamon et Maxwell, 1995a). La semence de bélier est connue pour sa fragilité à la suite du processus de congélation-décongélation, réduisant grandement sa motilité et sa capacité à féconder un

ovule. En effet, les spermatozoïdes ayant été congelés ont une fertilité réduite causée par une durée de vie plus courte (Salamon et Maxwell, 1995a), un attachement plus faible des spermatozoïdes à l'ovule (Marshall et Nancarrow, 1993), des dommages à la membrane plasmatique (Hammerstedt *et al.*, 1990; Parks et Graham, 1992) et la capacitation prématurée des spermatozoïdes induite par la congélation (Watson et Martin, 1976; Pérez *et al.*, 1996). Il est reconnu depuis longtemps que le choc thermique créé par la congélation et la décongélation est responsable de la réduction du pourcentage de survie des spermatozoïdes, résultat des dommages qu'il cause au niveau structurel, biochimique et fonctionnel des cellules (Salamon et Maxwell, 1995a; Bailey *et al.*, 2003). La motilité massale semble être le premier paramètre affecté par le processus de congélation-décongélation. Ce paramètre est mesuré au microscope et détermine sur une échelle de 0 à 5 le mouvement des spermatozoïdes (0 étant une immobilité totale, 5 étant une motilité rapide avec tourbillons) (Baril *et al.*, 1993a). Une faible motilité rend difficile la montée des spermatozoïdes dans le tractus reproducteur des femelles et peut réduire grandement le taux de fertilité. Malgré le fait que la motilité puisse demeurer bonne après la décongélation (40-60 %), ce n'est qu'une petite proportion des spermatozoïdes qui conservent leur intégrité biologique et qui demeurent fertiles (20-30 %) (Salamon et Maxwell, 1995a). Donc, l'atteinte de l'ovule par les spermatozoïdes n'est pas synonyme de fécondation, puisqu'un spermatozoïde anormal peut conserver sa motilité, mais avoir subi une modification morphologique pendant le processus de congélation qui l'empêche de féconder l'ovule ou qui l'empêche d'avoir une trajectoire progressive. En effet, des dommages physiques aux membranes de l'acrosome et à l'acrosome lui-même peuvent empêcher le spermatozoïde de féconder l'ovule (Salamon et Maxwell, 1995a). C'est d'ailleurs pour cette raison que la motilité demeure une évaluation assez subjective de la qualité de la semence, car elle ne donne généralement aucune information sur la qualité physiologique des spermatozoïdes. En tentant de faire un lien entre la motilité et la fertilité de la semence, plusieurs chercheurs se sont rendu à l'évidence qu'aucune corrélation entre la perte de fertilité de la semence congelée de taureau et sa motilité n'était observable (Tasseron *et al.*, 1977; Bailey *et al.*, 1994). Le nombre de spermatozoïdes dont l'acrosome est endommagé serait réparti également entre les spermatozoïdes motiles et ceux qui ne le sont pas. Ainsi, lorsque 60 % des spermatozoïdes ont des acrosomes endommagés, il ne

reste qu'une petite partie de la semence motile qui a la capacité de féconder l'ovule (Tasseron *et al.*, 1977). C'est pourquoi lorsque le même nombre de spermatozoïdes motiles provenant de la semence congelée et de la semence fraîche est inséminé, le taux de fertilité est plus élevé chez les femelles ayant reçu de la semence fraîche, puisque ces spermatozoïdes sont moins endommagés (Watson, 1995).

La congélation a un effet sur certains événements physiologiques des spermatozoïdes qui sont nécessaires à la fécondation. C'est ainsi que plusieurs recherches ont mis en évidence l'effet « capacitant » de la congélation sur la semence (Bailey *et al.*, 2000; Bailey *et al.*, 2003; Cseh *et al.*, 2012). La capacitation fait partie de la série d'événements qui rend le spermatozoïde apte à se lier à l'ovule et qui induit la réaction acrosomale, en réponse au contact avec certaines glycoprotéines de la zone pellucide de l'ovule, et qui lui permet de pénétrer cette zone (Bailey *et al.*, 2003). Cette étape est obligatoire pour qu'il y ait fécondation. Il a été montré qu'il y a deux fois plus de spermatozoïdes capités dans la semence de taureau congelée que dans la semence fraîche et le même phénomène serait observable chez la semence de bélier (Bailey *et al.*, 2003). La maturation des membranes des spermatozoïdes causée par le processus de congélation-décongélation augmenterait de façon marquée le nombre de spermatozoïdes capités, réduisant ainsi leur durée de vie et leur fertilité (Cseh *et al.*, 2012). Cette situation serait responsable de la perte de fertilité des spermatozoïdes motiles et du déclin de leur capacité à se déplacer, puisque suivant la capacitation, la membrane plasmique des spermatozoïdes devient très fragile et est susceptible à la détérioration ou à des réactions acrosomales spontanées qui mèneront le spermatozoïde à la mort si la fécondation n'a pas lieu rapidement (Bailey *et al.*, 2003; Cseh *et al.*, 2012). Les acrosomes des spermatozoïdes ovins semblent subir une détérioration plus importante que la semence de taureau. Une étude sur le sujet a montré que les dommages sont plus sévères chez la semence de bélier, avec 48,3 % d'entre eux qui ont vu leurs acrosomes se séparer de la tête du spermatozoïde comparativement à 27,7 % chez les taureaux (Watson et Martin, 1972). Ce sont les dommages aux membranes causés par la congélation qui entraîneraient des défauts morphologiques menant à des acrosomes anormaux ou absents (Bailey *et al.*, 2000). Concrètement, ce serait seulement 11,3 % des spermatozoïdes qui ne montreraient aucun dommage de l'acrosome après décongélation

chez les béliers, comparativement à 28,7 % chez les taureaux (Watson et Martin, 1972). Ainsi, la détérioration des acrosomes des spermatozoïdes de la semence congelée serait responsable de la perte de fertilité, puisque la réaction acrosomale n'a pas lieu au bon moment.

La congélation de la semence a aussi un impact important sur son transport dans le tractus génital femelle. La semence congelée utilisée en insémination cervicale semble avoir plus de difficulté à pénétrer la partie crânienne du cervix que la semence fraîche, ce qui se traduit, 4 h après l'insémination, par un nombre de spermatozoïdes présent dans cette section du tractus reproducteur quatre fois plus élevé pour la semence fraîche que congelée (Mattner *et al.*, 1969). De la même manière, il a été montré que, 24 h après l'insémination, le nombre de spermatozoïdes présents dans le cervix (233 000), l'utérus (30 500) et les oviductes (12 000) étaient encore élevés chez les brebis ayant été inséminées avec de la semence fraîche contrairement à seulement 1 700 spermatozoïdes présents dans le cervix et aucune trace de spermatozoïdes dans l'utérus et les oviductes pour les brebis inséminées avec de la semence congelée (Mattner *et al.*, 1969). Ces données montrent qu'il serait possible que très peu de spermatozoïdes aient été en mesure de rejoindre l'utérus lors d'IA cervicale, expliquant le faible taux de fertilité observé, situé entre 6 et 50 %, à la suite de l'utilisation de cette technique en semence congelée (Salamon et Maxwell, 1995a). La viabilité des spermatozoïdes dans le tractus génital de la femelle est aussi plus faible pour la semence congelée que la semence fraîche, avec une durée de vie deux à trois fois plus courte (Salamon et Maxwell, 1995a). En effet, l'évaluation de la durée de vie de la semence fraîche de bélier dans le tractus reproducteur de la femelle a été estimée entre 30 et 48 h, comparativement à 18 à 35 h pour la semence décongelée (Lightfoot et Salamon, 1970b). Ainsi, la faible qualité de la semence décongelée serait responsable de la réduction du taux de fertilité important lors d'IA cervicale.

2.2.3. Concentration de la semence

Il existe une grande variation dans les concentrations de spermatozoïdes utilisées dans les paillettes de semence congelée. Cette concentration pourrait avoir une influence directe sur

le taux de fécondation, c'est pourquoi de nombreuses études se sont penchées sur le sujet, afin de déterminer la dose optimale de spermatozoïdes requise pour obtenir le taux de gestation le plus élevé. Il ne faut pas oublier que c'est la concentration en spermatozoïdes motiles à la suite de la décongélation qui est une référence, puisque ce sont les spermatozoïdes vivants ayant une motilité progressive qui auront le plus de chances de se rendre à l'ovule.

Dans la littérature, la concentration optimale semble assez large pour l'obtention d'un taux de fertilité acceptable, ce qui explique pourquoi les concentrations recensées sont si variables, passant de 0,5 à 104,5 millions de spermatozoïdes motiles par brebis inséminée pour des taux de gestation entre 29,3 et 80 % (Tableau 2.1). L'expérience de Fukui et al. (1993b) a testé cette observation en comparant trois concentrations de semence spécifique : 143, 71 et 36 millions de spermatozoïdes totaux. Les résultats des taux de gestation de ces trois concentrations de semence déposées par laparoscopie n'ont montré aucune différence significative entre les traitements (58,1, 59,4 et 67,9 % respectivement). Les mêmes conclusions s'appliquent à l'étude de Quintana Casares (1990), dans laquelle cinq concentrations différentes ont été utilisées pour des inséminations par laparoscopie, soit 23,3, 39,5, 58,6, 77,1 et 104,5 millions de spermatozoïdes. Les résultats n'ont montré aucune différence de taux de gestation entre les concentrations de 39,5, 58,6, 77,1 et 104,5 millions de spermatozoïdes (52,4, 57,1, 57,4 et 58,1 % de gestation respectivement). Seules les brebis inséminées avec la dose de 23,3 millions ont montré un taux de fertilité inférieur (40,5 %) à celles inséminées avec une dose de 77,1 et 104,5 millions (57,4 et 58,1 %). Il faut toutefois considérer que la concentration de la semence déposée n'explique pas toute la variation observée du taux de fertilité. Par exemple, de bons résultats de gestation ont été obtenus même avec une concentration moins élevée que celle normalement utilisée dans les grands centres d'insémination (Fukui *et al.*, 1993b).

Tableau 2.1 Taux de gestation des brebis suivant une insémination par laparoscopie en fonction du nombre de spermatozoïdes (spz) motiles décongelés inséminés

Référence	Nbre spz motiles (x 10 ⁶)	Taux de gestation (%) ^y
Quintana Casares <i>et al.</i> , 1990	104,5	58,1
Findlater <i>et al.</i> , 1991	83,2	67,0
Quintana Casares <i>et al.</i> , 1990	77,1	57,4
Quintana Casares <i>et al.</i> , 1990	58,6	57,1
Ishida <i>et al.</i> , 1999	56-70	61,8
Luther <i>et al.</i> , 2007	50,0	80,0
Maxwell, 1986b	50,0	62,1*
Maxwell et Butler, 1984	40,0	52,9
Quintana Casares <i>et al.</i> , 1990	39,5	52,4
Findlater <i>et al.</i> , 1991	41,6	56,0
Eppleston et Roberts, 1986	25,0	49,4*
Maxwell, 1986b	25,0	56,3*
Quintana Casares <i>et al.</i> , 1990	23,3	40,5
Findlater <i>et al.</i> , 1991	20,8	53,0
Walker <i>et al.</i> , 1989	20,0	57,3
Eppleston <i>et al.</i> , 1991	20,0	46,5-54,6
Maxwell, 1986a	20,0	50,8
Maxwell et Barnes, 1986	20,0	57,0
Maxwell, 1986b	20,0	53,1*
Findlater <i>et al.</i> , 1991	10,4	52,0
Salamon <i>et al.</i> , 1985	10,0	58,0
Maxwell, 1986b	10,0	53,1*
Maxwell, 1986b	5,0	38,8*
Smith <i>et al.</i> , 1999	1,0	50,6
Maxwell, 1986b	0,5	29,3*

^y Taux de gestation à l'échographie ou taux de gestation à l'agnelage (*)

Certaines études ont tenté d'établir une limite inférieure et supérieure à la concentration requise pour assurer l'atteinte d'un bon taux de fertilité. D'abord, il apparaît que

l'augmentation de la concentration en spermatozoïdes motiles à la décongélation au-delà de 20 millions n'augmente pas de façon significative le taux d'agnelage (Salamon *et al.*, 1985). D'ailleurs, Findlater *et al.* (1991) ont montré qu'une réduction du nombre de spermatozoïdes motiles de 104,4 à 23,0 millions n'avait pas d'impact négatif sur le taux de gestation des brebis. Il devient donc évident qu'une concentration très élevée de spermatozoïdes est inutile, puisqu'il n'y a pas d'augmentation significative de la fertilité des brebis et cela entraîne un gaspillage des éjaculats. Cependant, une dose trop faible peut résulter en des taux de fertilité décevants, notamment lorsque la dose est sous la barre des 20 millions de spermatozoïdes motiles par insémination, et ce malgré certaines réussites observées avec de faibles doses (Maxwell, 1986b; Smith *et al.*, 1999). Ainsi, une analyse du nombre de spermatozoïdes inséminé a montré une augmentation linéaire de la fertilité des brebis de 23,5 % à 53,1 % avec l'augmentation du nombre de spermatozoïdes motiles passant de 5 à 20 millions (Maxwell, 1986b). Dans une étude de Smith *et al.* (1999), des doses de 0,5, 1,5 et 25 millions de spermatozoïdes ont été comparées. Il y a eu un gain de fertilité à mesure que la dose augmentait, passant de 37,5 % à 55,5 % pour des doses de 0,5 et 25 millions respectivement. Le chercheur W. M. C. Maxwell en Australie conclut, à la suite de nombreuses recherches sur l'insémination intra-utérine, qu'une dose contenant un total de 20 millions de spermatozoïdes motiles et décongelés serait suffisante pour obtenir des taux de mise bas satisfaisants, de l'ordre de 50,8 % à 76,8 % (Maxwell *et al.*, 1984b; Maxwell *et al.*, 1984a; Maxwell, 1986b, a; Maxwell et Barnes, 1986). Il semble donc plus approprié d'utiliser des concentrations de spermatozoïdes motiles se situant entre 20 et 40 millions afin d'assurer la réussite de l'insémination tout en rentabilisant les éjaculats au maximum, comme le suggère les résultats des nombreuses études du Tableau 2.1.

En résumé, la semence ovine décongelée a une durée de vie plus courte, une motilité plus faible, une capacitation prématurée importante et une incapacité de se transporter adéquatement dans le tractus génital de la brebis. Toutes ces raisons seraient responsables de la perte importante de fertilité lors de l'utilisation de semence congelée en IA par voie cervicale (Lightfoot et Salamon, 1970b). C'est pourquoi de nombreuses études se sont penchées sur le développement de méthodes d'insémination alternatives, afin de déterminer laquelle serait la mieux adaptée à l'utilisation de la semence congelée.

2.3. Techniques d'insémination avec semence congelée

Il existe trois techniques d'insémination pouvant utiliser de la semence congelée chez les ovins. La première est la méthode cervicale, qui consiste à déposer la semence à l'entrée du col de l'utérus. La seconde technique est intra-utérine par laparoscopie. Elle consiste à déposer la semence directement dans les cornes utérines grâce à une chirurgie mineure. Finalement, la technique transcervicale consiste en la déposition de la semence dans le corps utérin en passant à travers le cervix. Chacune de ces techniques d'insémination possède ses avantages et inconvénients spécifiques. Toutefois, la littérature peut être en mesure de guider le choix de l'inséminateur vers une technique spécifique à certaines conditions.

2.3.1. Insémination cervicale

Le protocole généralement utilisé lors de l'utilisation de la méthode cervicale est une insémination à temps fixe suite à une synchronisation des chaleurs avec un implant de progestérone (éponge vaginale ou CIDR). L'insémination cervicale est effectuée à l'aide d'un pistolet à insémination contenant une paillette de semence et d'un spéculum. Elle consiste à déposer la semence à l'entrée du cervix ou dans le premier repli de celui-ci (Maxwell et Hewitt, 1986; Evans et Maxwell, 1987; Baril *et al.*, 1993a; Baril *et al.*, 1993b). Lorsqu'il s'agit de semence fraîche, l'insémination est effectuée entre 55 et 56 h suite au retrait de l'éponge vaginale (Maxwell *et al.*, 1984b; Haresign *et al.*, 1986; Baril *et al.*, 1993b), tandis qu'elle est effectuée plus tardivement lorsque la semence congelée est utilisée, soit autour de 60 h du retrait (Haresign *et al.*, 1986).

L'insémination cervicale est la technique de choix pour la semence fraîche, puisque cette méthode est relativement simple, peu dispendieuse et donne de bons résultats. Plusieurs résultats de recherche montrent des taux de gestation pouvant atteindre entre 70 et 82 % (Donovan *et al.*, 2004). Cependant, lorsqu'il est question de semence congelée, les résultats ont souvent été décevants, avec des taux de fertilité entre 0 et 48 % (Tableau 2.2). Toutefois, une exception existe : des résultats intéressants de l'ordre de 60 % sont obtenus fréquemment en Norvège sur plusieurs races locales, notamment la brebis Icelandic. Ces

résultats demeurent spécifiques à ce pays puisqu'ils n'ont pas pu être reproduits ailleurs avec la même constance (Olesen, 1993).

Tableau 2.2 Comparaison du taux de gestation des brebis (%) à la suite d'une insémination cervicale ou intra-utérine par laparoscopie avec semence congelée

Références	Insémination cervicale	Insémination intra-utérine
Haresign <i>et al.</i> , 1986	48 %	50 %
Maxwell et Hewitt, 1986	18 %	50-80 %
Quintana Casares <i>et al.</i> , 1990	14 %	41-58 %
King <i>et al.</i> , 2004	42 %	69 %
Anel <i>et al.</i> , 2005	31 %	45 %
Fair <i>et al.</i> , 2005	19 %	54 %
Hiwasa <i>et al.</i> , 2009	0 %	50-80 %

La faible fertilité obtenue avec cette technique peut être expliquée par deux raisons principales : 1) l'anatomie particulière du cervix chez la brebis rend difficile le passage des spermatozoïdes (Salamon et Maxwell, 1995b) ; 2) la cryoconservation de la semence cause des dommages aux spermatozoïdes qui réduisent considérablement leur motilité (Section 2.2.2). Le cervix (col de l'utérus) est situé entre le vagin et l'utérus et mesure généralement entre six et neuf centimètres chez la brebis (Donovan *et al.*, 2001; Kaabi *et al.*, 2006) (Figure 2.3). Il est composé de tissus muqueux, de tissus musculaires et de collagène formant entre trois et sept anneaux rigides étroits et non alignés appelés anneaux cervicaux (Halbert *et al.*, 1990c). Cette anatomie particulière à la brebis montre une grande variabilité entre les races et les sujets concernant ses caractéristiques morphologiques, notamment au niveau de la longueur, du nombre d'anneaux, de son diamètre et de la distance entre les anneaux (Halbert *et al.*, 1990c). Par exemple, certaines races, comme la Suffolk (SU) et la Texel (TX), qui semblent être moins fertiles à la suite d'une insémination cervicale avec de la semence congelée, auraient des cervix plus longs (10,2 et 9,6 vs 7,7 et 8,3 cm), plus larges et comportant plus d'anneaux que les races Finnish Landrace (FL) ou Scottish Blackface (SB) qui obtiennent de meilleurs taux de fertilité dans les mêmes conditions d'IA

(61 et 44 % pour FL et SB vs 31 et 12 % pour TX et SU) (Donovan *et al.*, 2001). De plus, il a été suggéré que le nombre de replis augmenterait avec l'âge et la parité, rendant les inséminations plus difficiles chez les brebis plus âgées (Halbert *et al.*, 1990c). Le col utérin constitue ainsi une barrière physique importante pour la progression vers l'oviducte des spermatozoïdes fragilisés par le processus de congélation-décongélation (Maxwell *et al.*, 1984b). En fait, c'est le trajet long et sinueux que doivent emprunter les spermatozoïdes fragilisés qui serait responsable des piètres résultats de fertilité de la technique cervicale avec semence congelée (Donovan *et al.*, 2001). De plus, la rigidité des replis et le fait que ceux-ci soient désalignés rendent le passage d'un pistolet d'insémination standard de 4,5 mm de diamètre à travers le cervix presque impossible (Evans et Maxwell, 1987; Donovan *et al.*, 2001). Ce désalignement est responsable de la difficulté des inséminateurs à faire pénétrer le pistolet d'insémination à travers la totalité des anneaux cervicaux pour déposer la semence dans l'utérus comme cela se fait chez la vache.

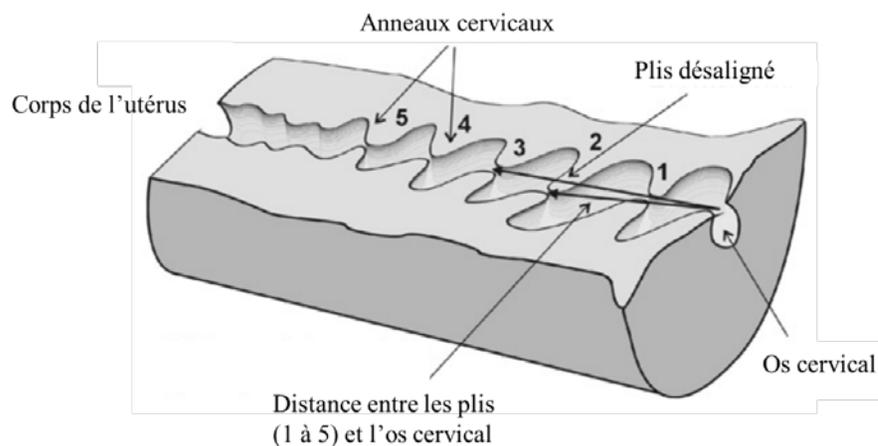


Figure 2.3 Représentation schématique du cervix chez la brebis.

Adapté de Kaabi *et al.* (2006)

Globalement, les taux de fertilité obtenus en insémination cervicale avec semence congelée ne sont pas encore acceptables pour une utilisation commerciale. Afin de contourner le problème de fertilité dû au dépôt de la semence à l'entrée du cervix, des approches alternatives ont été développées afin de déposer la semence directement dans l'utérus et

ainsi espérer obtenir de meilleurs taux de fertilité : l'insémination par laparoscopie et l'insémination transcervicale.

2.3.2. Insémination intra-utérine par laparoscopie

La laparoscopie est utilisée depuis les années 60 chez les ovins (Harrison et Wilds, 1980). À cette époque, cette technique servait à observer le système reproducteur des femelles grâce à un optique en fibre de verre et une tige de manipulation qui étaient introduits dans la cavité abdominale de l'animal par des ensembles trocars-canules (Roberts, 1968). Elle était utilisée pour des diagnostics de gestation, vérifier le taux d'ovulation et étudier l'activité ovarienne (Phillippo *et al.*, 1971; Bindon *et al.*, 1979). La technique a ensuite été utilisée pour améliorer les résultats de fertilité en insémination avec semence congelée en permettant le dépôt de la semence directement dans les cornes utérines via la cavité abdominale. Dans la littérature, il apparaît que cette technique intra-utérine est la mieux adaptée à l'utilisation de la semence congelée chez les ovins (King *et al.*, 2004). La laparoscopie permet de passer par-dessus la barrière physique que constitue le cervix des brebis ce qui permet une amélioration de la fertilité lors de l'utilisation de la semence congelée par rapport à l'insémination cervicale (Haresign *et al.*, 1986; Evans, 1988; Donovan *et al.*, 2001; Candappa et Bartlewski, 2011). Concrètement, cette technique consiste à faire deux petites incisions sur l'abdomen d'une brebis, maintenue tête en bas sur une table de chirurgie (angle d'environ 40 degrés), afin de pouvoir y insérer deux ensembles canules-trocarts : une canule servira pour l'endoscope alors que l'autre servira pour la tige de manipulation et le pistolet d'insémination (Baril *et al.*, 1993b). Une fois les ensembles canules-trocarts en place, les trocars sont retirés et l'endoscope ainsi que la tige de manipulation peuvent y être insérés. L'endoscope est un optique en fibre de verre qui permet d'éclairer l'intérieur de la cavité abdominale afin de bien visualiser les cornes utérines. Une fois celles-ci bien placées grâce à la tige de manipulation, cette dernière est retirée afin de laisser place au pistolet d'insémination dans lequel on aura placé une paillette de semence décongelée. Au bout du pistolet, une aiguille permet l'injection de la semence directement dans la lumière de chacune des cornes utérines (Figure 2.4).

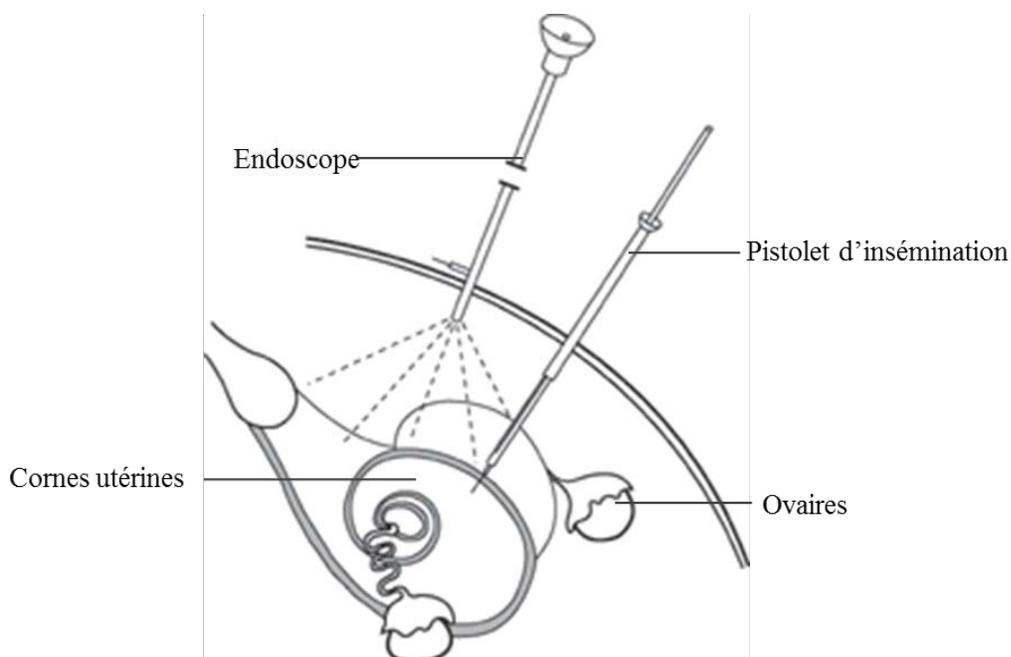


Figure 2.4 Illustration d'une insémination par laparoscopie. Vue latérale du système reproducteur femelle ainsi que les principaux instruments, l'endoscope et le pistolet d'insémination.

Adapté de Chemineau *et al.* (1991)

Les taux de gestation obtenus avec la méthode par laparoscopie sont très variables selon les recherches. De très bons résultats de l'ordre de 70 à 90 % ont été obtenus par plusieurs équipes de recherche (McKelvey *et al.*, 1985; Wulster-Radcliffe et Lewis, 2002), certaines affirmant que l'insémination par laparoscopie est en mesure d'obtenir les mêmes taux de gestation que l'accouplement naturel en saison de reproduction (Maxwell *et al.*, 1984b; Maxwell et Hewitt, 1986; Evans, 1991). D'autre part, plusieurs chercheurs ont aussi obtenu des résultats décevants de l'ordre de 35 à 50 % (Maxwell *et al.*, 1984b; Haresign *et al.*, 1986; Fukui *et al.*, 2010). Cette grande variation des résultats s'explique par de nombreux facteurs : la méthode de congélation de la semence, le site de déposition de la semence congelée, l'effet de l'inséminateur, le moment de l'insémination, la race des brebis, le protocole de synchronisation des chaleurs utilisé et les conditions environnementales qui diffèrent d'une étude à l'autre.

Le site de déposition de la semence est très important en insémination par laparoscopie puisque c'est un facteur qui peut être responsable des variations de la fertilité (Killeen et Moore, 1970; Salamon et Maxwell, 1995a). Lors de l'insémination, la semence peut être déposée dans le corps de l'utérus ou dans ses cornes. Lorsque la semence congelée est injectée dans le corps de l'utérus, le taux de fertilité est plus bas que celui observé lorsqu'elle est déposée dans les cornes utérines (Jabbour et Evans, 1991). En effet, lors d'une expérience effectuée avec de la semence fraîche et congelée, il a été montré que l'insémination directement dans les cornes utérines permettait l'atteinte d'un taux de fertilité supérieur aux inséminations directement dans le corps de l'utérus (75 vs 27 %) puisque la semence est déposée plus près du site de fécondation (Maxwell *et al.*, 1993). Encore plus précisément, les chercheurs identifient trois régions : la partie supérieure, le centre et la base de la corne. Cependant, une expérience ne montre aucune différence significative du taux de fertilité des brebis lorsque l'insémination a lieu à l'extrémité supérieure, au centre et à la base des cornes utérines (Maxwell, 1986b). Toutefois, l'endroit du dépôt de la semence dans les cornes semble avoir eu un effet sur la prolificité des brebis. En effet, les brebis ayant été inséminées au centre des cornes ont eu des tailles de portée plus élevées (0,85 agneau/brebis inséminée) que celles ayant été inséminées à la base ou à l'extrémité supérieure (0,53 et 0,65 agneau/brebis inséminée) (Maxwell, 1986b). La déposition de la semence dans une ou les deux cornes aurait aussi une influence sur la fertilité (Maxwell, 1986b). Le dépôt de semence congelée dans chacune des cornes augmenterait les chances de fécondation, puisqu'il assure la présence de la semence à l'endroit où il y a un maximum d'ovulations (Maxwell, 1986b). Cependant, d'autres chercheurs n'ont pas été en mesure de montrer un effet significatif de l'insémination dans une ou deux cornes, concluant que le même taux de fertilité pouvait être atteint (Evans et Armstrong, 1984; Eppleston et Roberts, 1986). Ainsi, il semble que le fait d'inséminer dans une seule corne ne va pas nécessairement réduire la fertilité, mais aurait plutôt un effet sur la prolificité; si des ovulations ont eu lieu dans la corne qui n'a pas reçu de semence, le nombre d'ovules fécondés sera réduit. Toutefois, en pratique, le dépôt de semence dans les deux cornes est recommandé (Baril *et al.*, 1993b).

L'insémination intra-utérine par laparoscopie présente plusieurs avantages par rapport aux autres techniques d'insémination avec semence congelée. D'abord, l'intervention ne demande qu'une fraction du nombre de spermatozoïdes qui serait nécessaire pour l'insémination cervicale, ce qui permet une dissémination plus large du matériel génétique des béliers améliorateurs grâce à un nombre de paillettes plus élevé produit par éjaculat (Haresign *et al.*, 1986; Donovan *et al.*, 2001). De plus, il a été montré que le taux de gestation suivant une insémination était supérieur pour les brebis ayant été inséminées par laparoscopie par rapport à celles ayant été soumises à la méthode cervicale (Tableau 2.2). L'insémination intra-utérine par laparoscopie est la seule qui assure une perte de fertilité minimale de la semence puisqu'elle est injectée près du site de la fécondation (Anel *et al.*, 2006). Cela permet l'utilisation de semence moins performante avec un taux de motilité qui pourrait être plus faible que la semence utilisée en insémination cervicale. De cette manière, il est possible de diffuser le matériel génétique des béliers dont la production spermatique est faible ou de moins bonne qualité, mais dont les qualités génétiques sont recherchées (Baril *et al.*, 1993b; Evans *et al.*, 2004). Aussi, il apparaît que la technique par laparoscopie offre une marge de temps plus grande pour le choix du moment de l'insémination que lorsque la semence est déposée au niveau du cervix (Maxwell, 1986a; Anel *et al.*, 1992), ce qui facilite l'élaboration d'un protocole efficace avec un grand nombre de brebis. Finalement, l'utilisation de la laparoscopie permet d'observer l'utérus et les ovaires lors de l'insémination, ce qui permet de révéler des anomalies impossibles à voir avec les autres techniques comme des adhésions utérines ou ovariennes, une malformation ou un sous-développement du système reproducteur, des pathologies et des gestations imprévues, ce qui réduit au maximum les inséminations inutiles sur des brebis présentant des problèmes de fertilité (Anel *et al.*, 2006).

Cependant, malgré les nombreux avantages de cette méthode, il n'en demeure pas moins que certains désavantages réduisent son utilisation au niveau commercial. En effet, cette procédure est invasive et exige l'expertise d'un vétérinaire (Donovan *et al.*, 2001; Candappa et Bartlewski, 2011). Cette méthode est aussi dispendieuse, tant par le prix de la main-d'œuvre que par l'équipement nécessaire (Donovan *et al.*, 2001; Candappa et Bartlewski, 2011), ce qui peut empêcher certains producteurs d'y avoir accès, surtout ceux

ayant de petits troupeaux et de faibles revenus (Evans, 1991). De plus, les résultats sont parfois très en deçà de ceux observés dans la littérature. Cette situation a été étudiée par différents chercheurs et il apparaît que les moins bonnes performances parfois observées lors d'inséminations par laparoscopie pourraient être expliquées en partie par la manipulation de l'utérus qui interférerait avec le transport des ovules vers le site de nidification et qui résulterait en leur expulsion mettant fin à la gestation (Bolend et Gordon, 1978; McKelvey *et al.*, 1985). Une mortalité embryonnaire élevée pouvant aller jusqu'à 47 % chez les brebis ayant subi une insémination intra-utérine a également été mise en évidence, probablement due à des blessures au niveau de l'utérus durant l'opération et à l'utilisation de la semence congelée (Mattner *et al.*, 1969; Lightfoot et Salamon, 1970a; Salamon *et al.*, 1979). Cependant, cette hypothèse ne fait pas consensus puisqu'une évaluation de l'utérus quelques jours après l'insémination par l'équipe de McKelvey *et al.* (1985) a montré que dans la majorité des cas, il était difficile de localiser l'endroit d'introduction de l'aiguille d'insémination et aucune adhésion n'était notable. Cette équipe de chercheurs n'a pas non plus observé une mortalité embryonnaire plus élevée, ce qui montre que d'autres recherches sur le sujet devraient être faites afin de déterminer de façon scientifique si la chirurgie peut être responsable d'un taux de gestation plus faible. Puisque très peu de recherches ont mis en lumière un problème relatif à la chirurgie, il est raisonnable de croire que cette opération effectuée sur une brebis en bonne santé ne devrait pas être responsable d'une perte de fertilité importante. Finalement, l'insémination intra-utérine par laparoscopie est considérée comme la méthode qui inflige le plus de stress aux brebis lors de l'intervention comparativement aux autres techniques d'insémination (Cappai *et al.*, 1998; Candappa et Bartlewski, 2011).

Bref, l'insémination par laparoscopie est une technique qui permet l'atteinte d'un taux de gestation intéressant en semence congelée. Toutefois, le stress engendré par les manipulations et les coûts associés à l'intervention réduisent son utilisation à grande échelle. C'est pourquoi d'autres techniques alternatives ont été étudiées. Il s'agit des techniques transcervicales.

2.3.3. Insémination transcervicale

L'insémination transcervicale est une technique d'insémination intra-utérine qui se caractérise par le dépôt de la semence directement dans l'utérus grâce au passage complet d'un pistolet d'insémination à travers le cervix (Baril *et al.*, 1993b). Cette technique nécessite l'utilisation d'instruments adaptés à l'anatomie du cervix des brebis afin de pouvoir traverser ce passage (Wulster-Radcliffe et Lewis, 2002). En effet, un pistolet d'insémination standard est trop rigide et possède un diamètre trop élevé (4,5 mm) pour pouvoir franchir entièrement le cervix. C'est pourquoi certains chercheurs ont développé des pipettes d'insémination plus flexibles avec une pointe recourbée facilitant le passage à travers les anneaux du cervix (Halbert *et al.*, 1990a; Buckrell *et al.*, 1994).

Il existe plusieurs méthodes d'insémination transcervicale, mais deux approches se démarquent des autres : la physique et la pharmacologique. La première est physique, c'est-à-dire qu'elle utilise un pistolet d'insémination modifié à bout recourbé afin de pouvoir atteindre l'utérus. Parfois, des forceps sont aussi utilisés afin d'aligner le plus possible les anneaux du cervix dans le but de diminuer les obstructions et atteindre plus facilement l'utérus (Halbert *et al.*, 1990a; Halbert *et al.*, 1990b). La « méthode de Guelph » est la plus connue au Canada. Toutefois, la pénétration de la pipette jusqu'à l'utérus n'est pas possible chez tous les sujets. En effet, un taux de pénétration entre 60 et 82 % est possible lorsque les IA sont effectuées par un inséminateur expérimenté (Halbert *et al.*, 1990a; Halbert *et al.*, 1990b). Lorsque le dépôt de la semence directement dans l'utérus est impossible, il est conseillé de faire pénétrer la tige le plus profondément possible dans le but d'augmenter les chances de fécondation, pourvu qu'il n'y ait aucune blessure causée par les manipulations. Selon Eppleston *et al.* (1994), il est permis d'espérer une augmentation de la fertilité de 7 à 12 % pour chaque centimètre de pénétration de plus.

L'insémination transcervicale par voie physique n'a pas montré l'atteinte de très haut taux de fertilité dans la littérature et demeure moins efficace que la technique par laparoscopie pour la semence congelée (Tableau 2.3). De plus, la variabilité des résultats est très grande, il est donc difficile de prévoir l'atteinte d'un taux de fertilité moyen lors de l'utilisation de

cette technique. Toutefois, lorsque les chercheurs considèrent seulement les brebis dont le cervix a pu être totalement traversé, les taux de fertilité augmentent substantiellement, permettant un gain de 8 à 22 % (Halbert *et al.*, 1990a; Windsor *et al.*, 1994).

Tableau 2.3 Comparaison du taux de gestation des brebis (%) à la suite d'une insémination intra-utérine transcervicale par voie physique ou par laparoscopie avec semence congelée

Références	Insémination transcervicale	Insémination par laparoscopie
Windsor <i>et al.</i> , 1994	26 %	48 %
	19 %	39 %
Cappai <i>et al.</i> , 1998	7 %	62 %
Wulster-Radcliffe <i>et al.</i> , 2004	17,2 %	61 %

¹Taux de fécondation des ovules

Il faut aussi considérer un autre aspect négatif de cette technique. Les pipettes utilisées lors d'inséminations transcervicales peuvent créer des lésions cellulaires sur toute la longueur du cervix (Campbell *et al.*, 1996). Cela pourrait entraîner des traumatismes et des infections chez les brebis (Anel *et al.*, 2006; Candappa et Bartlewski, 2011). De plus, la manipulation du col de l'utérus est un évènement inhabituel chez la brebis. En situation naturelle, le bélier dépose sa semence dans le vagin sans passer le cervix. Le fait de manipuler cette région pourrait être responsable d'une série d'évènements physiologiques comme la sécrétion d'ocytocine et l'activation du système immunitaire pour la production d'un spermicide qui serait responsable de la perte de fertilité des brebis (Raynal et Houdeau, 2004; Wulster-Radcliffe *et al.*, 2004).

La seconde technique d'insémination transcervicale est pharmacologique. Elle utilise des hormones impliquées dans la dilatation du col utérin, comme l'ocytocine et la prostaglandine E₂ (PGE₂), dans le but de faciliter le passage d'un pistolet d'insémination à travers le cervix. L'ocytocine est une hormone importante lors de la parturition. Son action conjointe avec les prostaglandines exerce un effet sur les muscles utérins et permet une

dilatation du col. Cette dilatation est aussi observable lors de l'œstrus des brebis, c'est pourquoi cette hormone a été testée en insémination transcervicale dans le but de dilater le cervix. Cependant, l'efficacité de l'injection d'ocytocine demeure controversée et les risques de blessures sont toujours présents (King *et al.*, 2004; Kaabi *et al.*, 2006). En effet, l'ocytocine permettrait un taux de pénétration du cervix chez un plus grand nombre de brebis sans toutefois permettre l'atteinte d'un plus haut taux de fertilité (Sayre et Lewis, 1997; Anel *et al.*, 2006). Les prostaglandines ont aussi été testées afin de dilater le col puisqu'il est reconnu que naturellement, l'augmentation de la concentration d'œstrogènes mène à une augmentation de la sécrétion de prostaglandines lors de la parturition et l'œstrus. La sécrétion de PGE₂ serait en partie responsable du relâchement des muscles du cervix. Quelques prostaglandines de synthèse existent déjà sous différentes formes, comme une gélatine (Misoprostol, Cytotec[®]) ou un implant vaginal (Cervidil[®]). Le Misoprostol permettrait une meilleure pénétration du cervix par un pistolet d'insémination, avec une pénétration allant jusqu'à 8 cm (Leethongdee *et al.*, 2007). L'utilisation de l'implant vaginal Cervidil[®] a permis d'obtenir un taux de passage du pistolet d'insémination dans le cervix de 75 %, augmentant le taux de fertilité des inséminations transcervicales à 50 % chez la brebis dont le cervix a été traversé (Candappa *et al.*, 2009). D'autres produits ont été testés dans la littérature, mais les résultats n'ont pas montré une amélioration significative de la pénétration du cervix. Des études plus poussées devront être effectuées sur un nombre important de sujets afin de déterminer précisément l'impact de l'utilisation de ces hormones sur le milieu utérin, la fertilité des brebis ou la motilité de la semence.

L'insémination transcervicale est donc une technique qui n'a pas encore montré un succès important dans la littérature, notamment à cause des risques de blessures qui peuvent être induits chez les brebis et les taux de fertilité très variables qui sont obtenus (Donovan *et al.*, 2004). Ainsi, même si l'insémination par laparoscopie est la plus complexe et coûteuse des techniques d'insémination, elle semble être celle qui permet l'atteinte des meilleurs taux de gestation et les moins variables en semence congelée.

2.4. Protocoles d'insémination avec semence congelée

2.4.1. Synchronisation de l'œstrus en saison sexuelle

Pour réaliser des inséminations chez l'espèce ovine, il est nécessaire de synchroniser les chaleurs des brebis. Cette obligation vient du fait que l'élevage des femelles se fait en groupes et que les chaleurs sont difficilement observables chez les animaux libres. Cette synchronisation permet aussi de mieux planifier le travail en s'assurant que les brebis composant un groupe d'insémination soient en œstrus sur une période de temps relativement courte dans le but de mieux regrouper les ovulations et donc les inséminations (Evans et Maxwell, 1987). Cette étape fait partie intégrante de la technique d'insémination et elle doit suivre un protocole qui s'harmonise à la méthode d'insémination utilisée afin d'assurer une induction des chaleurs maximale et établir ainsi un environnement propice à la fécondation. Il faut que les brebis puissent être inséminées la même journée afin de préparer un chantier d'insémination efficace et bien ordonné. La majorité des protocoles d'insémination fixe le dépôt de la semence à un nombre d'heures précis du retrait de l'implant de progestérone. La technique de synchronisation des chaleurs devient donc très importante puisqu'elle permet d'induire les chaleurs sur une courte période de temps pour un maximum de brebis et ainsi assure l'induction d'un pic de LH et ultimement une ovulation en même temps pour tout le groupe de brebis à inséminer. De cette manière, les chances de succès de l'insémination sont augmentées.

2.4.1.1. Traitement à la progestérone

Depuis les années 1960, il a été montré que les traitements à la progestérone permettent de bloquer la venue en chaleur des brebis et provoquent l'œstrus une fois le traitement de progestérone exogène terminé. Plusieurs produits progestatifs sont disponibles sur le marché mondial pour induire et synchroniser les chaleurs chez les petits ruminants. Les éponges vaginales constituées d'une mousse de polyuréthane imprégnée d'un progestagène (acétate de médroxyprogestérone – MAP ou acétate de fluorogestone – FGA) sont très utilisées et sont reconnues pour leur efficacité dans l'induction des chaleurs (Shackell, 1991; Fukui *et al.*, 1999). Il y a aussi un type de traitement à la progestérone par voie orale, l'acétate de mélangestrol (MGA). Un autre produit existe également, il s'agit du CIDR

(« Controlled Internal Drug Release »). Il a été développé en Nouvelle-Zélande dans les années 80 et à récemment fait son apparition au Canada (Welch *et al.*, 1984). Cet implant de progestérone naturelle est surtout utilisé dans le but d'induire les chaleurs en contre-saison sexuelle (Ainsworth et Downey, 1986). Depuis 2009, c'est le seul type d'implant progestatif disponible pour la synchronisation des chaleurs des ovins au Canada. Cette section sera donc consacrée exclusivement à ce produit.

Le CIDR est un dispositif en plastique recouvert d'un élastomère de silicone médical auquel est attaché une corde de nylon et qui contient 0,3 g de progestérone naturelle. Généralement, le protocole d'utilisation consiste en l'insertion de l'implant dans le vagin de la brebis pour une période de 12 à 14 jours avec une injection d'eCG (« Equine Chorionic Gonadotrophin »), une gonadotrophine qui favorise l'ovulation (Welch *et al.*, 1984; Hill *et al.*, 1998; Luther, 2008; Abecia *et al.*, 2011). Pendant cette période, le CIDR libère de la progestérone dans le sang ce qui bloque la venue en chaleur des brebis en inhibant la sécrétion de GnRH. Ce traitement de progestérone veut reproduire la phase lutéale du cycle de la brebis, d'où la durée spécifique d'insertion de 12 à 14 jours (Santolaria *et al.*, 2011). Dans les heures qui suivent le retrait de l'implant, il y a une chute de la concentration sanguine de progestérone, créant les réactions hormonales (augmentation de la sécrétion de la GnRH, de la FSH et de la LH) qui induiront une vague folliculaire et un pic de LH dans les 10 à 40 h suivant le retrait (Fukui *et al.*, 1994; Luther, 2008).

Malgré l'efficacité reconnue des CIDR pour l'induction des chaleurs dans la littérature, les résultats diffèrent beaucoup d'une étude à l'autre concernant le taux d'induction des chaleurs, le moment de la chaleur, du pic de LH et de l'ovulation, ce qui complique l'interprétation de l'efficacité des protocoles utilisés en insémination intra-utérine. La Figure 2.5 résume la grande variation de l'occurrence des événements physiologiques qui suivent le retrait du CIDR tels que rapportés dans la littérature (Smith *et al.*, 1988; Shackell, 1991; Knight *et al.*, 1992; Thompson *et al.*, 1992; Fukui *et al.*, 1999; Godfrey *et al.*, 1999). Lorsque le moment du début de la venue en chaleur est étudié, il y a une grande variation des résultats entre les études. En effet, le début de l'œstrus varie généralement entre 12 h et

41 h suivant le retrait des CIDR et une injection d'eCG, avec une moyenne se situant autour de 30 h. Le pic de LH semble être l'évènement physiologique dont la variation est la plus élevée avec des valeurs se situant entre 10 h et 44 h suivant le retrait du CIDR, avec une moyenne autour de 25 h. Finalement, le moment de l'ovulation a lieu plusieurs heures après le début de la chaleur et le pic de LH, avec une moyenne vers 55 h pour des écarts entre 49 et 72 h.

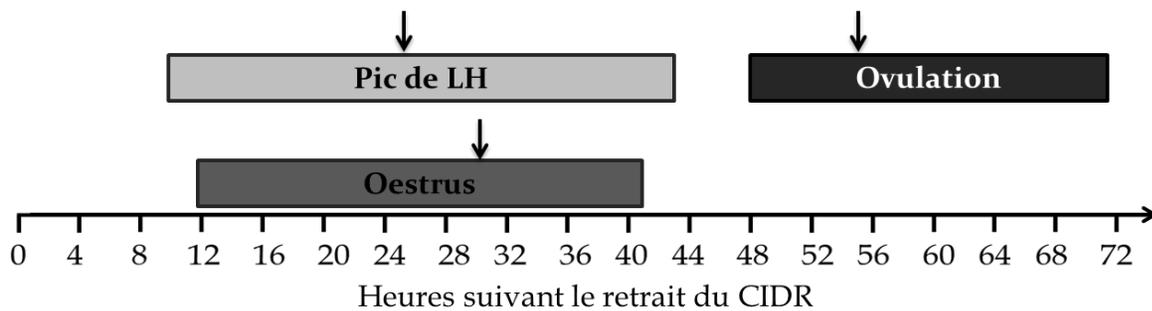


Figure 2.5 Variabilité de l'occurrence des événements physiologiques qui suivent le retrait d'un CIDR chez la brebis. L'étendue des rectangles illustre les variations de valeurs (minimum et maximum) alors que les flèches montrent la moyenne du début de l'oestrus, du pic de LH et de l'ovulation des études recensées.

Adapté de Smith *et al.*, 1988; Shackell, 1991; Knight *et al.*, 1992; Thompson *et al.*, 1992; Fukui *et al.*, 1999; Godfrey *et al.*, 1999

La majorité des essais concernant le moment de l'induction des chaleurs des brebis suite à un traitement de synchronisation réalisé au CIDR ont été faits en contre-saison sexuelle, moment de l'année où la synchronisation des chaleurs est la plus utilisée afin de permettre des agnelages à longueur d'année. Ces résultats peuvent toutefois donner de bonnes indications sur ce qui pourrait se passer en saison sexuelle. Il semble qu'en contre-saison, la venue en chaleur des brebis Suffolk apparaît entre 18 et 24 h chez 93 % des brebis suite au retrait du CIDR et à une injection de 600 U. I. d'eCG la veille du retrait (Fukui *et al.*, 1994). Cet intervalle de temps n'est toutefois pas appuyé par tous les chercheurs, comme en témoigne l'étude d'Ozyurtlu *et al.* (2010) effectuée aussi en contre-saison, mais avec la race tropicale Awassi. Dans cette étude, 90 % des brebis ont montré une chaleur qui a eu lieu beaucoup plus tardivement, soit en moyenne à $35,2 \pm 1,6$ h suivant l'injection de

400 U. I. d'eCG au retrait du CIDR. Ces études représentent bien la variabilité du moment de l'induction de l'œstrus qui est observable chez la brebis. Il faut toutefois prendre en considération que les races des brebis des deux études étaient différentes, tout comme le moment de l'injection d'eCG, ce qui peut avoir eu une influence sur le moment de l'induction de l'œstrus.

En ce qui concerne son effet sur la concentration sanguine de progestérone, il existe certaines contradictions entre les brebis pendant la durée de l'insertion du CIDR et à la suite du retrait de celui-ci. Ces différences observées entre les équipes de recherche peuvent expliquer les résultats parfois très différents dans la littérature concernant le taux d'induction des chaleurs et l'heure de venue en chaleur des brebis. Selon les études menées par Ainsworth et Downey (1986), il y a induction d'un pic de progestérone seulement deux heures après l'insertion de l'implant, suivie d'une diminution graduelle jusqu'au retrait, contrairement à ce qui a été observé par Wheaton *et al.* (1993) qui affirment que le pic de progestérone a lieu seulement après 24 h et demeure stable durant les 12 j de l'insertion. La courbe généralement observée en saison sexuelle pour des traitements de longue durée (Ainsworth et Downey, 1986; Hamra *et al.*, 1986; Carlson *et al.*, 1989; Wheaton *et al.*, 1993; Ali *et al.*, 2009) débute avec une hausse importante de la progestérone dans les deux premiers jours suivant la pose du CIDR, avec l'atteinte d'un pic 24 à 72 h suivant la pose (Figure 2.6). Il s'en suit une chute progressive, jusqu'au retrait du CIDR. À ce moment, la concentration de progestérone est basse, avec des valeurs sous les 2 ng/ml. Suivant le retrait, le taux de progestérone sanguin chute jusqu'à un niveau s'approchant du niveau basal de 0 ng/ml. Sachant que la chute de progestérone est un signal important pour la suite des évènements physiologiques menant à l'ovulation, la faible concentration de progestérone au retrait du CIDR pourrait avoir un impact sur l'efficacité du traitement à induire la venue en chaleur des brebis. Cette chute de progestérone affecterait le moment du pic de gonadotrophines, modifiant ainsi le moment de l'ovulation attendu (Jeffcoate *et al.*, 1984).

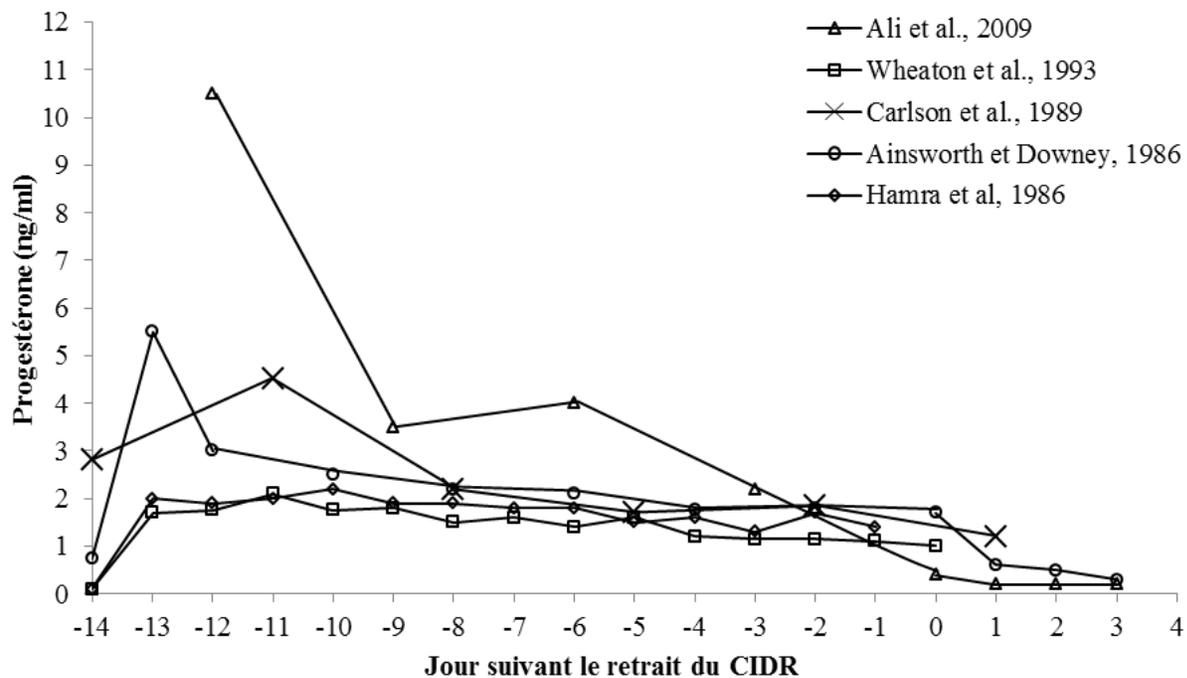


Figure 2.6 Concentration du taux de progestérone dans le sang des brebis lors d'un traitement au CIDR de 12 ou 14 j en saison sexuelle selon diverses études.

Il semblerait que de nombreux facteurs interviennent dans l'efficacité de l'induction des chaleurs suite à des traitements hormonaux de synchronisation, comme la race de la brebis, son état de chair, son état physiologique, son poids ou l'environnement dans lequel elle évolue. Toutefois, certains résultats insatisfaisants pourraient provenir du fait que les protocoles présentement utilisés avec les CIDR sont souvent des copies de ce qui est fait avec les éponges vaginales (Wildeus, 2000). Comme mentionné précédemment, le protocole actuellement utilisé commercialement avec le CIDR est une insertion de l'implant pour une durée de 12 à 14 j, avec une injection d'eCG au retrait de l'implant sans modification particulière pour l'utilisation en saison sexuelle ou en contre-saison. Toutefois, certains auteurs suggèrent que les protocoles longs de synchronisation des chaleurs (12-14 j) mèneraient au développement d'anomalies au niveau du développement folliculaire et de la sécrétion de l'œstradiol, ce qui pourrait résulter en des taux de fertilité plus bas, comme ceux parfois observés dans la littérature (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005). En fait, cette perte de fertilité serait expliquée par la persistance de gros follicules qui inhiberaient la seconde vague folliculaire réduisant le taux d'ovulation lorsque la

concentration de progestérone n'est pas suffisamment élevée au retrait de l'implant (Viñoles *et al.*, 1999). De plus, lorsque le taux de progestérone est faible à la fin du traitement, la progestérone restante ne serait plus en mesure de bloquer efficacement la LH, menant à des anomalies du développement folliculaire, en plus d'être responsable d'une diminution de la qualité des ovulations (Killian *et al.*, 1985; Scaramuzzi *et al.*, 1988). Un taux d'ovulation plus faible combiné à des ovulations de moins bonne qualité diminuerait les chances de fécondation normale. Le protocole long de 14 j en saison sexuelle est très différent de la posologie du fabricant qui suggère une insertion d'une durée de 5 j, puisque ce dernier est recommandé en contre-saison sexuelle. L'utilisation de protocoles de courte durée (5 à 9 j) pourrait être une avenue intéressante en saison sexuelle, car ils permettent l'atteinte d'un taux d'induction des chaleurs important (Fukui *et al.*, 1994; Letelier *et al.*, 2009). En effet, les protocoles courts seraient avantagés par la concentration de progestérone qui demeure élevée tout au long du traitement, au lieu de subir une longue diminution comme c'est souvent le cas avec les protocoles de 12 j et plus (Figure 2.6). Concrètement, le taux de progestérone serait encore très élevé à la fin du traitement, ce qui créerait une chute de progestérone plus importante, permettant d'envoyer un signal physiologique plus clair lors du retrait du CIDR. C'est sur la base de cette hypothèse que des protocoles de courte durée ont été testés. Une expérience menée au Japon en contre-saison sur la durée d'insertion du CIDR a été menée afin de déterminer la durée la plus efficace entre 6, 9 et 12 j (Fukui *et al.*, 1994). Il a été mis en évidence que le taux de progestérone sanguin fût significativement plus bas au retrait chez les brebis ayant reçu l'implant pour une durée de 12 j (1,7 ng/ml) comparativement à celle l'ayant testé sur 6 ou 9 j (3,7 ng/ml). Cette observation montre l'influence de la durée du traitement de synchronisation sur la concentration de progestérone sanguine au retrait du CIDR (Abecia *et al.*, 2011).

L'utilisation de traitements courts dans le cadre de synchronisation des chaleurs n'a cependant pas été en mesure d'améliorer la venue en chaleur des brebis ni de modifier l'heure de l'induction de la chaleur. Malgré l'observation d'une différence dans la concentration de progestérone sanguine au retrait du CIDR, l'étude de Fukui *et al.* (1994) a montré que le moment de la chaleur est resté le même selon que les traitements aient été

courts (6 et 9 j) ou longs (12 j), permettant l'atteinte de taux de gestation suivant une insémination intra-utérine avec de la semence congelée de l'ordre de 67 à 85 % (Fukui *et al.*, 1994). Puisque ces résultats ne montraient aucune différence significative entre les traitements en termes d'induction des chaleurs et de fertilité, il a été mis en évidence qu'un protocole de synchronisation au CIDR d'une durée de moins de 12 j est efficace en permettant l'atteinte d'un taux de synchronisation similaire en contre-saison. Letelier *et al.* (2009) ont d'ailleurs appuyé ces résultats en saison sexuelle en testant l'insertion d'éponges vaginales sur une courte période de 6 j. Ils ont observé un développement folliculaire normal et la même capacité d'ovuler que des animaux qui avaient suivi un protocole standard plus long. Il faut tout de même garder à l'esprit que ce ne sont pas des observations obtenues unanimement par tous les chercheurs dans le domaine, car d'autres études ont aussi montré que des protocoles courts (5 à 9 j), testés en saison sexuelle, n'étaient pas autant efficaces pour la synchronisation des chaleurs que des protocoles longs de 14 j (Smith et Parr, 1992). Il aurait d'ailleurs été mis en évidence que les traitements courts seraient plus enclins à produire des chaleurs plus tardives et des chaleurs non détectées chez les brebis traitées, ce qui se solderait en un taux de conception plus faible en IA à heure fixe, à cause d'une plus grande variabilité du moment de l'ovulation entre les sujets (Smith et Parr, 1992). Les résultats d'une seconde étude en saison sexuelle ont montré un délai important de l'induction de l'œstrus chez les brebis du traitement court avec une induction des chaleurs moyenne entre 73 et 85 h comparativement à 45 à 49 h pour le traitement de 12 j (Viñoles *et al.*, 2001). De plus, le moment de l'induction de l'œstrus était plus étendu chez les sujets du traitement court et le nombre de brebis en chaleur à la suite du retrait de l'implant était proportionnellement moins élevé que les brebis du traitement long, et ce, jusqu'à 120 h du retrait. Il semblerait que ce soit la progestérone qui serait responsable de la venue en chaleur tardive lors des protocoles courts, car au retrait du CIDR, le taux de progestérone dans le sang serait trop élevé et entraînerait un décalage des événements physiologiques menant à l'ovulation (Robinson et Smith, 1967; Jeffcoate *et al.*, 1984). Malgré ces observations, le traitement court demeure tout de même efficace pour l'induction des chaleurs en saison ou en contre-saison sexuelle.

2.4.1.2. Utilisation de l'eCG dans les protocoles de synchronisation

Avec le traitement progestatif, la grande majorité des protocoles de synchronisation des chaleurs vont inclure l'utilisation de l'eCG, anciennement nommée PMSG (« Pregnant Mare Serum Gonadotrophin »). L'eCG est une gonadotrophine sérique de jument gravide qui a une activité FSH et LH. Sa fonction est d'assurer la croissance et la maturation des follicules et de maintenir un taux d'hormones ovariennes (FSH et LH) adéquat dans le but d'induire une ou plusieurs ovulations chez la femelle (Cognié, 1988; Evans, 1991; Luther, 2008; Abecia *et al.*, 2011). Actuellement, cette hormone est recommandée en saison sexuelle comme en contre-saison à la fin d'un traitement de progestérone afin d'augmenter le taux de gestation à l'insémination (Cognié *et al.*, 1984). Il y a de nombreux protocoles de synchronisation qui sont présentement utilisés, qui varient notamment au niveau de la dose d'eCG injectée et du moment de son injection par rapport au retrait de l'implant. Le chercheur américain J. S. Luther a élaboré un protocole standardisé pour différentes races aux États-Unis (Hampshire, Montadale, Suffolk et Columbia) grâce à des essais effectués sur des brebis synchronisées en saison sexuelle. À la suite des résultats obtenus, il recommande d'injecter une dose de 400 U. I. d'eCG au retrait du CIDR (Luther *et al.*, 2007; Luther, 2008). Son protocole a été établi en fonction de l'utilisation d'une insémination par laparoscopie réalisée 60 h après le retrait du CIDR. Grâce à ce protocole, il a montré qu'un traitement de synchronisation au CIDR avec de l'eCG augmentait de façon significative le taux de gestation des brebis suivant une IA comparativement à un traitement sans eCG avec des valeurs de 73,3 et 41,2 % respectivement (Luther *et al.*, 2007). La même observation a été faite avec un traitement à l'éponge, avec un taux de fertilité à l'IA de 66,7 % pour des brebis ayant reçu de l'eCG comparativement à 37,5 % pour celles n'en ayant pas reçu. Il a même été possible d'observer une augmentation de la fertilité allant jusqu'à 42 % chez des brebis ayant reçu 500 U. I. d'eCG au retrait de l'éponge par rapport à celles n'en ayant pas reçu (Langford *et al.*, 1983). Cela montre bien l'importance de l'administration d'une source de gonadotrophines à la suite d'un traitement de synchronisation des chaleurs afin de maximiser le taux de fertilité.

Dose d'eCG

Il est clair que l'utilisation de l'eCG permet une amélioration des résultats de synchronisation et de fertilité des brebis en IA, mais de nombreuses variations existent entre les études sur la dose à injecter. Puisque la dose d'eCG utilisée a un effet sur le taux de gestation des brebis suite à l'insémination, il faut évaluer sérieusement la quantité idéale à administrer afin d'avoir les effets positifs sur le taux d'ovulation et de gestation en évitant le gaspillage et la suroovulation. En général, les doses administrées en contre-saison sont plus élevées qu'en saison, étant donné que les brebis ne cyclent pas (Luther, 2008). Elles se situent généralement entre 300 et 750 U. I. d'eCG. Il faut toutefois garder en mémoire que la dose d'eCG diffère selon les conditions des études et la race de brebis utilisée. Il faut aussi être prudent lors de la détermination de la dose à appliquer, car une dose trop forte pourrait résulter en un nombre d'agneaux nés trop élevé, conséquence d'une suroovulation (Luther, 2008). Cette situation n'est pas désirable puisque les agneaux seront plus petits et plus fragiles et il sera plus difficile pour la mère de s'en occuper. Donc, une dose trop élevée aurait un impact négatif sur la survie des agneaux et sur les coûts engendrés par brebis. Une dose trop faible pourrait aussi avoir des impacts négatifs sur la fertilité. En effet, une étude a montré qu'une dose de 200 U. I. d'eCG résultait en un taux de gestation à l'IA significativement plus faible (62,4 %) comparativement à une dose de 250 U. I. (72,9 %) ou de 300 U. I. (79,1 %) chez des brebis Mérino (Hill *et al.*, 1998). Cette situation pourrait être expliquée par une chaleur et une ovulation plus tardive chez les brebis ayant reçu une dose faible, qui serait responsable d'une moins bonne synchronisation avec l'insémination (Cline *et al.*, 2001). Dans un essai où une dose de 400 U. I. était injectée au retrait du CIDR, l'ovulation a eu lieu entre 48,9 et 52,6 h, comparativement à 56,8 h pour les brebis n'en ayant pas reçu (Knight *et al.*, 1992). Outre son effet sur le moment de l'induction des chaleurs et de l'ovulation, l'eCG permettrait aussi de diminuer la variation de l'intervalle de temps entre le début de la chaleur et le moment de l'ovulation en plus de devancer les chaleurs, ce qui augmenterait le taux de gestation suite à l'insémination et justifierait d'autant plus l'utilisation d'un protocole de synchronisation avec eCG pour la réussite de l'IA (Maxwell et Barnes, 1986; Hill *et al.*, 1998; Zeleke *et al.*, 2005).

Afin d'éclaircir les résultats concernant la dose d'eCG recommandée, une équipe de chercheurs a effectué une étude sur différentes doses administrées à 72 brebis Chall en saison sexuelle (Kermani Moakhar *et al.*, 2012). Les brebis étaient séparées en six groupes qui ont reçu une dose respective de 0, 450, 550, 650, 750 et 850 U. I. d'eCG au retrait du CIDR. Par la suite, des inséminations par laparoscopie ont eu lieu entre 54 et 60 h suivant le retrait. Les résultats ont montré que l'eCG favorisait l'induction des chaleurs dans les 36 h suivant le retrait de l'implant de progestérone chez un plus grand nombre de brebis comparativement à celle n'en ayant pas reçu (50,0 vs 83,3, 91,6, 100,0, 100,0 et 100,0 % pour 0 vs 450, 550, 650, 750 et 850 U. I.). Concernant la fertilité à l'insémination, l'eCG permet l'atteinte d'un meilleur taux de gestation lorsque les brebis reçoivent une dose située entre 550 et 750 U. I. (41,6, 50,0 et 50,0 % vs 75,0, 75,0 et 58,3 % pour 0, 450 et 850 U. I. vs 550, 650 et 750 U. I.). De plus, l'eCG serait responsable du développement d'un nombre plus élevé de gros follicules résultant en un meilleur taux d'ovulation chez le plus de sujets possible, permettant l'atteinte d'un taux de fertilité intéressant à l'insémination. Ainsi, ce serait une dose de 550 U. I. et plus qui serait recommandée pour avoir un effet sur le taux d'ovulation. Une dose de 550, 650, 750 et 850 U. I. permettrait le développement de 2,8, 2,6, 3,5 et 4,0 gros follicules respectivement, comparativement à 1,7 et 1,8 pour les brebis ayant reçu une dose de 0 et 450 U. I. Par contre, il semble qu'une dose trop élevée, de l'ordre de 850 U. I. aurait une incidence négative sur le taux de gestation. Cela pourrait être expliqué par une trop grande concentration de gonadotrophines qui aurait un impact négatif sur le taux de gestation (Hill *et al.*, 1998). Il semblerait que la longue demi-vie de l'eCG causerait la formation de follicules anormaux et une maturation trop rapide de ceux-ci, ce qui aurait une incidence négative sur la fécondation (Moor *et al.*, 1985; Kermani Moakhar *et al.*, 2012).

Il a été clairement établi dans la littérature que la réponse de la brebis à l'injection d'eCG dépend de plusieurs facteurs, comme la saison, la race, le poids, le statut alimentaire et le statut ovarien au moment de l'injection (Cognié, 1988; Cognié *et al.*, 2003; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2003; Ali, 2007; Abecia *et al.*, 2011). Les doses suggérées dans la littérature doivent donc être adaptées aux protocoles et aux animaux qui sont utilisés. Par exemple, la dose administrée devrait être plus faible chez les agnelles (250-300 U. I.) que chez les

brebis multipares (350-500 U. I.), elle devrait être plus élevée durant l'œstrus (400-500 U. I.) que durant la saison sexuelle (300-350 U. I.) (Cognié, 1988; Abecia *et al.*, 2011). Certains auteurs suggèrent que le poids moyen des brebis peut être utilisé comme indicateur de la dose d'eCG à injecter, les brebis à grand gabarit devraient recevoir une dose plus importante que celle de petit gabarit. Par exemple, il serait recommandé d'injecter 750 U. I. d'eCG chez les brebis Suffolk tandis qu'une dose de 500 U. I. serait suffisante pour les Dorset ou les Rambouillet en contre-saison (Diekman *et al.*, 2003). Les brebis prolifiques comme les Romanov sont reconnues comme étant des races plus sensibles à l'eCG, c'est pourquoi une dose plus faible leur serait administrée (Cognié, 1988). Il serait préférable d'adapter la dose d'eCG à la prolificité naturelle des sujets, donc à la race ou au croisement, afin d'éviter des naissances trop nombreuses (Hackett et Wolynetz, 1982). Toutes ces recommandations ont été établies afin de favoriser un bon développement folliculaire qui sera suivi d'une ovulation de qualité, puisque le but de l'utilisation de l'eCG dans un programme de synchronisation et d'insémination n'est pas nécessairement d'augmenter la prolificité, mais bien de s'assurer d'une ovulation de qualité.

Les différents auteurs montrent donc que la quantité idéale d'eCG à administrer aux brebis varie selon les protocoles et les brebis utilisés. Il serait alors préférable de favoriser une dose intermédiaire de l'ordre de 350 à 600 U. I. d'eCG afin d'obtenir un meilleur taux de fertilité chez les brebis sans induire d'effets négatifs. De cette manière, il serait possible d'augmenter le taux de fertilité à l'insémination grâce à une meilleure synchronisation des chaleurs et de meilleures ovulations.

Moment de l'injection de l'eCG

Dans un protocole de synchronisation, le moment de l'injection de l'eCG ne doit pas être négligé, puisqu'il aura un impact direct sur le moment de l'ovulation, et donc sur le moment idéal pour l'insémination (Fukui *et al.*, 1993a). La très grande majorité des protocoles de synchronisation de l'œstrus optent pour l'injection de l'eCG au moment du retrait de l'implant de progestérone. Par contre, plusieurs chercheurs se sont intéressés à la possibilité d'injecter l'eCG avant le retrait de la source exogène de progestérone. Un

premier essai sur l'injection de l'eCG 48 h avant le retrait de l'implant de progestérone a été effectué dans les années 60 sur 150 brebis Romney en contre-saison sexuelle (Roberts et Edgar, 1966). Il a été observé que le nombre de brebis en chaleur dans la journée suivant le retrait de l'implant était plus élevé chez celles ayant reçu de l'eCG 48 h avant le retrait (91,7 %) que chez les brebis l'ayant reçu au retrait (71,7 %). L'injection plus hâtive a permis une augmentation de la prolificité (1,6 vs 0,6 agneau) et du taux de gestation des brebis suite à des saillies (87 vs 27 %) pour des brebis ayant reçu 750 U. I. d'eCG. L'équipe de Fukui *et al.* (1985) a procédé à une expérience similaire sur 85 brebis Suffolk ou croisées Suffolk, dans le but de comparer une injection 48 h avant le retrait de l'éponge et au retrait de celle-ci. Les résultats concernant le taux d'induction des chaleurs étaient contradictoires à l'étude précédente : ils étaient plus faibles chez les brebis ayant reçu l'eCG plus tôt (61,9 %) que celle l'ayant reçu au retrait (90,5 %). Toutefois, l'induction de l'œstrus a été plus hâtive chez les brebis ayant reçu l'eCG 48 h avant ($29,4 \pm 8$ h comparativement à $40,9 \pm 10,3$ h). Il faut souligner que lors de cette expérience, la fertilité et la libido de plusieurs béliers utilisés ont été remises en doute par les auteurs, ce qui pourrait avoir eu une influence négative sur les résultats d'induction des chaleurs. Cette même équipe de chercheurs a procédé à une seconde étude sur le sujet en contre-saison. Ils ont montré que lorsque l'eCG est injectée 48 h avant le retrait de l'implant de progestérone, le taux de gestation avait tendance à être plus élevé suite à l'insémination, comparativement à un protocole où l'injection avait lieu au retrait de l'éponge (49 vs 42,7 %) (Fukui *et al.*, 1989; Fukui *et al.*, 1993a). De plus, la chaleur suivant l'injection d'eCG 48 h avant le retrait du CIDR a eu lieu $31,4 \pm 1,5$ h après le retrait de l'éponge, ce qui était plus rapide que les $39,7 \pm 1,1$ h observées chez les brebis ayant été injectées au retrait du CIDR (Fukui *et al.*, 1989). Une autre étude s'est penchée sur l'injection d'eCG seulement 24 h avant le retrait de l'éponge ou du CIDR sur des brebis Mérinos en saison sexuelle. D'abord, l'injection la veille du retrait a induit la venue en chaleur des brebis plus hâtivement que chez celles ayant été injectée au retrait avec une proportion plus élevée de brebis en chaleur 24 h (21 vs 7 %) et 36 h (53 vs 35 %) suite au retrait. À 48 h du retrait, il n'y avait plus de différence entre les deux groupes de brebis. De la même manière, une proportion plus élevée de brebis avait ovulé à 50 h (23 vs 3 %) et 54 h (57 vs 20 %) suivant le retrait chez les brebis injectées la veille. Cette différence disparaissait seulement à partir de 58 h. L'injection

d'eCG la veille du retrait permettait aussi l'atteinte d'un taux de gestation plus élevé à la suite de l'IA par laparoscopie en semence congelée ($54,6 \pm 2,7 \%$) comparativement à des brebis dont l'injection a eu lieu au retrait ($46,5 \pm 2,8 \%$) (Eppleston *et al.*, 1991). Toutefois, le moment de l'injection d'eCG ne semblait pas avoir d'effet sur le taux d'ovulation dans cette étude (1,7 vs 1,8 agneau/brebis). Les effets de l'injection d'eCG avant le retrait du progestagène sur le moment de l'induction de la chaleur et de l'ovulation et le taux de fertilité à l'IA serait en lien avec le taux de progestérone dans le sang au moment de l'injection. En effet, l'injection de l'eCG lorsque la progestérone est diffusée à un taux élevé dans le sang de la brebis stimulerait un développement folliculaire normal et une meilleure ovulation (Roberts et Edgar, 1966; Fukui *et al.*, 1985). L'utilisation de l'eCG avant le retrait du CIDR aurait un effet similaire à la FSH, ce qui expliquerait les meilleures ovulations qui seraient en partie responsables du meilleur taux de gestation.

Donc, une injection d'eCG 24 h ou 48 h avant le retrait des CIDR permettrait l'atteinte d'un taux d'induction des chaleurs maximum et devancerait substantiellement les chaleurs et l'ovulation. Il semblerait donc intéressant d'effectuer une injection d'eCG la veille ou 48 h avant le retrait de l'implant de progestérone, ce qui représente une variation du protocole standard d'insémination déjà utilisé de façon commerciale.

Effets de l'utilisation répétée des gonadotrophines

Malgré les nombreux avantages que peut procurer l'utilisation d'eCG pour favoriser l'ovulation et la gestation des brebis lors de la synchronisation de chaleurs, il a été mis de l'avant ces dernières années qu'une utilisation fréquente de ce produit pourrait entraîner des dysfonctions à long terme dans le cycle de reproduction des brebis. En fait, ce serait la répétition des traitements à l'eCG qui serait responsable des effets négatifs plutôt que la quantité injectée. La baisse potentielle de la fertilité à long terme des brebis inséminées et injectées à l'eCG à plusieurs reprises serait expliquée par la production d'anticorps anti-eCG qui est observable chez plusieurs espèces, dont les lapins, les bovins, les caprins et les ovins (Diekman *et al.*, 2003; Forcada *et al.*, 2011). Le taux de liaison de l'eCG est déterminé par l'analyse d'un échantillon de sang des brebis par dosage radio-

immunologique et est un indicateur de la présence d'anticorps. Plus le taux est élevé, plus la brebis produit des anticorps anti-eCG suivant une injection. Ainsi, l'équipe de Brice *et al.* (1995a) a évalué l'incidence de ce problème dans plusieurs troupeaux de brebis en France, soit ceux recevant un traitement d'eCG annuellement et ceux n'en recevant aucun. Dans les troupeaux non traités, l'incidence du taux de liaison avec l'eCG était généralement sous les 1,5 % comparativement à des valeurs jusqu'à 29 % chez les troupeaux traités.

Il serait possible qu'un taux d'anticorps élevé puisse induire un délai dans l'induction de l'œstrus (Roy *et al.*, 1999; Maurel *et al.*, 2003). Les conséquences négatives d'un délai de l'œstrus chez un grand nombre de sujets (37,9 %) ayant un taux d'anticorps anti-eCG élevé, résultent en un taux de mise bas et une prolificité plus basse, surtout dans un contexte d'insémination à heure fixe du retrait de l'implant de progestérone où le moment de l'ovulation par rapport à la chaleur est crucial pour sa réussite (Brice *et al.*, 1995a; Baril *et al.*, 1996). Lorsque les brebis montrent une chaleur tardive, une insémination à temps fixe serait faite trop tôt par rapport à l'ovulation, ce qui expliquerait la diminution de la fertilité. Concrètement, cette situation pourrait entraîner une diminution du taux d'agnelage de l'ordre de 14 % chez des brebis ayant un taux de liaison supérieur à 6 % (Brice *et al.*, 1995a). La présence d'un taux de liaison à l'eCG élevé peut aussi avoir des répercussions importantes sur l'apparition du pic de LH (Brice *et al.*, 1995a). En effet, 75 % des brebis possédant un taux de liaison à l'eCG inférieur à 3 % ont présenté un pic de LH entre 32 et 48 h après le retrait de l'éponge, comparativement à seulement 35 % chez les brebis ayant un taux de liaison supérieur à 12 % (Brice *et al.*, 1995a). L'absence d'un pic de LH bloque l'ovulation chez les brebis et sans ovulation, il y aura échec de fécondation. Il serait donc conseillé d'effectuer une détection des chaleurs afin d'éliminer les brebis dont l'œstrus est trop tardif ou inexistant (Maurel *et al.*, 2003).

Malgré cet effet négatif des anticorps anti-eCG observé par plusieurs chercheurs, la réponse des animaux à la présence d'anticorps anti-eCG semble variable, et même parfois nulle (Roy *et al.*, 1999; Diekman *et al.*, 2003; Maurel *et al.*, 2003). Ainsi, certaines brebis ne seraient pas affectées par des injections répétées d'eCG, tandis que d'autres pourraient voir

leur ovulation retardée ou inhibée. La réponse immunitaire plus forte serait observée chez les brebis qui ont plus d'anticorps résiduels dans le sang à la suite d'un traitement antérieur (Maurel *et al.*, 2003). Chez les sujets dont la réponse immunitaire est importante, il pourrait y avoir jusqu'à 15 % des brebis qui ne montrent pas de pic de LH ou qui verraient celui-ci retardé à plus de 50 h du retrait de l'implant de progestérone. Cette situation serait responsable d'une perte de fertilité importante à la suite des inséminations cervicales, passant de 75 % chez les sujets dont le pic de LH était normal à 42,3 % chez celles dont le pic de LH a été retardé (Roy *et al.*, 1999). Cette perte de fertilité pourrait aussi être observée lors d'IA par laparoscopie, puisqu'elles sont effectuées à temps fixe du retrait. De plus, il semble y avoir un lien significatif entre le taux de liaison et l'âge de la brebis, selon lequel plus la brebis avance en âge, plus son taux de liaison à l'eCG est élevé. Ce lien n'est peut-être pas direct, sachant que les vieilles brebis sont plus enclines à avoir reçu plusieurs traitements d'eCG dans leur vie que les brebis nullipares ou primipares. Donc, il semblerait que ce soit le nombre de traitements reçus qui serait responsable de l'accumulation d'anticorps anti-eCG dans le sang des brebis âgées (Brice *et al.*, 1995a). D'ailleurs, ces anticorps résiduels demeurent dans le système sanguin des brebis pour une longue période de temps puisqu'ils sont éliminés lentement, expliquant d'autant plus l'effet négatif à long terme (Brice *et al.*, 1995a; Bodin *et al.*, 1997). Malgré les évidences qui montrent un lien entre l'âge des brebis et le taux de liaison, certains chercheurs n'ont pas été en mesure d'établir un lien entre un taux de liaison élevé (14,7 %) avec l'âge de la brebis ni le nombre de traitements reçus (Wildeus, 2000). Il faut aussi savoir que les anticorps anti-eCG seraient transmissibles aux agneaux par l'intermédiaire du colostrum, comme il a été montré chez les chevreaux dans l'étude de Beckers *et al.* (1995). Donc, lorsqu'un troupeau présente un taux élevé d'anticorps anti-eCG, les agnelles sont à risque de montrer les mêmes diminutions de performances reproductrices en IA que les brebis ayant reçu plusieurs traitements d'eCG dans leur vie.

Malgré les effets néfastes démontrés, il apparaît que lorsque l'utilisation de protocole de synchronisation est entrecoupée d'accouplements naturels, les effets négatifs relatifs aux anticorps sont moins prononcés à long terme (Santolaria *et al.*, 2011). Il serait donc préférable d'utiliser l'eCG une seule fois par année, pour diminuer l'effet négatif des

anticorps qui sont produits suivant l'injection chez les brebis et les chèvres (Roy *et al.*, 1995).

2.4.2. Programme d'insémination par laparoscopie

2.4.2.1. Synchronisation de l'œstrus dans un programme d'insémination

Les protocoles d'insémination par laparoscopie en semence congelée procèdent généralement à une insémination à heure fixe du retrait du CIDR. Il s'agit de retirer tous les implants de progestérone la même journée et toutes les brebis synchronisées sont inséminées à la même heure du retrait. Cela implique que la synchronisation doit induire les chaleurs les plus regroupées possible afin que toutes les brebis soient inséminées à la même heure par rapport à l'ovulation. Il est bien connu que c'est généralement l'asynchronisme entre l'ovulation et le moment de l'insémination qui est responsable de plusieurs insuccès en insémination avec semence congelée (Evans, 1991). Le moment de l'ovulation est généralement estimé par rapport au retrait du CIDR. Toutefois, l'intervalle entre le début de la chaleur et l'ovulation est beaucoup moins variable que l'intervalle entre le retrait du CIDR et l'ovulation, ce qui permet une meilleure estimation de celle-ci. De plus, la détermination du début de la chaleur est facilement mesurable avec l'aide de béliers vasectomisés. Il est donc crucial de situer dans le temps le moment de l'induction de la chaleur des brebis afin de mieux prévoir le moment de l'ovulation et ainsi pouvoir déposer la semence dans l'utérus au moment le plus fertile.

Afin de favoriser l'atteinte d'un taux d'induction des chaleurs et de fertilité élevé, il est préférable de synchroniser et de procéder aux inséminations en saison sexuelle, lorsque le système reproducteur des brebis est actif. C'est pourquoi cette section sur la synchronisation des chaleurs pour l'insémination présente des résultats de recherches majoritairement réalisés en saison sexuelle.

L'induction de la chaleur

En général, la période de temps qui sépare le retrait du CIDR de la chaleur est très variable entre les sujets (voir section 2.4.1.1), ce qui rend difficile une estimation précise du moment de l'ovulation. Dans un bon traitement de synchronisation pour l'insémination, il faut que la très grande majorité des brebis viennent en chaleur dans un court intervalle de temps; au mieux quelques heures. L'objectif étant de diminuer la variabilité du moment de l'œstrus pour diminuer la variation du moment de l'ovulation entre les brebis du groupe à inséminer. Ainsi, la détermination du moment du début des chaleurs devient très importante puisqu'il permet d'estimer plus précisément le moment où l'insémination devrait être pratiquée (Smith *et al.*, 1997). Ainsi, un grand écart du moment de l'induction des chaleurs entre les brebis d'un groupe à inséminer affectera à la baisse les résultats de fertilité en insémination à temps fixe. Par exemple, des brebis ayant montré une chaleur dans les huit heures suivant le retrait de l'implant ont obtenu un taux de gestation de seulement 23,8 % comparativement à 44,3 % pour brebis ayant montré leur chaleur entre 22 h et 46 h suivant le retrait lors des inséminations ayant eu lieu à 48 et 56 h suivant le retrait du CIDR (Smith *et al.*, 1999). Une insémination au mauvais moment serait donc responsable de la baisse de fertilité observée chez les brebis venue en chaleur trop tôt; une ovulation trop hâtive aurait comme conséquence de donner des ovules trop vieux et non fertiles au moment de la rencontre de ceux-ci avec les spermatozoïdes.

Comme présenté dans la section 2.4.1.1, le moment de l'induction de la chaleur est variable selon les études, ce qui rend difficile sa prédiction lors de l'élaboration d'un protocole d'insémination. En général, le début de l'œstrus se situe entre 22 et 35 h suite au retrait du CIDR (Figure 2.5). La grande variation du moment de l'induction des chaleurs s'explique par les nombreux facteurs qui ont un impact sur celui-ci comme la source de progestérone, le moment de l'injection d'eCG, la race, la saison, et la variation entre les troupeaux (Evans, 1988, 1991). En considérant que ces facteurs ont une influence sur le moment de la chaleur, il est donc évident qu'ils influenceront aussi le moment du pic de LH et de l'ovulation chez la brebis (Ghalsasi et Nimbkar, 1996).

Pic de LH et ovulation

L'heure moyenne de l'apparition du pic de LH peut influencer le taux de fertilité à la suite de l'insémination lorsque celle-ci est effectuée à temps fixe. En effet, le pic de LH semble être un bon indicateur pour prédire le moment de l'ovulation, puisque la période qui sépare ce pic de LH de l'ovulation est moins variable entre les brebis que la période de temps située entre le retrait du CIDR et la venue en chaleur (Cumming *et al.*, 1973). Toutefois, les informations concernant les moments du pic de LH et de l'ovulation sont plus rares. Peu de recherches ont porté sur ces paramètres étant donné la complexité méthodologique et les déboursés financiers qu'elles engendrent pour les projets de recherche.

Lorsque le moment du pic de LH est analysé en fonction du début de l'œstrus, celui-ci a lieu au début de la chaleur, et même parfois un peu avant. En effet, il arrive que le pic de LH ($19,0 \pm 1,3$ h post-retrait) ait lieu avant la chaleur ($21,8 \pm 1,2$ h post-retrait) (Fukui *et al.*, 1999), ou qu'il soit très proche du début de la chaleur, soit entre 1,7 h et 6,4 h du début de la chaleur (Cumming *et al.*, 1973; Quirke *et al.*, 1981). Ces variations rendent difficile l'estimation du moment du pic de LH sans prises de sang. Il a d'ailleurs été mis en évidence que la variation observée entre la chaleur et le pic de LH serait expliquée par l'effet de la race, le nombre d'ovules libérés et le niveau de progestérone lors de la synchronisation (Thimonier et Pelletier, 1971; Mauer *et al.*, 1972; Land *et al.*, 1973; Lewis *et al.*, 1974; Bindon *et al.*, 1979). Toutefois, il est raisonnable d'estimer, selon la majorité des études, que le pic de LH a généralement lieu entre 20 et 35 h suivant le retrait du CIDR.

Lorsque le pic de LH moyen est connu ou estimé selon les conditions de synchronisation, il devient plus facile d'estimer le moment de l'ovulation et ainsi l'heure idéale de l'insémination à temps fixe, puisqu'il est montré que l'intervalle de temps entre le pic de LH et l'ovulation ne varie pas beaucoup. En effet, une étude de Cumming *et al.* (1973) a mis en évidence la stabilité de l'intervalle entre le pic de LH et l'ovulation dans deux expériences. La première était effectuée en situation d'œstrus naturels, la seconde sur des œstrus induits suivant un traitement à l'éponge. Les résultats ont montré un intervalle pic de LH-ovulation entre 21 et 26 h pour les brebis en œstrus naturel, et entre 23 et 26 h chez les

brebis synchronisées. Ces observations ont été confirmées par d'autres chercheurs qui ont identifié le moment du pic de LH à 26 h du retrait du CIDR avec une ovulation entre 48 h et 50 h du retrait, équivalant ainsi à un intervalle pic de LH-ovulation de 24 h (McEvoy *et al.*, 1996). Deux autres études, réalisées à la suite de synchronisations avec CIDR, rapportent un intervalle de 27,2 h et 28 h respectivement entre le pic de LH et l'ovulation (Shackell, 1991; Godfrey *et al.*, 1999). Tous ces résultats montrent bien que l'intervalle pic de LH-ovulation est relativement constant, entre 23 et 26 h, malgré les différentes conditions des études. Il est donc plus précis d'estimer le moment de l'ovulation par rapport au pic de LH que par rapport au moment du début de la chaleur ou du retrait du CIDR (Baril *et al.*, 1998). Toutefois, étant donné que la mesure précise du pic de LH nécessite de nombreuses manipulations et des ressources financières importantes, il est plus réaliste d'essayer d'estimer le moment de l'ovulation en fonction des sujets et du protocole de synchronisation utilisé. Ainsi, malgré les études portant sur le sujet, il est difficile d'établir le moment de l'ovulation de façon précise, puisque de nombreuses études n'utilisaient pas d'eCG dans leur protocole de synchronisation. De plus, très peu d'études existent sur la détermination du moment de l'ovulation suivant un traitement au CIDR en saison sexuelle avec injection d'eCG. Les essais recensent une ovulation entre 48 et 54 h du retrait du CIDR lors de l'utilisation d'un protocole de 12 j avec une injection d'eCG au retrait (Knight *et al.*, 1992).

Traitements courts

Lors de la synchronisation des chaleurs, il est possible que les traitements à la progestérone de longue durée soient responsables d'une perte de fertilité à la suite des IA à cause d'un asynchronisme entre la chaleur et l'ovulation et d'un effet négatif sur le développement des ovaires (Scaramuzzi *et al.*, 1988; Viñoles *et al.*, 2001; Menchaca et Rubianes, 2004). C'est pourquoi, récemment, de nombreuses recherches ont eu lieu afin d'élaborer un protocole de synchronisation à la progestérone plus court pour éviter ces désordres reproductifs. La mise en place des implants pour une durée de 5, 6 ou 7 j serait efficace en matière d'induction des chaleurs et de fertilité à l'IA, autant en saison qu'en contre-saison sexuelle, avec des taux de réussite similaires à ceux présentement obtenus avec le protocole standard de 12 j (Fukui *et al.*, 1994; Viñoles *et al.*, 2001; Santolaria *et al.*, 2011). Un protocole d'une durée

de 6 j combiné à une injection de 600 à 750 UI de PMSG suivi d'une insémination par laparoscopie a permis l'atteinte d'un très bon taux de mise bas de 78,8 % (Fukui *et al.*, 1994). Ce nouveau protocole court pourrait cependant retarder les chaleurs en saison sexuelle, causé par un délai de la régression du corps jaune chez les brebis cycliques (Menchaca et Rubianes, 2004; Santolaria *et al.*, 2011). Il serait possible de réduire le délai d'induction des chaleurs en injectant de la PGF_{2α} afin d'éliminer le corps jaune chez les brebis cycliques (Santolaria *et al.*, 2011). Ce traitement est déjà utilisé avec succès chez la chèvre (Corteel *et al.*, 1988; Menchaca et Rubianes, 2004) et des essais fructueux ont déjà été faits chez la brebis (Beck *et al.*, 1993). Le même protocole peut aussi être utilisé en contre-saison, mais l'injection de PGF_{2α} serait superflue puisque les brebis ne cyclent généralement pas à ce moment de l'année. Les résultats de venue en chaleur des protocoles de synchronisation courts sont variables dans la littérature et ils ne semblent pas être mieux adaptés que les traitements longs dans un protocole d'insémination, ce qui indique qu'ils nécessitent encore des ajustements (Santolaria *et al.*, 2011).

2.4.2.2. *Moment idéal pour procéder à l'insémination par laparoscopie*

Lorsqu'un protocole de synchronisation des chaleurs au CIDR précède une séance d'insémination par laparoscopie en semence congelée, il faut prendre en considération les données du moment de l'induction de l'œstrus, du pic de LH et de l'ovulation répertoriée dans la littérature afin de pouvoir établir le moment idéal du dépôt de la semence. L'estimation précise du moment de l'ovulation permet de déposer la semence au bon moment, et ainsi favoriser la fécondation entre l'ovule et le spermatozoïde. Toutefois, étant donné la grande variabilité entre le moment de l'induction de la chaleur, le moment de l'ovulation et la durée de la survie des gamètes, il est difficile d'estimer précisément le moment idéal de l'insémination. De nombreuses études se sont penchées sur le sujet afin d'établir l'heure idéale pour l'insémination en prenant en considération les événements physiologiques suivant le retrait du CIDR et une injection d'eCG.

Le moment d'insémination changera selon le type de semence utilisé, soit la semence congelée ou la fraîche (Maxwell *et al.*, 1984b; Fukui *et al.*, 1989). En effet, il faut

inséminer plus près de l'ovulation avec la semence congelée qu'avec la semence fraîche lors d'inséminations intra-utérines, puisque la semence qui est déposée près du site de fécondation est moins vigoureuse et sa durée de vie est de deux à trois fois plus courte que la semence fraîche, ce qui laisse une moins grande fenêtre de temps pour réaliser l'insémination (Fukui *et al.*, 1989; Eppleston *et al.*, 1991). De plus, puisque le temps de transport des spermatozoïdes vers le lieu de fécondation est grandement réduit, le moment du dépôt de la semence doit être plus près de l'ovulation qu'en condition naturelle.

Il est établi dans la littérature qu'une insémination au mauvais moment aura des conséquences négatives sur le taux de gestation des brebis causé par le fait que les gamètes ont une durée de vie limitée. Dans la situation d'une insémination trop tardive, la perte de fertilité pourrait être expliquée par des ovules trop âgés (Haresign *et al.*, 1986). Si les ovules sont trop vieux lors de leur rencontre avec les spermatozoïdes, ils seront plus enclins à montrer des problèmes de développement, résultant en un taux de mortalité embryonnaire plus élevé (Ghalsasi et Nimbkar, 1996; McEvoy *et al.*, 1996). Ce serait aussi tôt que 6 à 10 h suivant l'ovulation que les ovocytes subirait des changements les rendant moins aptes à la fécondation, augmentant ainsi les risques de développement d'anomalies (Thibault, 1967; Baril *et al.*, 1998). Ces études en contredisent d'autres qui ont montré que les ovules ont la capacité d'être fécondés sur une durée de plus de 18 h suivant leur ovulation (Thibault, 1967; Killeen et Moore, 1970; Hunter, 1994). Donc, il apparaît que ce ne serait pas nécessairement l'échec de la fécondation qui serait responsable d'un taux de fertilité plus bas, mais dans certains cas, l'incapacité des ovules fécondés à se développer normalement. Ainsi, malgré une fécondation possible sur une longue période de temps, le taux de fertilité est sensible au moment du dépôt de la semence en fonction du moment de l'ovulation. Dans une étude de Thibault (1967), des accouplements pratiqués à des heures différentes après l'ovulation ont montré que les ovules de brebis avaient la capacité d'être fécondés jusqu'à 24 h suite à l'ovulation sans avoir d'anomalies, mais le taux de fécondation diminuait avec le temps. Ainsi, le taux de fécondation a été 90 % pour les ovules fécondés entre 0 et 10 h après l'ovulation comparativement à 64 à 70 % pour ceux fécondés entre 16 et 24 h. Dans la situation où l'IA est trop hâtive par rapport à l'ovulation, ce serait plutôt les conditions défavorables au niveau de l'utérus des femelles au moment du

dépôt de la semence, la mort des spermatozoïdes avant l'arrivée des ovules et la mortalité embryonnaire due à la fécondation avec des spermatozoïdes trop vieux qui seraient responsables de la perte de fertilité (Amir et Schindler, 1972; Maxwell *et al.*, 1984b; McKelvey *et al.*, 1985). Une étude a d'ailleurs mis en évidence les conséquences d'une insémination trop hâtive dans un contexte d'insémination par laparoscopie suivant un traitement de synchronisation à l'éponge. Des taux de fertilité de 25,9 et 54,5 % ont été observés chez les brebis inséminées à 24 et 36 h du retrait de l'éponge comparativement à 68,0 et 76,0 % pour celles inséminées à 48 et 60 h du retrait respectivement (Maxwell *et al.*, 1984b). Selon les auteurs, cette perte de fertilité aurait été causée par un vieillissement des spermatozoïdes qui auraient attendu trop longtemps dans les oviductes. Toutefois, le moment de l'ovulation n'avait pas été mesuré dans cette étude, il n'est donc pas possible de savoir l'heure à laquelle il faut inséminer par rapport à l'ovulation pour obtenir le meilleur taux de fertilité. Pour éviter une perte de fertilité causée par un vieillissement des gamètes, il serait recommandé de procéder à l'insémination intra-utérine avant l'ovulation plutôt qu'après. Concrètement, l'IA effectuée dans un délai de 12 à 15 h avant l'ovulation assurerait la qualité des ovules et de leur capacité à être fécondé et à se développer normalement (Baril *et al.*, 1998).

Inséminations à temps fixe du retrait du CIDR

L'importance du moment choisi pour inséminer dans la réussite de l'intervention a été montrée concrètement lors de plusieurs essais d'insémination par laparoscopie à temps fixe suivant le retrait du CIDR en saison sexuelle. Une étude en particulier s'est penchée sur le sujet en effectuant plusieurs IA à différents intervalles de temps par rapport au retrait des CIDR (sans injection d'eCG), soit à 26, 44, 49 et 55 h (Smith *et al.*, 1997). Les résultats ont montré un taux de fertilité maximum pour les inséminations à 44 h (64,4 %) comparativement aux autres heures (52,8, 56,0 et 53,6 % pour 26, 49 et 55 h respectivement). Une autre étude a permis d'obtenir des résultats de fertilité supérieurs (72,2 %) en effectuant des IA dans une strate d'heure comparable, soit entre 40 et 43 h suivant le retrait du CIDR (Hiwasa *et al.*, 2009). Ce taux de fertilité plus élevé peut être en partie expliqué par le fait que dans cette expérience, une dose de 500 U. I. d'eCG avait été injectée 24 h avant le retrait du CIDR. Selon les auteurs, cette injection d'eCG a favorisé

une meilleure ovulation chez les femelles permettant l'atteinte d'un taux de fertilité élevé (Hiwasa *et al.*, 2009). Les résultats de ces deux études contrastent avec ceux de Luther *et al.* (2007), qui ont obtenu un taux de fertilité de 80 % sur des brebis ayant été inséminées beaucoup plus tard, soit entre 54 et 60 h après le retrait du CIDR et l'injection de 400 U. I d'eCG. Cette expérience a toutefois été appliquée sur un nombre très limité de sujets, soit seulement une dizaine de brebis et le moment de l'injection d'eCG était différent de celui de l'étude précédente.

Lorsque l'IA est réalisée à temps fixe en fonction du retrait des CIDR, il faut prendre en considération plusieurs facteurs qui feront varier le moment de la venue en chaleur et l'ovulation des brebis : la race, le moment de l'année (saison ou contre-saison) et le protocole de synchronisation utilisé (type d'implants de progestérone, moment d'injection et dose d'eCG). Il faut tenter d'évaluer précisément le moment pour lequel la majorité des brebis ovuleront afin de déterminer l'heure idéale de l'IA suivant le retrait de l'implant de progestérone. Les protocoles d'insémination avec le CIDR sont souvent des copies de ce qui est fait avec l'éponge, mais c'est une erreur de ne pas adapter le programme d'IA au type d'implant puisqu'il a été montré depuis longtemps que le type d'implant de progestérone utilisé influence les événements préovulatoires. L'heure de l'insémination à la suite de la synchronisation à l'éponge sera différente de celle suivant la pose d'un CIDR, l'induction de l'œstrus étant plus hâtive chez les brebis ayant été soumises au CIDR (Fukui *et al.*, 1993a). Cela signifie que l'insémination avec une synchronisation au CIDR aura lieu plus tôt qu'un protocole à l'éponge, avec une moyenne généralement aux alentours de 40 à 54 h du retrait pour les CIDR comparativement à 50 à 65 h du retrait pour les éponges (McKelvey *et al.*, 1985; Eppleston *et al.*, 1991; Findlater *et al.*, 1991; Salamon et Maxwell, 1995a). Cette différence entre les implants de progestérone a été mise en évidence dans une seconde étude qui comparait les éponges FGA et MAP et le CIDR, suivie d'une injection de 500 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait en saison sexuelle (Fukui *et al.*, 1999). Les chaleurs sont apparues plus tôt chez les brebis traitées au CIDR comparativement à celles traitées à l'éponge vaginale FGA ($21,8 \pm 1,2$ h vs $31,2 \pm 3,3$ h). Cette observation va dans le même sens que celle de Rhodes et Nathanielsz (1988) qui ont vu l'œstrus des brebis devancé de 8 à 24 h avec le traitement au CIDR comparativement à l'éponge MAP; les brebis traitées au

CIDR étaient majoritairement en chaleur 24 h suivant le retrait du CIDR comparativement à 48 h pour les éponges. En plus de devancer le moment de la venue en chaleur, le CIDR devancerait aussi le pic de LH de plusieurs heures, le faisant apparaître même aussi tôt que $19 \pm 1,3$ h suite au retrait, comparativement à $24,7 \pm 5,0$ h pour l'éponge FGA et $33,0 \pm 6,1$ h pour la MAP (Fukui *et al.*, 1999). Cette étude a aussi permis de montrer que la variation de l'induction du pic de LH était réduite chez les femelles ayant suivi un traitement au CIDR par rapport à celles traitées à l'éponge. De la même manière, l'ovulation induite par le CIDR serait aussi devancée d'une dizaine d'heures par rapport à celle induite par les éponges (Ghalsasi et Nimbkar, 1996; Fukui *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 1999). Le moment idéal de l'insémination devrait être devancé en conséquence. Le CIDR induirait donc une chaleur plus tôt que les traitements aux éponges, en plus de diminuer la variation entre les animaux concernant le moment de l'induction des chaleurs, ce qui est un avantage lors de l'utilisation de l'insémination à heure fixe du retrait de l'implant sur un groupe de brebis.

Utilisation de béliers pour la détection des chaleurs

Il a été montré que la présence d'un bélier au sein d'un groupe de brebis après qu'elles aient été isolées des mâles sur une période d'un mois influencerait les événements physiologiques qui suivent le retrait d'un implant de progestérone, notamment l'induction des chaleurs et du pic de LH et le moment de l'ovulation. (Lucidi *et al.*, 2001). L'introduction d'un bélier vasectomisé avec un protocole de synchronisation au CIDR permet une induction des chaleurs plus hâtive suivant le retrait et synchronise l'activité ovarienne plus efficacement, réduisant la variation du temps entre le retrait de l'implant et la chaleur (Romano *et al.*, 2000). Dans l'étude de Romano *et al.* (2000), l'introduction d'un bélier au retrait des CIDR ou à 48 h après le retrait chez trois races (Hampshire, Suffolk, White Face) a résulté en une induction des chaleurs beaucoup plus hâtive pour les brebis en contact avec le bélier immédiatement au retrait comparativement à celles mises en contact seulement à 48 h (32,9 vs 53,1 h). De plus, le pourcentage de brebis en chaleurs à 48 h après les retraits était plus élevé chez les brebis en contact avec le bélier au retrait des CIDR comparativement à celles mises en présence du bélier à 48 h après les retraits (95,6 vs 63,4 %). Il faut toutefois souligner qu'étant donné que l'introduction des béliers était

faite seulement à 48 h du retrait, la détection des chaleurs ne pouvait pas être faite plus tôt, ce qui augmente de plusieurs heures la moyenne de venue en chaleur de ce groupe de brebis. La présence d'un groupe intermédiaire, dans lequel le bélier aurait été introduit à 24 h de la chaleur, aurait pu préciser les résultats davantage.

L'effet de la présence des béliers serait optimal lorsqu'ils sont intégrés à la fin du traitement de synchronisation, ce qui augmenterait le taux de fertilité des brebis à l'insémination à condition que l'heure de l'IA soit devancée de 5 h par rapport au protocole standard, dans lequel l'IA est réalisée 55 h après le retrait des éponges (Cognié *et al.*, 1984). Le taux de fertilité obtenu chez les brebis ayant été mises en contact avec un bélier et ayant été inséminées à 50 h du retrait a été de 73,5 % comparativement à 58,8 % chez celles ayant été inséminées à 55 h du retrait. Cette observation a pu être confirmée par une étude qui a procédé à des inséminations à temps fixe à 48 et 56 h du retrait du CIDR et à 44 h du retrait du CIDR suivant la détection des chaleurs par un bélier. Les résultats ont montré une fertilité plus élevée chez les brebis dont l'insémination avait eu lieu à 44 h (64,4 %) à la suite d'une détection des chaleurs par rapport à celles ayant été faites 4 à 11 h plus tard sans détection (56,0 et 53,6 % pour les brebis inséminées à 48 et 55 h) (Smith *et al.*, 1997). L'augmentation de la fertilité lorsque l'IA est devancé de 5 à 10 h est expliquée par le fait que l'introduction des béliers à la fin du traitement progestatif devancerait l'ovulation d'environ 8 h (Cognié *et al.*, 1984). Une étude de Maxwell (1986a) appuie ces observations. Il a observé que l'introduction d'un bélier vasectomisé avait devancé l'ovulation des brebis Mérinos à la suite du retrait de l'éponge, passant de 59,7 h (58,3 à 61 h) à 55,8 h (54,6 à 57,1 h) pour celles ayant été stimulées par le bélier mis au moment des retraits par rapport à celles n'ayant pas été en contact avec ceux-ci. L'introduction ou non d'un bélier doit donc être considérée lors du choix de l'heure de l'insémination pour assurer le meilleur synchronisme avec l'ovulation. Il s'avère aussi que l'introduction d'un bélier suivant un traitement à la progestérone a un effet positif sur la prolificité. La prolificité des brebis mises en contact avec un bélier et inséminées 5 h plus tôt a été de 1,56 agneau/brebis comparativement à 1,40 agneau/brebis pour celles ayant été inséminées à 55 h (Cognié *et al.*, 1984). Les explications concernant l'augmentation de la prolificité

restent encore nébuleuses, d'autres études devraient s'attarder sur le sujet afin de déterminer plus précisément si un bélier est responsable de l'augmentation de la fertilité.

Compte tenu des coûts que représente l'IA par laparoscopie avec semence congelée, il est préférable de n'inséminer que les brebis ayant montré une chaleur suivant le retrait du CIDR (Evans et Maxwell, 1987). Lorsqu'aucune chaleur n'est observée avant l'insémination, les chances d'obtenir une gestation seraient faibles, car il n'y aurait aucune assurance d'une ovulation subséquente, et s'il y a ovulation, elle serait trop tardive pour assurer la fécondation. Les brebis ayant une chaleur trop tôt pourraient aussi être responsables d'une perte de fertilité à l'IA à cause d'un asynchronisme entre le dépôt de la semence et l'ovulation. C'est pourquoi la détection des chaleurs dans un protocole d'insémination semble intéressante afin d'optimiser le taux de fertilité des brebis et réduire les coûts reliés aux inséminations en plus de profiter de l'effet bénéfique sur la fertilité de l'introduction des béliers.

Puisqu'il est possible d'obtenir un taux de fertilité intéressant en insémination à temps fixe du retrait du CIDR, il serait préférable de favoriser ce type de protocole puisqu'il demande moins de main d'œuvre et ne nécessite pas la présence de béliers vasectomisés contrairement à une IA effectuée par rapport à la détection des chaleurs (Fukui *et al.*, 1993a). Pour que cela soit possible, il faudrait que le moment de l'apparition de l'œstrus soit peu variable au sein du groupe à inséminer, soit moins de 12 h entre la première et la dernière à venir en chaleur (Baril *et al.*, 1998). En pratique, la variation entre les sujets est très grande et il est impossible de savoir le moment de l'œstrus des brebis sans une détection des chaleurs. Bref, pour établir un protocole d'insémination efficace, il faut être en mesure d'estimer le moment de l'ovulation des brebis pour espérer atteindre un taux de fertilité maximal. La détection des chaleurs par des béliers facilite donc la sélection des brebis en œstrus dans une plage d'heure restreinte qui permet l'insémination d'un groupe au même moment par rapport à l'ovulation.

2.5. Facteurs qui influencent la fertilité suite à l'insémination par laparoscopie en semence congelée

Puisqu'il existe une très grande variabilité du taux de gestation des brebis à la suite d'une insémination par laparoscopie (40 à 90 %), il est évident qu'il y a de nombreux facteurs qui interviennent sur les résultats. C'est pourquoi les principaux éléments qui peuvent influencer la réussite des inséminations sont discutés dans cette revue dans le but ultime de mieux comprendre les situations qui peuvent être problématiques et connaître les facteurs pouvant favoriser un environnement idéal pour une meilleure fécondation des brebis. Parmi les facteurs les plus importants se retrouvent la race et l'âge des brebis, l'intervalle mise-bas et insémination et l'état de chair.

2.5.1. Race

Plusieurs chercheurs ont souligné que la race pourrait être un facteur qui affecte la réussite de l'insémination. C'est ce qui a été observé par l'équipe de Vallet *et al.* (1995), qui a constaté une variation assez importante de la fertilité des brebis de sept races françaises, soit l'Île-de-France, la Mérino, la Lacaune viande, la Noire du Velay, la Berrichon du Cher, la Causse du Lot et la Solognot, dont la fertilité variait entre 38,5 et 75,9 % après une insémination à 55 h du retrait de l'éponge. La différence de fertilité observée chez différentes races pourrait être expliquée de plusieurs façons. D'abord, il a été mis en évidence par Fair *et al.* (2005) que certaines races produisent des embryons de meilleure qualité que d'autres menant à un meilleur taux de fertilité. Dans cette étude, l'observation du stade embryonnaire a indiqué que la race maternelle prolifique Belclare possédait une plus grande proportion d'ovules fécondés (94 %) ayant atteint le stade de la morula et de blastocyste que la race paternelle Suffolk (59 %) (Fair *et al.*, 2005). Cela serait une des explications de la fertilité plus faible de la race Suffolk, en plus de l'anatomie de leur cervix qui est plus long avec plus d'anneaux cervicaux, notable dans plusieurs travaux scientifiques, dont ceux de Donovan (2001, 2004), qui ont obtenu des taux de fertilité très bas en IA (12 %) comparativement à des brebis Finnish Landrace (65 %). Toutefois, une étude plus récente effectuée par l'équipe de Fair *et al.* (2006) sur des brebis Suffolk et Belclare a plutôt réfuté les résultats qui montraient une différence de qualité des ovocytes

entre les races. En effet, les deux races seraient en mesure de produire des ovocytes de qualité similaires *in vitro* suivant une IA, permettant la production du même taux d'ovocytes au stade de blastocystes (29 vs 25 % pour Belclare et Suffolk) (Fair *et al.*, 2006). Cette nouvelle expérience a mis en lumière que la qualité des ovocytes ne serait pas responsable de la faible fertilité observée chez les Suffolk en IA; ce serait plutôt l'environnement des oviductes et de l'utérus 24 h suivant l'IA qui serait défavorable au développement embryonnaire. Cette situation serait expliquée en partie par le taux de progestérone et d'œstrogènes pendant et après un traitement de synchronisation qui augmenterait plus lentement chez la Suffolk comparativement aux Belclare ou à d'autres races prolifiques (Fair *et al.*, 2006; Fair *et al.*, 2007). À l'inverse de la Suffolk, ce serait une augmentation plus hâtive du taux de progestérone suivant la pose de l'implant qui mènerait à une meilleure ovulation et à un meilleur développement embryonnaire, entraînant une meilleure capacité de fertilisation et de survie embryonnaire chez les races prolifiques comme la Romanov et la Finnoise, reconnues pour leur taille de portée élevée et leur capacité de reproduction exceptionnelle (Fair *et al.*, 2007).

La race peut aussi être en partie responsable du moment de l'œstrus, du pic de LH et de l'ovulation chez les brebis, ce qui peut influencer le moment idéal de l'insémination intra-utérine et expliquer les variations de fertilité en fonction du génotype (Donovan *et al.*, 2001). Il faut cependant considérer qu'il y a une variation individuelle de l'induction de la chaleur à l'intérieur de chacune des races, selon l'âge, l'alimentation, le taux d'ovulation, la saison et la présence ou non d'un bélier (Baril *et al.*, 1993b). Une étude effectuée sur deux races ayant des différences marquées de fertilité suivant l'IA a montré un moment du pic de LH plus hâtif de 3,4 h chez la Suffolk (34,6 h) comparativement à la Belclare (38,0 h) (Fair *et al.*, 2007). Une seconde expérience effectuée avec quatre races différentes de brebis (Suffolk, Texel, Scottish Blackface et Finnish Landrace) a montré que le moment du pic de LH suivant le retrait de l'implant de progestérone n'était pas différent entre les races, tout comme l'intervalle entre le pic de LH et l'ovulation (Donovan *et al.*, 2001). Toutefois, une différence de 4 h a été mise en évidence entre la race Belclare (60,1 h) et la race Finnish Landrace (56,1 h) entre le moment du retrait de l'éponge et l'ovulation. Cette différence demeure assez faible, ce qui rend impossible d'y attribuer totalement les variations de

fertilité. La variation du moment de l'ovulation serait plus ou moins grande selon les races, ce qui faciliterait l'utilisation de protocoles d'IA à temps fixe chez certaines races et le rendrait plus difficile chez d'autres, comme la Suffolk qui présente une très grande variation du moment de l'ovulation (Donovan *et al.*, 2001). Dans ce cas-ci, une détection des chaleurs préalables à l'IA serait donc plus justifiée. Outre le moment de l'ovulation, le taux d'ovulation est aussi influencé par la race. Cela peut avoir comme conséquence un meilleur taux de fertilité et de prolificité à l'insémination pour les races prolifiques étant donné qu'un nombre plus élevé d'ovules est disponible pour la fécondation, augmentant par le fait même les chances de fécondation par les spermatozoïdes (Fair *et al.*, 2007). De plus, puisque les ovulations ont lieu une à la suite de l'autre sur une période de temps de plusieurs heures (Baril *et al.*, 1993a), cela permet d'augmenter la plage d'heure idéale pour l'arrivée des spermatozoïdes et ainsi assurer un bon taux de fertilité sans égard à la prolificité.

L'effet de la race en insémination par laparoscopie semble difficile à établir clairement. C'est pourquoi les protocoles généralement utilisés sont standardisés à toutes les races puisqu'il a été déterminé que la variabilité entre les races était plus faible que la variabilité qu'apporte le protocole de synchronisation qui précède l'insémination (Bodin *et al.*, 1999). Cependant, puisqu'une certaine variation existe entre le retrait de l'implant et le moment de l'ovulation chez certaines races, il serait préférable de déterminer cet intervalle de temps de la façon la plus précise possible afin d'adapter le protocole d'insémination à chacune des races dans le but d'atteindre un taux de gestation maximum. C'est ce qui a été fait avec la race Suffolk en France, pour laquelle le délai de l'insémination suite au retrait de l'éponge a été augmenté à 57-60 h comparativement au 55 h généralement utilisé dans les protocoles, ce qui a eu comme résultat une augmentation importante de la fertilité suite à l'IA, passant de 25-30 % à 60-65 % (Bodin *et al.*, 1999).

La grande variabilité des résultats concernant l'effet de la race est expliquée de diverses façons. Il y aurait, entre autres, une variation individuelle importante entre les sujets d'une même race. De plus, plusieurs protocoles de synchronisation différents sont utilisés selon le

pays et les équipes de recherche. Ainsi, les différences de méthodologie des expériences sont en cause, avec les méthodes de détection des chaleurs et d'évaluation du taux d'ovulation, l'alimentation des brebis, leur âge et la saison qui ne sont pas toutes similaires. Pourtant, il demeure une différence de fertilité entre les races qui est observable lors de l'insémination. Il s'agit de continuer les recherches afin de mieux identifier les raisons physiologiques. Il serait intéressant d'évaluer la possibilité d'adapter les protocoles d'IA en semence congelée selon la catégorie de brebis utilisée, soit paternelle, maternelle ou prolifique afin d'englober plusieurs races dans un même type de protocole.

2.5.2. Âge

L'âge est un facteur déterminant lors de l'utilisation de l'insémination puisqu'il a été montré maintes fois dans la littérature qu'il pouvait avoir un impact sur la fertilité. En effet, les taux de gestation et d'agnelage suivant une insémination par laparoscopie ont été influencés par l'âge des brebis dans une étude de Fukui *et al.* (2010). Les brebis de 3 ans et moins ont obtenu un taux de gestation plus élevé (69,9 %) que les brebis de 3 à 4 ans (28,3 %), de 5 à 6 ans (38,5 %) et de plus de 7 ans (18,8 %). L'âge n'a toutefois pas affecté la prolificité des brebis (1,48, 1,62, 1,56 et 1,33 agneau né/brebis pour les brebis < 3, 3-4, 5-6 et >7 ans). Les auteurs affirment que les brebis plus âgées ont plus de chances d'avoir des problèmes reproductifs et des ovulations de moins bonne qualité que les jeunes brebis, limitant leur capacité à être fécondées. Des résultats similaires ont été observés dans une seconde étude, pour laquelle les brebis de 2 ans étaient les plus fertiles (69 %) par rapport à celles de 3 ans (66 %), 4 ans (63 %), 5 ans (60 %) et 6 ans (57 %) (Shackell *et al.*, 1990). Une autre étude appuie ces résultats, avec une fertilité plus importante chez les brebis ayant entre 1,5 et 3,5 ans (60,7 %) comparativement à celles ayant plus de 3,5 ans (52,0 %) (Colas *et al.*, 1973). Ces résultats peuvent toutefois s'expliquer autrement. Il apparaît que les jeunes brebis seraient plus sensibles aux injections d'eCG faisant partie du protocole de synchronisation des chaleurs, ce qui leur permettrait d'obtenir un taux de fertilité plus élevé relié à une meilleure ovulation. Pourtant, certains chercheurs contredisent les études précédentes en affirmant que l'âge n'a pas d'effet sur le taux de gestation (Smith *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 1999). Malgré ces contradictions, il est tout de même évident que plus

les brebis avancent en âge, plus elles sont à risques de désordres sur le plan du système reproducteur et du taux d'ovulation, comparativement aux jeunes brebis. Les agnelles n'ayant jamais mis bas sont aussi plus à risque de réduire le taux de fertilité puisqu'elles peuvent cacher des désordres de reproduction qui n'ont pas encore été observés.

L'âge des brebis inséminées peut être déterminant concernant l'atteinte d'un taux de gestation optimal en IA puisqu'il aurait un impact direct sur les événements physiologiques menant à l'ovulation. Il est intéressant de noter que, malgré une fertilité à l'IA de 15 à 20 % inférieure chez les agnelles comparées aux brebis multipares (Salamon et Robinson, 1962), aucune différence n'a été obtenue pour l'intervalle entre le retrait de l'éponge et le pic de LH et le niveau de progestérone dans le sang durant le traitement de synchronisation en saison sexuelle (Quirke *et al.*, 1981). Cependant, certaines différences entre les brebis adultes et les agnelles sont observables, sur le plan de l'intervalle entre le retrait de l'éponge et la chaleur qui est plus court chez les brebis (31,2 h) que l'agnelle (36,9 h) et l'intervalle entre la chaleur et le pic de LH qui est plus long chez la brebis (6,4 h) que l'agnelle (3,8 h) (Quirke *et al.*, 1981). Une seconde étude appuie ces résultats, avec l'œstrus des agnelles qui a été retardé de 10 h comparativement aux brebis adultes (Fenton *et al.*, 1997). En effet, l'heure moyenne de l'induction des chaleurs des agnelles a été de $43,2 \pm 1,0$ h comparativement à $33,6 \pm 1,0$ h, $33,3 \pm 1,0$ h et $34,5 \pm 1,0$ h pour les brebis de 2-3 ans, 3-4 ans et de 4 ans et plus respectivement. Concrètement, la plus faible fertilité observée chez les agnelles serait expliquée leur système reproducteur qui serait moins développé (Baril *et al.*, 1993b) et le fait qu'elles n'aient jamais agnelé peut cacher une défaillance du système reproducteur qui n'a pas encore été décelée. Cette situation est toutefois peu fréquente dans un troupeau. C'est pourquoi il ne serait pas recommandé d'utiliser des agnelles dans un protocole d'insémination par laparoscopie puisque leur fertilité plus faible rendrait la procédure moins rentable. Par contre, Anel *et al.* (2005) affirme que les agnelles seraient aussi bonnes à inséminer que les brebis multipares. Elles répondent aussi bien que les brebis aux traitements de synchronisation, même s'il y a quelques différences par rapport aux événements hormonaux. Malgré tout, la bonne réponse au traitement de synchronisation laisse croire qu'elles seraient de bonnes candidates pour des inséminations intra-utérines, puisqu'il n'y a aucune restriction au

niveau du système reproducteur, comme ce serait le cas dans une insémination cervicale. Il faudrait toutefois prendre en considération leurs particularités physiologiques et utiliser un protocole d'insémination adapté à ce groupe.

2.5.3. Intervalle mise bas - IA

La durée de l'intervalle entre la mise bas et l'insémination, ou intervalle post-partum (IPP), est cruciale pour l'atteinte d'un taux de gestation optimal en insémination puisque les brebis en production doivent avoir eu un repos suffisamment long après l'agnelage précédent afin d'assurer une reprise de l'activité ovarienne satisfaisante (Baril *et al.*, 1993b). Cette période de repos est nécessaire afin de permettre l'involution complète de l'utérus et donc préparer un environnement favorable à la prochaine gestation. L'effet de cet intervalle est plus ou moins important selon le système d'élevage utilisé. Les systèmes de production intensifs, qui impliquent plus d'un agnelage par brebis par année (3 agnelages en 2 ans), doivent réduire au minimum les périodes improductives chez la brebis. Cette situation fait en sorte que les brebis sont plus à risque d'avoir un intervalle trop court entre l'agnelage et l'IA, ce qui pourrait réduire leur taux de fertilité. Un intervalle inférieur à 40 à 50 j suivant l'agnelage aurait un impact négatif sur la fertilité des sujets en IA, et ce même si cet intervalle se situe au-dessus des 28 j réputés nécessaires à l'involution utérine (Tchamitchian *et al.*, 1973). Par ailleurs, certains chercheurs recommandent une limite minimale de 50 à 70 j pour assurer des résultats de reproduction en IA d'au moins 50 % de fertilité (Bodin *et al.*, 1999; Anel *et al.*, 2005). La prolificité semble aussi être influencée par l'IPP avec une augmentation du nombre d'agneaux nés chez les brebis ayant eu un repos de plus de 65 j, avec 3,1 agneaux nés par brebis comparativement à 2,7 agneaux nés chez les brebis ayant un IPP de 50 j (Cognié, 1988).

L'évaluation du moment de la première chaleur et de la première saillie suite à l'agnelage peuvent donner un bon indice sur l'IPP minimum requis afin d'assurer un taux de fertilité satisfaisant. Par exemple, un essai effectué sur 46 brebis Romanov a montré que 96 % d'entre elles présentaient leur premier œstrus entre 11 et 47 j suivant la mise bas, pour une moyenne de 24 j. Toutefois, la fertilité des saillies sur ce premier œstrus n'a été que de

11,4 % (Tchamitchian *et al.*, 1973). Une seconde étude appuie ces résultats puisque la détection des chaleurs des brebis Dorset, Finnish Landrace et croisées a montré une venue en chaleur de 64 % de celles-ci entre 30,2 et 41,9 j suite à l'agnelage (Land, 1971). Cet œstrus précoce n'a cependant pas été corrélé avec un taux de fertilité élevé, puisque seulement 31 % des brebis en chaleur ont été saillies, et de celles-ci, seules 46 % étaient gestantes. Cela montre que même si la brebis montre un œstrus précoce suivant l'agnelage, la fertilité est tout de même limitée. De plus, l'induction rapide des chaleurs suivant l'agnelage montre une tendance à des cycles courts de moins de 10 j et des cycles anormaux de 13 à 20 j, ce qui signifierait une formation de corps jaunes non fonctionnels et une défaillance de la libération de LH, pouvant être responsable d'une perte de fertilité passant de 45,4 % à 16,6 % (Land, 1971; Tchamitchian *et al.*, 1973). Certaines races prolifiques sont moins sensibles à la longueur de cet intervalle, comme la Romanov ou la Finnish Landrace, puisque leur taux de survie embryonnaire et leur taux d'agnelage ne sont pas significativement diminués lorsque la durée de l'intervalle n'est que de 50 j en saison de reproduction suite à une synchronisation (Cognié, 1988). De plus, certaines races prolifiques ont un œstrus post-partum plus précoce et plus fertile, la Finnoise obtenant de meilleurs taux de gestation (77 %) que la Dorset (29 %) lorsque la saillie a lieu entre 40 et 50 j post-partum (Land, 1971).

Il faudrait éviter d'inséminer des brebis ayant un intervalle de moins de 40 j, même si elles montrent un comportement d'œstrus, pour s'assurer de la reprise normale de la cyclicité des brebis. Un IPP situé entre 65 et 80 j serait donc plus adapté pour des brebis soumises à un protocole d'IA et à un système d'élevage accéléré en saison sexuelle afin d'éviter les pertes de fertilité.

2.5.4. État de chair

Il a été montré maintes fois dans la littérature qu'un bon état de chair des brebis à la saillie avait une influence positive sur le taux d'ovulation, la fertilité et la survie embryonnaire (Gunn *et al.*, 1969; Adalsteinsson, 1979; Gunn et Doney, 1979; Rhind et McNeilly, 1986; Gonzalez *et al.*, 1997). Plusieurs chercheurs recommandent un état de chair aux alentours

de 3,0 (0 étant très maigre et 5 étant très gras) pour toutes les mises à la saillie (Husein et Ababneh, 2008; Contreras-Solis *et al.*, 2009; Fukui *et al.*, 2010; McCappin et Murray, 2011). Par exemple, une étude qui comparait les performances reproductives de brebis ayant un état de chair de 3,0 et de 1,5 rapporte un taux d'ovulation près de deux fois plus élevé chez les brebis ayant un meilleur état de chair (2,1 vs 1,2 ovulation pour un état de chair de 3,0 vs 1,5) (Gunn *et al.*, 1969). Ce taux d'ovulation plus élevé a permis l'atteinte d'une prolificité elle aussi plus grande, de l'ordre de 1,58 agneau né/agnelage pour les brebis dont l'état de chair était de 3,0 et de seulement 0,93 agneau né/agnelage pour les brebis dont la condition n'était que de 1,5. Une seconde étude faite par les mêmes auteurs rapporte les mêmes observations : les brebis ayant un état de chair de 3,0 avaient un taux d'ovulation plus élevé (1,8 ovulation) que les brebis qui avaient un état de chair de 2,0 (1,2 ovulation) (Gunn et Doney, 1979). Aussi, il a été montré que des brebis ayant un état de chair de moins que 2,0 avaient le taux de fertilité le plus faible (32,7 %), celles ayant une note de 2,0 à 3,0 avaient un taux acceptable (48,3 %) tandis que celles qui avaient un état de chair de 3,0 et plus montraient le meilleur taux de fertilité (58,8 %) (Santolaria *et al.*, 2011). Ces études confirment qu'il est primordial de bien préparer les brebis plusieurs semaines avant l'insémination afin de s'assurer d'un taux d'ovulation maximal qui permettra l'atteinte d'un niveau de productivité plus élevé.

La mortalité embryonnaire est aussi influencée par l'état de chair. Elle est plus élevée chez les brebis ayant un état de chair plus faible que 2,0 (40 %) comparativement à celles se situant à 3,0 (18 %) (Gunn et Doney, 1979). Ce taux de mortalité embryonnaire plus élevé combiné à un taux d'ovulation plus faible chez les brebis ayant un état de chair plus bas que 2,0 serait donc responsable d'une diminution importante de la prolificité.

Concrètement, l'état de chair aurait un impact sur les performances à la reproduction en affectant directement l'activité hypothalamique, ce qui aurait des conséquences sur la sécrétion de GnRH (Rhind *et al.*, 1989). En modifiant la libération de GnRH, l'état de chair serait responsable du changement dans les concentrations d'hormones ovariennes, qui mènerait à de moins bonnes ovulations. C'est ce qui expliquerait la perte de fertilité chez

les brebis trop grasses, qui peuvent montrer une perte pouvant se chiffrer à 9 % pour des brebis dont l'état de chair est plus grand que 3,5 comparativement aux brebis avec un pointage de 3,0 ou moins. (McCappin et Murray, 2011). En analysant les différents articles scientifiques, il devient clair que l'état de chair optimal à viser lors de l'insémination serait situé entre 2,5 et 3,5.

2.6. Conclusions

Un nombre important d'études se sont penchées sur l'IA avec semence congelée chez l'espèce ovine. La littérature montre que les protocoles utilisés varient grandement, tout comme les conditions dans lesquelles les IA sont pratiquées (saison, race, régie d'élevage, etc.), ce qui fait grandement varier les taux de fertilité. L'utilisation du CIDR pour la synchronisation des chaleurs fait aussi partie de nombreuses études, mais aucun protocole standard ne semble faire consensus au sein de la communauté scientifique. De plus, lorsque les études incluent l'utilisation du CIDR et l'insémination intra-utérine par laparoscopie, très peu d'entre elles sont faites dans des conditions qui caractérisent les élevages québécois : inséminations en saison sexuelle, système d'agnelages accéléré (IPP plus court), utilisation de races maternelles prolifiques comme la Romanov, traitements au CIDR combiné avec de l'eCG.

Au Québec, le protocole standard d'utilisation du CIDR s'effectue normalement en contre-saison et implique un traitement d'une durée de 14 j avec une injection d'eCG au retrait. Ce protocole est une copie de ce qui était fait auparavant avec l'éponge. Toutefois, copier intégralement les protocoles d'insémination « recommandés » avec l'éponge pour les transposer au CIDR serait une erreur puisque la littérature montre bien que les moments de la chaleur et de l'ovulation sont modifiés selon le type de produit de synchronisation utilisé (CIDR vs éponge), la dose et le moment de l'injection de l'eCG. Plus encore, plusieurs chercheurs ont remis en cause la durée du traitement en affirmant que le taux de progestérone sanguine à la fin d'un traitement de 12-14 j au CIDR était insuffisant pour bien induire les événements physiologiques menant à l'ovulation. C'est pourquoi certains chercheurs se sont aventurés sur une nouvelle avenue : le protocole de courte durée. Celui-

ci permettrait de maintenir le taux de progestérone suffisamment élevé pour assurer une meilleure induction des chaleurs et favoriser les ovulations. Toutefois, l'utilisation d'un tel protocole en saison de reproduction a très peu été étudiée.

Cette revue de la littérature a permis de préciser les données concernant l'induction des chaleurs avec un traitement au CIDR combiné avec eCG et les taux de fertilité pouvant être espérés en laparoscopie, ainsi que les facteurs pouvant les influencer. En effet, l'induction des chaleurs avec le CIDR est beaucoup plus rapide que ce qui est observé avec l'éponge vaginale et l'injection d'eCG 24 h avant le retrait permettrait de devancer et mieux regrouper les chaleurs en plus de favoriser un meilleur développement folliculaire. Cette méthode de synchronisation est donc efficace et s'adapte bien à un protocole d'insémination. L'utilisation d'un bélier vasectomisé pour la détection des chaleurs semble être une avenue prometteuse dans le cadre d'IA, puisqu'elle permet une meilleure induction des chaleurs des brebis tout en permettant l'exclusion des sujets ne démontrant pas de signe d'œstrus. De plus, cette technique permet de déterminer précisément le moment de l'œstrus et ainsi envisager de procéder à une IA par rapport à celle-ci. Cette avenue a très peu été étudiée dans la littérature, mais semble intéressante.

Ce sont moins de 20 études traitant de l'insémination intra-utérine par laparoscopie en semence congelée précédée d'une synchronisation des chaleurs au CIDR et d'une injection à l'eCG qui ont pu être répertoriées. De plus, très peu d'études ont testé ce type de protocole sur les races de brebis fréquemment utilisées au Canada. En effet, l'utilisation de brebis prolifiques en insémination est rare dans la littérature, et l'utilisation plus spécifique de races populaires au Québec comme la Romanov est inexistante. La brebis maternelle prolifique est de plus en plus utilisée au Québec, et ses capacités de reproduction diffèrent des autres races, ce qui pourrait être un facteur de variation de l'efficacité d'un traitement au CIDR et de l'insémination. D'ailleurs, il a été montré par plusieurs études que la race aurait un effet sur le moment de l'ovulation et la fertilité à l'insémination. De plus, l'utilisation de la brebis prolifique dans un système d'agnelage accéléré pourrait avoir un effet négatif sur la fertilité. En effet, dans la littérature, il est bien connu que l'IPP peut

affecter négativement la fertilité lorsqu'il est trop court en empêchant la reprise de l'activité sexuelle normale et une bonne réponse au traitement de synchronisation.

Un dernier point à souligner concerne l'insémination par laparoscopie. Cette technique est utilisée dans plusieurs pays, mais très peu au Québec. Il semblerait que ce soit la procédure la plus efficace en semence congelée pour l'atteinte d'un taux de fertilité acceptable. La procédure utilisée est relativement bien maîtrisée dans la littérature, mais les taux de fertilité obtenus demeurent variables. C'est pourquoi l'élaboration d'un protocole d'insémination dans les conditions spécifiques au Québec permettrait de mieux développer cette technique et ainsi espérer l'obtention de taux de fertilité intéressants de façon routinière de manière à pouvoir améliorer la génétique ovine.

2.7. Objectifs et hypothèses de recherche

Les objectifs spécifiques du projet de recherche étaient de :

1. Comparer trois protocoles de synchronisation des chaleurs utilisant le CIDR en combinaison avec l'eCG et la PGF_{2 α} chez la brebis prolifique Romanov en saison sexuelle;
2. Caractériser l'effet physiologique du CIDR (concentrations de progestérone, moment de la venue en chaleur, pic de LH);
3. Comparer les performances (fertilité, prolificité, efficacité) de trois protocoles d'insémination par laparoscopie avec de la semence congelée chez la race Romanov.

Après une analyse de la littérature sur le sujet à l'étude, les hypothèses de recherche suivantes ont été posées :

1. Un traitement au CIDR de courte durée (5 j) permet une meilleure induction et synchronisation des chaleurs qu'un traitement de longue durée (14 j) ;

2. L'injection d'eCG la veille du retrait du CIDR devance et regroupe les chaleurs des brebis par rapport à l'injection au retrait ;
3. L'insémination à 24 h du début de la chaleur augmente le taux de fertilité par rapport à une insémination à heure fixe du retrait du CIDR (48 h).

CHAPITRE 3.

UTILISATION DU CIDR EN INSÉMINATION AVEC SEMENCE CONGELÉE CHEZ LA BREBIS ROMANOV

3.1. Introduction

Le développement des technologies dans le domaine de la reproduction animale est en ébullition depuis de nombreuses années afin de trouver des techniques qui permettent d'augmenter rapidement la qualité génétique des sujets dans le but de maximiser la productivité des animaux d'élevage. L'arrivée de l'insémination a permis cet avancement, notamment pour les troupeaux de bovins laitiers et de porcs, puisque cette technique s'applique efficacement avec un bon taux de réussite chez ces espèces. L'insémination offre en effet de nombreux avantages : augmentation rapide de la qualité génétique des troupeaux, maintien de la variabilité génétique des sujets de race pure, éradication de certaines maladies récurrentes par la sélection d'allèles résistants (ex. la tremblante chez le mouton), maintien d'un niveau sanitaire plus élevé grâce à la semence qui est contrôlée et la diffusion à grande échelle du matériel génétique des mâles améliorateurs à des milliers de femelles qui produiront une quantité importante de progénitures annuellement (Evans, 1988; Baril *et al.*, 1993b; Brice *et al.*, 1995b; Alexander *et al.*, 2010; Eikje *et al.*, 2011). Cependant, en production ovine, l'utilisation de cette technique est relativement limitée, puisqu'il est impossible de déposer la semence directement dans les cornes utérines. Cette situation particulière implique une intervention chirurgicale, la laparoscopie. Toutefois, cette technique d'insémination demande de la préparation, beaucoup d'expertise pour obtenir un bon taux de réussite et requiert l'importation de semence congelée (Donovan *et al.*, 2004; Anel *et al.*, 2006; Purdy *et al.*, 2009). De plus, l'élevage en groupes des brebis demande une synchronisation des chaleurs préalable à l'insémination pour s'assurer d'une ovulation et de l'efficacité de la technique. Ainsi, l'insémination par laparoscopie est beaucoup plus dispendieuse que la saillie naturelle (Maxwell et Evans, 2009; Purdy *et al.*, 2009). C'est pourquoi il faut être efficace à toutes les étapes du protocole, notamment lors

de la synchronisation des chaleurs. L'utilisation du CIDR devient donc essentielle pour synchroniser les chaleurs et ainsi assurer la réussite de la technique. Toutefois, l'efficacité du CIDR utilisé lors de la synchronisation est variable, notamment au niveau du moment de l'induction de l'œstrus et du niveau de progestérone libéré dans le sang pendant le traitement (Ainsworth et Downey, 1986; Maxwell, 1986a; Wheaton *et al.*, 1993; Fukui *et al.*, 1999). De plus, les protocoles qui l'utilisent sont généralement des copies de ce qui était fait avec l'éponge vaginale, un implant progestatif avec une source de progestérone différente (Wildeus, 2000). Il est donc primordial de déterminer avec plus de précision l'efficacité du CIDR et son effet sur l'induction des chaleurs pour ainsi pouvoir établir le moment idéal pour procéder à l'insémination avec de la semence congelée chez la brebis dans l'optique d'optimiser la fertilité.

3.2. Matériel et Méthodes

3.2.1. Semence congelée

La semence de sept béliers Romanov (RV) a été importée de France. Elle provenait du centre d'insémination *Insem Ovin* (http://insemovin.pagesperso-orange.fr/fr_acceuil.htm) qui travaille avec la société coopérative agricole GEODE (Génétique ovine et développement – www.geodesheep.com). Les importations de la semence ont été effectuées sur deux années : à l'automne 2012 (année 1), la semence d'un seul bélier RV a pu être importée alors qu'à l'automne 2013 (année 2), il a été possible d'importer la semence de six béliers. Au total, ce sont 376 paillettes qui ont été importées.

Le protocole de congélation de la semence comprenait six étapes. D'abord, la motilité et la concentration ont été déterminées sur la semence fraîche à 37°C. Par la suite, il y a eu une dilution dans une solution de lactose et de jaune d'œuf avec une diminution de la température graduelle à 4°C. Il s'en est suivi une seconde dilution dans le lait et le glycérol. La semence a ensuite été mise en paillettes et congelée à -70 °C. Ces paillettes avaient une concentration de 400 millions de spermatozoïdes/ml. Puisque c'était des paillettes de 250 µL qui ont été utilisées, elles contenaient 100 M spz. Finalement, les paillettes ont été immergées dans de l'azote liquide à -196 °C.

Lors de l'année 1, la semence de l'unique bélier était répartie en six dates de récoltes différentes. Ces dates de récoltes ont été utilisées aléatoirement lors des inséminations, sans répartition préalable. Ce sont donc deux à cinq dates de récoltes qui ont été utilisées par essais. Lors de l'année 2, une seule date de récolte correspondait à chacun des six béliers utilisés. La semence de ces six béliers a été répartie le plus également possible dans chacun des traitements. Ce sont entre 20 et 22 paillettes par bélier qui ont été utilisées pour l'insémination.

3.2.2. Animaux

Six essais ont eu lieu sur deux ans (année 1, année 2) dans quatre élevages ovins commerciaux (A, B, C et D) pendant la saison de reproduction naturelle des brebis (année 1 : deux essais en décembre 2012, un en janvier 2013 et un en février 2013 ; année 2 : deux essais en novembre 2013). Dans chacun des essais, des groupes de 53 à 68 brebis Romanov ont été assignés de façon aléatoire à un des trois protocoles de synchronisation de l'œstrus, pour un total de 360 brebis synchronisées.

Les brebis sélectionnées étaient des femelles matures ayant agnelé au moins une fois et qui avaient eu un agnelage normal lors de la dernière mise bas, qui étaient tarées depuis en moyenne 87 ± 48 jours avant la pose du CIDR et qui avaient un intervalle « dernier agnelage-retrait du CIDR » de 164 ± 49 jours. Les caractéristiques des brebis de chacun des groupes d'insémination étaient statistiquement identiques pour chacun des traitements et sont présentées dans le Tableau 3.1.

3.2.3. Régie d'élevage

Lors de chaque essai, les brebis d'un traitement de synchronisation spécifique ont été logées ensemble dans un seul parc. Les parcs de chacun des traitements n'étaient pas adjacents entre eux, ni adjacents à des brebis à la saillie ou à un parc de béliers afin d'éviter

Tableau 3.1 Description des brebis Romanov traitées au CIDR dans le cadre des six essais de comparaison des protocoles d'insémination

	A¹		B	C		D
	# 1	# 2		# 1	# 2	
Brebis synchronisées (n)	53	68	61	58	60	60
Poids (kg)	62,5	56,6	62,0	66,5	67,4	63,3
Âge (an)	3,2	2,9	3,2	3,0	3,4	4,7
État de chair ²	3,3	3,0	3,1	3,2	3,1	3,2
Parité (n)	1,6	1,9	2,7	2,6	3,3	3,9
Prolificité à vie ³	2,5	2,5	2,8	2,6	2,7	2,6
Intervalle « dernier agnelage-retrait du CIDR »	247,9	169,8	163,6	128,7	124,7	160,0

¹ Les lettres A, B, C et D réfèrent à un élevage ; #1, #2 réfèrent à des répétitions des essais dans un même élevage

² L'état de chair réfère à une évaluation de l'état corporel des brebis sur une échelle de 1 à 5 (1 étant très maigre et 5 étant très gras)

³ Nombre total d'agneaux nés/Nombre total d'agnelages

toute influence autre que le traitement de synchronisation sur l'induction des chaleurs des brebis expérimentales. Les brebis ont été mises à l'écart des béliers pendant toute la durée des traitements de synchronisation de l'œstrus.

Les brebis étaient sous un régime d'éclairage naturel, sauf pour un des six essais. Les brebis de l'élevage B suivaient un programme de photopériode artificielle à longueur d'année (4 mois jours courts/4 mois jours longs en succession). Le calendrier avait été ajusté de manière à ce que les brebis soient exposées à des jours courts pour une période se situant entre 80 et 133 j avant l'insémination afin de s'assurer que toutes les brebis soient cycliques au moment de la pose des CIDR.

Pendant la période expérimentale, les brebis ont reçu une alimentation comprenant de l'ensilage de maïs ou de l'ensilage d'herbe. Chez le producteur D qui ne disposait pas d'ensilage, la ration était composée de foin de graminées auquel était ajouté de la moulée commerciale. Les blocs de minéraux et l'eau ont été offerts à volonté. Toutes les brebis d'un même essai ont eu la même alimentation entre le début des traitements de synchronisation et l'échographie de gestation. Le régime alimentaire a été établi par les éleveurs quelques semaines avant le début des interventions dans le but d'atteindre un état de chair (cote 0=très maigre ; cote 5=très grasse) uniforme d'environ 3,0 entre les sujets.

3.2.4. Répartition et traitements

Dans chacun des essais, les brebis ont été réparties pour former trois groupes uniformes en terme de poids, d'état de chair, d'âge, de parité, de prolificité à vie (nombre total d'agneaux nés/nombre total d'agnelages) et d'intervalle de temps entre la date du dernier agnelage et la date prévue des retraits des CIDR (nombre de jours). Chacun des trois groupes a été assigné à un des trois traitements suivants (Figure 3.1) : (T14) traitement au CIDR de 14 j avec injection d'eCG la veille du retrait et IA 24 h après le début de la chaleur; (T5) traitement au CIDR de 5 j avec injection d'eCG et de PGF2 α la veille du retrait et IA

24 h après le début de la chaleur; (Témoin) traitement au CIDR de 14 j avec injection d'eCG au retrait et IA à 48 h du retrait.

Lors de l'insertion du CIDR à l'aide de l'applicateur fourni par la compagnie (Zoetis Animal Health, Montréal, Québec), le fil de nylon a été recourbé à l'intérieur du vagin de la brebis afin de ne pas l'exposer à l'extérieur. Pour les trois traitements, une injection intramusculaire de 350 U. I. d'eCG dans le gigot (Folligon, Intervet Canada Ltd., Whitby, Ontario) a été effectuée au retrait ou 24 h avant le retrait du CIDR, selon le traitement. Le traitement T5 recevait une injection intramusculaire de 20 mg de PGF_{2α} (Lutalyse ; Pfizer Animal Health, Montréal, Québec) 24 h avant le retrait du CIDR. Les inséminations ont été réalisées dans un délai de 48,1 ± 0,6 h après le retrait du CIDR pour le groupe Témoin et 24,5 h ± 0,7 h et 24,3 h ± 0,7 h après le début de la chaleur pour les brebis des groupes T14 et T5. Les inséminations ont été effectuées uniquement chez les brebis ayant montré une chaleur (voir section suivante).

3.2.5. Détection des chaleurs

Plusieurs béliers vasectomisés ont été utilisés afin de procéder à la détection des chaleurs des brebis. Dans cinq des six essais, ce fut trois béliers vasectomisés qui ont été utilisés, soit un par traitement. Chacun des béliers vasectomisés était équipé d'un harnais marqueur. En absence de béliers vasectomisés (essai D), un bélier entier muni d'un tablier a été utilisé.

Lors des essais de l'année 1 (A1, B, C1 et D), les brebis du groupe Témoin ont été séparées en trois sous-groupes ayant des heures de retrait du CIDR différentes durant la journée (11h00, 13h00 et 15h00), afin de mieux répartir la réalisation des inséminations à temps fixe au cours de la journée d'IA. Pour les traitements T14 et T5, les CIDR ont été retirés au même moment, à 16h00. Les béliers vasectomisés ont été introduits dans tous les parcs 15 h après le retrait des CIDR des brebis T14 et T5. Dans le but de standardiser l'intervalle entre

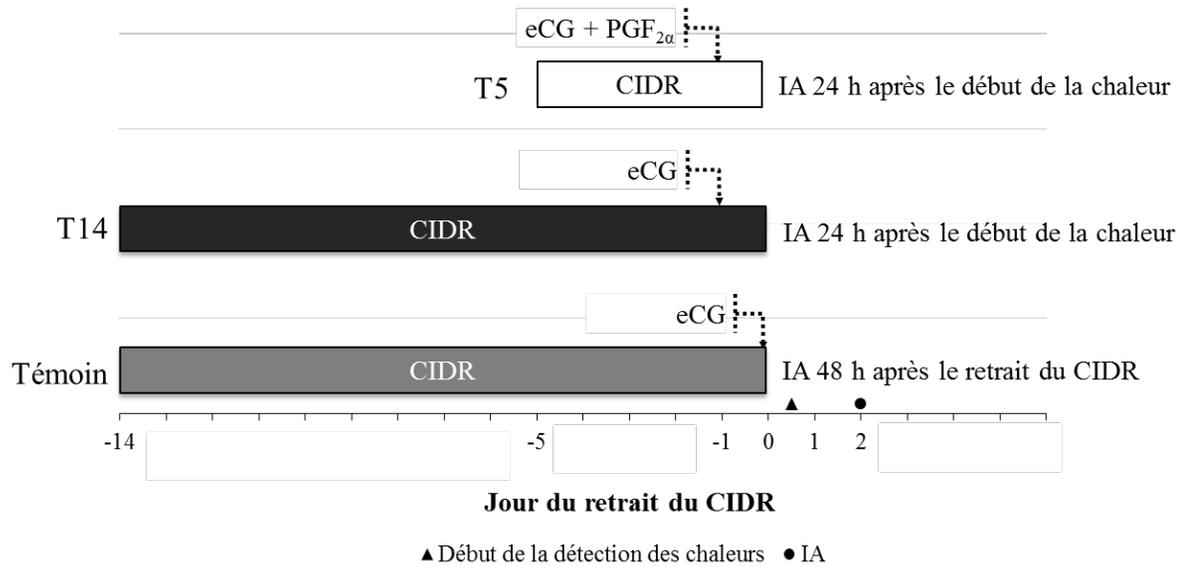


Figure 3.1 Dispositif expérimental présentant les traitements de synchronisation des chaleurs et d'insémination artificielle. (T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR, T5 : CIDR pendant 5 j et 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF_{2α} 24 h avant le retrait du CIDR, Témoin : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR).

le retrait du CIDR et l'introduction des béliers vasectomisés entre les groupes lors de l'année 2 (A2 et C2), les retraits des CIDR ont été effectués à 15h00 pour tous les traitements. Les béliers vasectomisés ont ensuite été introduits dans les groupes à 12 h du retrait des CIDR. La vérification des brebis montées par le bélier vasectomisé a été effectuée en continu ou à intervalle d'une heure maximum. Les béliers ont été changés de groupe toutes les 30 à 60 minutes. Les brebis marquées par le bélier ou montrant un comportement typique de l'œstrus ont été retirées des parcs. La détection dans chacun des traitements a été faite jusqu'à ce que toutes les brebis soient en chaleur où jusqu'à 27 h suivant le retrait des CIDR. Les brebis qui ne sont pas venues en chaleur après ce délai ont été retirées des groupes et n'ont pas été inséminées.

3.2.6. Inséminations

Les brebis ont été inséminées par laparoscopie. Toutes les inséminations ont été faites sous sédation légère avec de la xylazine (6-8 mg/brebis ; Rompun, Bayer HealthCare, Montréal, Québec) et avec anesthésie locale aux deux sites d'incision (1 ml/site ; Lidocaïne, Wyeth Animal Health, Guelph, Ontario). La semence a été décongelée pendant 30 sec dans de l'eau à 37°C. La paillette a ensuite été placée dans un pistolet d'insémination spécifique pour la technique de la laparoscopie. La semence a été déposée dans la lumière des deux cornes utérines au niveau de la grande courbure.

3.2.7. Gestation et agnelage

Des échographies ont été pratiquées entre les jours 39 et 46 suivant les inséminations. Les brebis non gestantes ont été séparées des groupes d'insémination pour être remises aux béliers. À l'agnelage de chaque brebis, la date et le nombre d'agneaux nés ont été notés.

3.2.8. Mesures de la progestérone et de la LH

Des prélèvements sanguins ont été effectués sur un groupe de 20 brebis RV (fin février au début mars 2013) afin de pouvoir mesurer la concentration de progestérone et de LH pendant et suite à un traitement au CIDR. Les animaux étaient semblables à ceux utilisés

dans les essais principaux et ont été répartis de la même façon que décrit précédemment dans les trois traitements évalués (T14, n=7 ; T5, n=7 ; Témoin, n=6). La détection des chaleurs a été faite entre 15 h et 27 h suivant le retrait du CIDR. Ces brebis n'ont cependant pas été inséminées.

3.2.8.1. *Mesures de la progestérone*

Pour les brebis T14 et Témoin, les prélèvements sanguins ont eu lieu aux jours -14 (pose des CIDR), -12, -7, 0 (retrait des CIDR) et 1. Pour les brebis T5 ils ont eu lieu aux jours -5 (pose des CIDR), -3, 0 (retrait des CIDR) et 1.

Les échantillons sanguins ont été prélevés dans la veine jugulaire à l'aide de tubes héparinés de 10 ml (Vacutainer®, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Après le prélèvement, les tubes ont été placés sur la glace et centrifugés ($1\ 300 \times g$ durant 10 min à $4\ ^\circ\text{C}$). Le plasma a été recueilli et congelé à $-20\ ^\circ\text{C}$ dans des microtubes en polypropylène jusqu'au moment des dosages. La progestérone plasmatique a été dosée à l'aide d'une trousse commerciale (Coat-a-count Progesterone, Siemens, Los Angeles, CA). Le coefficient de variation intraessai moyen était de 8,4 %.

3.2.8.2. *Mesures de la LH*

Les prélèvements sanguins ont été effectués à des intervalles de 4 h entre 14 h et 50 h après le retrait des CIDR. Ce sont donc 10 échantillons par brebis qui ont été prélevés.

Les échantillons sanguins ont été prélevés dans la veine jugulaire à l'aide de tubes de 10 ml non-héparinés (Vacutainer®, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Après le prélèvement, les tubes ont été laissés à température pièce pendant 4 h pour coagulation puis placés à $4\ ^\circ\text{C}$. Tous les tubes ont été centrifugés à la fin de la période de prélèvements ($1\ 300 \times g$ durant 10 min à $4\ ^\circ\text{C}$). Le sérum a été recueilli et congelé à $-20\ ^\circ\text{C}$ dans des microtubes en polypropylène jusqu'au moment des dosages.

Le dosage de LH a été effectué par un laboratoire externe (Prairie Diagnostic Services Inc., Saskatoon, Canada). La procédure utilisée consiste en un double dosage radio-immunologique des anticorps exprimé selon le standard AFP11118 B (Rawlings et Evans, 1995). Chacun des échantillons a été analysé en double. Le coefficient de variation intraessai moyen était de 6,6 %.

3.2.9. Paramètres mesurés et calculés

Les brebis « synchronisées » sont définies comme celles ayant reçu un traitement CIDR complet, ce qui exclut les brebis ayant perdu leur implant. Plusieurs paramètres ont été compilés pour chacun des traitements : le taux d'induction des chaleurs (nombre de brebis venues en chaleur dans les 27 h suivant le retrait du CIDR/nombre de brebis synchronisées), la répartition de la venue en chaleur suite au retrait du CIDR, la fertilité des brebis (nombre de brebis agnelées/nombre de brebis inséminées) et la prolificité (nombre d'agneaux nés/nombre de brebis agnelées). L'intervalle de temps (nombre d'heures) entre le retrait du CIDR et le moment de l'IA et l'intervalle entre le début de la chaleur et le moment de l'IA ont aussi été compilés pour les trois traitements. L'efficacité globale de chacun des traitements (nombre d'agneaux nés/nombre de brebis inséminées), qui considère les résultats de fertilité et de prolificité des brebis inséminées, a été calculée et analysée.

3.2.10. Analyses statistiques

3.2.10.1. Paramètres zootechniques

Le taux de perte des CIDR a été calculé en utilisant toutes les brebis qui ont reçu un CIDR. Cependant, les 18 brebis ayant perdu leur CIDR ont été exclues des analyses ultérieures (taux d'induction des chaleurs, fertilité, prolificité...). Les femelles n'ayant pas montré de signes d'œstrus n'ont pas été inséminées et ne sont donc pas considérées dans les analyses concernant les résultats d'inséminations (fertilité, intervalle chaleur-IA et retrait-IA, prolificité, efficacité globale).

À la bergerie D, la détection des chaleurs a été effectuée avec un seul bélier fertile muni d'un tablier. Comme le bélier était introduit dans chaque groupe à tour de rôle, un décalage entre les traitements a été créé dans la détection des chaleurs. Les informations concernant la répartition de la venue en chaleur n'ont donc pas été considérées dans les analyses. Dans les essais A1, B et C1, les retraits des CIDR des brebis du traitement Témoin ont été faits en trois sous-groupes. Comme les béliers vasectomisés ont tous été introduits à la même heure pour tous les traitements (15 h suivant les retraits des CIDR des brebis T14 et T5), l'intervalle de temps entre le retrait des CIDR et l'introduction du bélier vasectomisé pour les brebis du traitement Témoin a donc été différent pour les trois sous-groupes de retrait (respectivement 16 h, 18 h et 20 h du retrait). Ainsi, les informations concernant la répartition de la venue en chaleur des brebis Témoin de ces trois essais ont été retirées des analyses. À la bergerie B, une brebis a été inséminée au mauvais moment, cette brebis a donc été retirée de l'analyse de la fertilité. Donc au total, 360 brebis ont été synchronisées et 330 ont été inséminées (111, 110 et 109 pour T14, T5 et Témoin).

Les résultats ont d'abord été analysés par essai. Le poids vif, l'âge et les intervalles de temps (début de la chaleur-IA, retrait du CIDR-IA) ont été comparés à l'aide de la procédure MIXED de SAS (2001) en utilisant le traitement (T14, T5 et Témoin) comme facteur fixe. Concernant les données catégoriques multinomiales (état de chair, prolificité, efficacité), la procédure GLIMMIX a été choisie en utilisant une fonction des logits cumulés (link = cumlogit). Lorsque l'effet des traitements était significatif, les moyennes ont été comparées en utilisant l'énoncé CONTRAST approprié. Au sujet de la répartition de la venue en chaleur, des tests de comparaison multiples Tuckey-Kramer ont été faits, ce qui signifie que ce sont des valeurs de P ajustées qui ont été utilisées pour comparer les trois traitements entre eux. Les intervalles utilisés pour la répartition de la venue en chaleur ont été déterminés avec la fonction arrondi, donc l'intervalle 12-13 h équivaut aux heures de venues en chaleur situées entre 11,5 à 13,49 par exemple. Les paramètres exprimés en pourcentages (taux de venue en chaleur induites dans les 27 h suivant le retrait du CIDR, fertilité) ont été traités comme des données binomiales (0 et 1) en utilisant la fonction de lien logit (link = logit) de la procédure GLIMMIX. Dans cette situation, les moyennes des traitements ont été comparées en utilisant le test de comparaison multiple de Tukey-Kramer

(LSMEANS/PDIFF). L'analyse de la fertilité selon les intervalles de temps entre le retrait du CIDR et l'IA des brebis T14 et T5 a aussi été faite grâce à la procédure GLIMMIX sur les intervalles de 39 à 43 h pour les T5 et de 36 à 42 h pour les T14. C'est la différence de fertilité entre les intervalles arrondis qui a été comparée.

3.2.10.2. Dosages hormonaux

Progestérone. Deux brebis n'ont pas montré de signe d'œstrus pendant les 50 h de prélèvements; leurs échantillons sanguins n'ont donc pas été dosés. Ainsi, ce sont les informations obtenues sur 18 brebis qui ont pu être utilisées afin d'étudier l'effet des traitements sur les concentrations de progestérone pendant un traitement au CIDR. Les dosages hormonaux ont montré la présence de progestérone endogène (>1 ng/ml) chez sept brebis au moment de la pose des CIDR. Pour les analyses des profils de progestérone lors des traitements au CIDR, seules les brebis ne présentant pas de progestérone endogène à la pose ont été utilisées (n=11). Les moyennes de progestérone ont été comparées à chaque journée de prélèvement avec la procédure MIXED de SAS (2001). Le traitement (T14, T5 et Témoin) a été utilisé comme facteur fixe et les moyennes des traitements ont été comparées en utilisant le test de Tukey-Kramer lorsque nécessaire.

LH. Les données de trois brebis n'ont pas été utilisées pour le dosage de la LH puisqu'elles n'étaient pas venues en chaleur à 27 h du retrait du CIDR. Les prélèvements ont donc cessé en cours de route sur ces trois brebis. Le moment du pic de LH a été déterminé chez les 17 brebis en utilisant le graphique des concentrations de LH sanguine en fonction de l'heure de prélèvement post-retrait. L'heure à laquelle le point était le plus élevé a été utilisée comme moment du pic de LH. Les intervalles de temps (h) entre le retrait du CIDR et le pic de LH et entre le début de la chaleur et le pic de LH ont été calculés. Ces variables ont été analysées à l'aide de la procédure MIXED de SAS (2001) en utilisant le traitement (T14, T5 et Témoin) comme facteur fixe. Les moyennes ont été comparées en utilisant le test de Tukey-Kramer. Les brebis ont été catégorisées selon l'absence ou la présence de progestérone endogène au moment de la pose du CIDR (0 ou 1). Ce facteur et son interaction avec le traitement ont été considérés dans une analyse séparée.

3.3. Résultats

3.3.1. Traitement d'induction et de synchronisation des chaleurs

3.3.1.1. Concentration de progestérone sanguine pendant le traitement au CIDR

Chez les 11 brebis prélevées ne présentant pas de progestérone endogène au moment de l'introduction du CIDR, la concentration de progestérone sanguine a augmenté rapidement suite à la pose pour atteindre la concentration maximum observée au deuxième jour de prélèvement (Figure 3.2). Les concentrations maximales étaient comparables entre les traitements (4,1, 5,0 et 4,8 ng/ml pour T14, T5 et Témoin; $P = 0,2894$). Par la suite, la progestérone a diminué graduellement jusqu'au moment du retrait du CIDR. Au retrait, la concentration de progestérone était plus élevée chez les brebis T5 que chez les T14 et les Témoin (4,0 vs 1,6 et 1,6 ng/ml pour T5 vs T14 et Témoin; $P = 0,0052$). En incluant les brebis présentant de la progestérone endogène à la pose (données non présentées), les mêmes conclusions s'appliquent : 1) concentrations maximales observées deux jours après la pose du CIDR et comparables entre les traitements (5,4, 5,9 et 6,9 ng/ml pour T14, T5 et Témoin $P = 0,5975$) ; 2) concentration de progestérone plus élevée pour le traitement T5 au retrait du CIDR (4,0 vs 1,5 et 1,8 ng/ml pour T5 vs T14 et Témoin; $P < 0,0001$). Le lendemain du retrait, les concentrations de progestérone des trois traitements étaient redescendues près de 0 ng/ml (0,2, 0,3 et 0,2 ng/ml pour T14, T5 et Témoin; $P = 0,3839$), et ce, peu importe la présence (Figure 3.2) ou non (données non présentées) de progestérone endogène au moment de la pose.

3.3.1.2. Taux d'induction et répartition des chaleurs

Sur les 360 brebis traitées avec un CIDR, 18 l'ont perdu, soit un taux de perte de 5,0 % (Tableau 3.2). Malgré une valeur numériquement inférieure, le taux de perte du traitement de 5 j n'a pas été significativement différent de celui des traitements de 14 j ($P = 0,2224$). Les résultats de ces brebis ont été retirés des analyses. Donc, au total, ce sont les données de 342 brebis ayant subi correctement les traitements de synchronisation qui ont été comparées pour analyser les données de venues en chaleur.

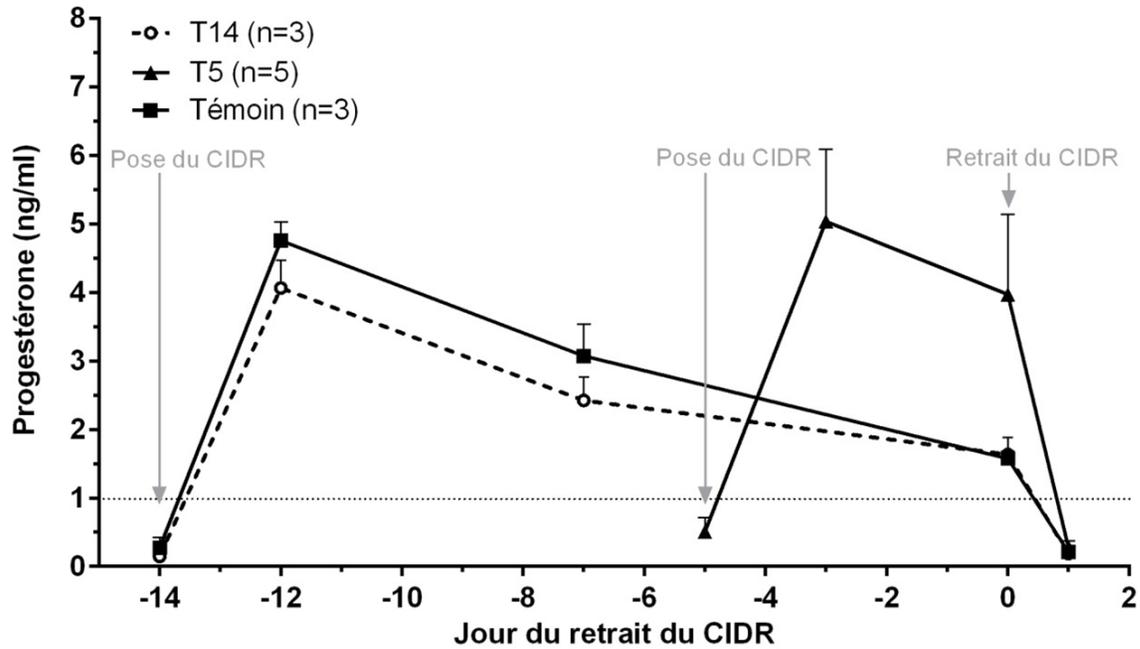


Figure 3.2 Évolution de la concentration de progestérone sanguine des brebis sans progestérone endogène au moment de la pose du CIDR selon le traitement au CIDR.
 (T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d’eCG 24 h avant le retrait du CIDR, T5 : CIDR pendant 5 j et 350 U. I. d’eCG + 20 mg de PGF2 α 24 h avant le retrait du CIDR, Témoin : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d’eCG au retrait du CIDR).

Tableau 3.2 Caractéristiques des brebis Romanov traitées au CIDR et performances de synchronisation des chaleurs des trois traitements d'insémination des six essais

	Traitements ¹			ETM ²	Valeur de P		
	T14	T5	Témoin		E	Trt	E×Trt ³
Nombre de brebis traitées	120	120	120				
Âge (an)	3,2	3,3	3,3	0,1	<0,0001	0,9619	1,0000
Poids (kg)	63,0	63,0	63,1	0,7	<0,0001	0,9850	1,0000
État de chair ⁴	3,1	3,1	3,2		<0,0001	0,8931	0,9997
Prolificité à vie ⁵	2,63	2,59	2,62	0,06	0,0170	0,9204	0,9978
Perte de CIDR (%)	5,0	2,5	7,5	.	0,6262	0,2224	.
Brebis en chaleur à 27 h du retrait des CIDR (%) ⁶	98,3	94,9	98,2	.	0,9816	0,2520	.

¹ T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR / IA 24 h après le début de la chaleur; T5 : CIDR pendant 5 j avec 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF_{2α} 24 h avant le retrait du CIDR/ IA 24 h après le début de la chaleur; Témoin : CIDR pendant 14 j avec 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR / IA 48 h après le retrait.

² Écart-type de la moyenne

³ E : Essai ; Trt : Traitement

⁴ L'état de chair réfère à une évaluation de l'état corporel des brebis sur une échelle de 1 à 5 (1 étant très maigre et 5 étant très gras)

⁵ Nombre total d'agneaux nés/Nombre total d'agnelages

⁶ Excluant les brebis ayant perdu leur CIDR

Le taux d'induction des chaleurs à 27 h du retrait du CIDR a été comparable entre les traitements ($P = 0,2520$; Tableau 3.2) avec une moyenne globale pour tous les traitements confondus de 97,1 %.

Étant donné le changement de méthodologie concernant la détection des chaleurs entre les essais de l'année 1 (A1, B, C1 et D) et ceux de l'année 2 (A2 et C2), les résultats retenus pour les analyses de la répartition du moment du début des chaleurs sont ceux des essais A2 et C2. Les répartitions de la venue en chaleur des brebis des traitements T14 et T5 des essais A1, B, C1 sont tout de même présentées à l'annexe B.

Plusieurs brebis étaient déjà en chaleur au moment de l'introduction des béliers vasectomisés dans chacun des traitements (66,7, 20,5 et 60,0 % pour T14, T5 et Témoin). La rapidité avec laquelle les traitements de synchronisation ont induit la chaleur suivant le retrait du CIDR a été similaire entre les deux essais, donc les données ont été combinées pour les analyses. Les résultats ont toutefois varié entre les traitements (Figure 3.3). En effet, les brebis du T5 étaient moins nombreuses à être en chaleur que celles du T14 ($P_{aj.} = 0,0005$) et du Témoin ($P_{aj.} = 0,0028$) à 13 h du retrait des CIDR. À 15 h suivant les retraits des CIDR, le pourcentage de brebis en chaleur était toujours inférieur chez les brebis du traitement T5 comparé à celles des traitements T14 ($P_{aj.} = 0,0233$) et Témoin ($P_{aj.} = 0,0344$). À 17 h des retraits, le traitement T5 ne montrait plus qu'une tendance à avoir moins de brebis en chaleur que le traitement T14 ($P_{aj.} = 0,0942$) tandis qu'aucune différence significative n'était observable avec le traitement Témoin ($P_{aj.} = 0,1280$). À 19 h des retraits, les trois traitements avaient le même taux de venue en chaleur des brebis. De façon similaire, lorsque les données des traitements T14 et T5 de trois des quatre essais de l'année 1 sont analysées (A1, B et C1 ; Annexe B), le nombre de brebis T5 en chaleur était également plus faible que les T14 pendant les deux heures qui ont suivi l'introduction des béliers (intervalle 16-17 h ; $P < 0,0001$) pour ensuite ne montrer aucune différence entre les traitements à 18-19 h du retrait.

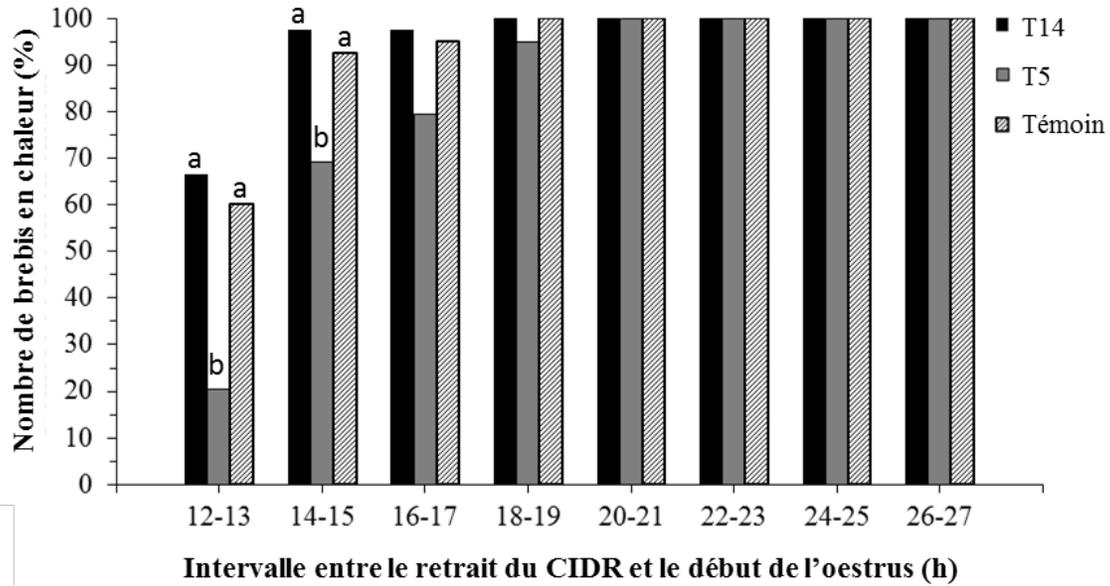


Figure 3.3 Fréquence cumulative des chaleurs induites dans un délai de 27 h suivant le retrait des CIDR selon le traitement de synchronisation lors des essais A2 et C2.

(T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR, T5 : CIDR pendant 5 j et 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF2 α 24 h avant le retrait du CIDR, Témoin : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR). Les béliers vasectomisés ont été introduits 12 h après les retraits des CIDR.

a, b : À l'intérieur d'un intervalle de temps, les valeurs suivies de lettres distinctes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

3.3.1.3. *Moment de l'induction du pic de LH*

L'intervalle de temps qui sépare le retrait du CIDR du pic de LH a été similaire entre les traitements (31,2, 30,3 et 31,0 h pour T14, T5 et Témoin; $P = 0,6968$; Figure 3.4). En moyenne, tous traitements confondus, le pic de LH a été induit à $30,8 \pm 4,6$ h du retrait des CIDR.

3.3.2. **Taux de fertilité**

3.3.2.1. *Effet des traitements*

Sur les 342 brebis ayant subi correctement le traitement de synchronisation, 11 ne sont pas venues en chaleur en dedans de 27 h suivant le retrait du CIDR et une n'a pas été inséminée au bon moment, ce qui fait que le nombre total de brebis inséminées s'est élevé à 330. L'analyse des résultats de fertilité montre que les traitements ont eu tendance à affecter la fertilité de manière différente dans les essais (interaction E x Trt : $P = 0,0971$; Tableau 3.3). En analysant les résultats en fonction des essais, il est possible de constater que dans la très grande majorité des essais (5/6) les résultats ont été équivalents pour les trois traitements, avec une fertilité de 74,5, 78,0 et 78,7 % pour T14, T5 et Témoin respectivement ($P = 0,9971$). C'est seulement dans l'essai D que le traitement Témoin a obtenu une meilleure fertilité par rapport au T5 (80,0 vs 42,1 % pour Témoin vs T5; $P = 0,0749$; Tableau 3.4). La fertilité globale de tous les essais a été de 74,9 %, avec des taux supérieurs à 75 % dans quatre des six essais.

3.3.2.2. *Effet de l'intervalle entre le retrait du CIDR et l'IA*

Toutes les inséminations des brebis Témoin, à l'exception d'une seule, ont eu lieu dans l'intervalle prévu de $48,1 \pm 0,6$ h suite au retrait du CIDR. Chez les brebis T14, l'intervalle de temps entre les retraits des CIDR et les IA a varié entre 36 et 42 h ($39,7 \pm 2,0$ h), alors que pour les brebis T5, il se situait entre 39 et 43 h ($41,3 \pm 2,6$ h). Cet intervalle n'était toutefois pas suffisamment grand pour pouvoir faire une analyse.

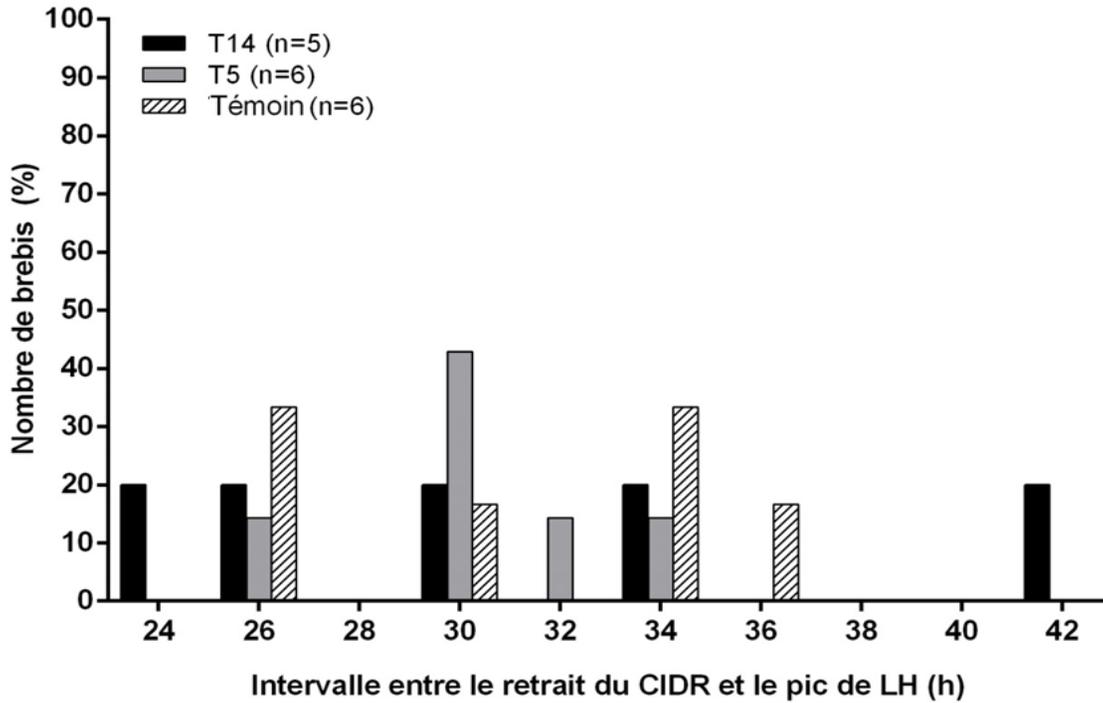


Figure 3.4 Moment du pic de LH suite au retrait des CIDR (0 h) selon le traitement de synchronisation.
 (T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR, T5 : CIDR pendant 5 j et 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF2 α 24 h avant le retrait du CIDR, Témoin : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR).

Tableau 3.3 Caractéristiques des brebis Romanov inséminées et performances de reproduction des trois traitements d'insémination des six essais

	Traitements ¹				Valeur de P		
	T14	T5	Témoin	ETM ²	E	Trt	E×Trt ³
Nombre de brebis inséminées	111	110	109				
Âge (an)	3,20	3,27	3,26	0,13	<0,0001	0,9201	0,9999
Poids (kg)	62,8	62,9	63,4	0,77	<0,0001	0,8699	0,9977
État de chair ⁴	3,14	3,16	3,16		<0,0001	0,8558	0,9975
Prolificité à vie ⁵	2,62	2,59	2,65		0,0018	0,9700	0,9320
Fertilité à l'agnelage (%)	73,9	71,8	78,9		0,1381	0,6456	0,0971
Prolificité à l'agnelage ⁶	2,91	2,96	2,60		0,3395	0,0565	0,0616
Efficacité ⁷	2,12	2,14	1,96		0,0122	0,5252	0,0265

¹ T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR / IA 24 h après le début de la chaleur; T5 : CIDR pendant 5 j avec 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF_{2α} 24 h avant le retrait du CIDR/ IA 24 h après le début de la chaleur; Témoin : CIDR pendant 14 j avec 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR / IA 48 h après le retrait.

² Écart-type de la moyenne

³ E : Essai ; Trt : Traitement

⁴ L'état de chair réfère à une évaluation de l'état corporel des brebis sur une échelle de 1 à 5 (1 étant très maigre et 5 étant très gras)

⁵ Nombre total d'agneaux nés/Nombre total d'agnelages

⁶ Nombre d'agneaux nés/Brebis agnelée

⁷ Nombre d'agneaux nés/Brebis inséminée

Tableau 3.4 Fertilité des brebis Romanov selon les trois traitements d'insémination par laparoscopie lors des six essais

Essai	n	Traitements ¹			Valeur de P
		T14	T5	Témoin	
A1	52	94,4	87,5	66,7	0,1205
B	56	47,4	72,2	79,0	0,1179
C1	52	66,7	76,5	82,4	0,5662
D	51	70,6	42,1	80,0	0,0749
A2	64	75,0	81,8	81,8	0,8225
C2	55	89,5	72,2	83,3	0,1117

¹ T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR / IA 24 h après le début de la chaleur; T5 : CIDR pendant 5 j avec 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF_{2α} 24 h avant le retrait du CIDR/ IA 24 h après le début de la chaleur; Témoin : CIDR pendant 14 j avec 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR / IA 48 h après le retrait.

3.3.2.3. *Effet de l'intervalle entre le début de la chaleur et l'IA*

Toutes les IA des brebis T14 et T5 ont eu lieu dans l'intervalle prévu de $24,5 \text{ h} \pm 0,7 \text{ h}$ et $24,3 \text{ h} \pm 0,7 \text{ h}$ suite au début de la chaleur. L'intervalle étant très petit entre les sujets, l'analyse n'a pas pu être effectuée chez les brebis T14 et T5. Chez les brebis Témoin, l'intervalle de temps entre le début de la chaleur et l'IA était situé entre 30 et 37 h de la chaleur.

Les analyses n'ont montré aucune différence de fertilité entre les brebis déjà en chaleur à l'introduction des béliers vasectomisés (à 15 h pour les essais A1, B1 et C1 et à 12 h pour les essais A2 et C2) et celles ne l'étant pas pour les T14 (71,2 vs 78,6 % ; $P = 0,9752$) et T5 (80,8 vs 76,9 % ; $P = 0,9750$).

3.3.2.4. *Effet de l'âge des brebis*

Les brebis âgées entre deux et cinq ans ont obtenu des taux de fertilité semblables, tandis que celles de plus de cinq ans montraient un taux de fertilité significativement plus faible ($P = 0,0429$; Tableau 3.5).

3.3.2.5. *Effet de la semence des béliers*

L'analyse des résultats de fertilité des essais A2 et C2 (Tableau 3.6), les seuls essais où de la semence de différents béliers a été utilisée, n'a montré aucune interaction Essai x Bélier ($P = 0,8665$) et aucune différence de fertilité en fonction de la semence des béliers utilisée ($P = 0,8240$).

Tableau 3.5 Fertilité des brebis Romanov inséminées selon leur âge

Âge	N	Fertilité (%)
2	115	78,3 ^a
3	98	76,5 ^a
4	43	81,4 ^a
5	39	74,4 ^a
6	31	51,6 ^b
7	0	.
8	3	66,7 ^b

a, b : Pour une même colonne, les valeurs suivies de lettres distinctes sont significativement différentes (P<0,05)

Tableau 3.6 Fertilité des brebis Romanov inséminées en fonction de la semence des béliers utilisée dans chacun des essais de l'année 2

Essai	Bélier					
	9050	9051	9052	9053	9054	9056
A2	72,7 (11) ¹	72,7 (11)	80,0 (10)	81,8 (11)	80,0 (10)	90,0 (10)
C2	80,0 (10)	100,0 (8)	100,0 (9)	77,8 (9)	66,7 (9)	80,0 (10)
Total	76,2	84,2	89,5	80,0	73,7	85,0

¹ % de fertilité (nombre d'inséminations)

3.3.3. Prolificté

Lors de l'analyse de la prolificté des brebis ayant agnelé suite à l'IA, une tendance à l'interaction E x Trt a été observée (Tableau 3.3 : P = 0,0616). Une analyse par essai a donc été réalisée. Dans trois des six essais, aucune différence significative de prolificté n'a été obtenue entre les traitements (A1, D et C2 ; Tableau 3.7). Des résultats contradictoires ont été obtenus dans des trois autres essais : le traitement T5 ayant tendance à présenter une prolificté plus élevée que les T14 et Témoin dans l'essai B (P = 0,0776) et A2 (P = 0,0958) alors que dans l'essai C1, la prolificté du traitement T5 était significativement plus faible (P = 0,0498).

3.3.4. Efficacité globale des traitements

Une interaction E x Trt (P = 0,0265 ; Tableau 3.3) a été observée, signifiant que les différents essais n'ont pas montré des résultats qui allaient tous dans le même sens concernant l'efficacité globale (nombre d'agneaux nés/brebis inséminée) des traitements. En effet, l'essai A1 montre une tendance du traitement Témoin à être moins efficace par rapport aux T14 et T5 (1,61 vs 2,72 et 2,63 agneaux nés/brebis inséminée pour Témoin vs T14 et T5 P = 0,0715 ; Tableau 3.8). Une tendance contradictoire a été mise en évidence dans l'essai B, avec une efficacité plus faible des brebis T14 comparativement aux Témoin et T5 (1,21 vs 1,89 et 2,39 agneaux nés/brebis inséminée pour T14 vs Témoin et T5 ; P = 0,0768 ; Tableau 3.8). L'essai C1 a aussi montré une tendance différente aux essais A1 et B, avec une efficacité plus élevée des T14 par rapport aux T5 et Témoin (3,16 vs 2,17 et 2,33 agneaux nés/brebis inséminée pour T14 vs T5 et Témoin P = 0,0822 ; Tableau 3.8). Les trois autres essais n'ont montré aucune différence d'efficacité significative entre les traitements.

Tableau 3.7 Prolificité (nombre d'agneaux nés/brebis agnelée) des brebis Romanov selon les trois traitements d'insémination lors des six essais

Essai	n	Traitements ¹			Valeur de P
		T14	T5	Témoin	
A1	52	2,88	3,00	2,42	0,4279
B	56	2,56	3,31	2,40	0,0776
C1	52	2,92	2,15	3,07	0,0498
D	51	2,67	3,25	2,83	0,4829
A2	64	2,67	3,11	2,22	0,0958
C2	55	3,53	3,00	2,80	0,1117

¹ T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR / IA 24 h après le début de la chaleur; T5 : CIDR pendant 5 j avec 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF_{2α} 24 h avant le retrait du CIDR/ IA 24 h après le début de la chaleur; Témoin : CIDR pendant 14 j avec 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR / IA 48 h après le retrait.

Tableau 3.8 Efficacité globale (nombre d'agneaux nés/brebis inséminée) des trois traitements d'insémination lors des six essais sur des brebis Romanov

Essai	n	Traitements ¹			Valeur de P
		T14	T5	Témoin	
A1	52	2,72	2,63	1,61	0,0715
B	56	1,21	2,39	1,89	0,0729
C1	52	1,94	1,65	2,39	0,3249
D	51	1,88	1,37	2,27	0,2617
A2	64	2,00	2,55	1,82	0,2703
C2	55	3,16	2,17	2,33	0,0822

¹ T14 : CIDR pendant 14 j et 350 U. I. d'eCG 24 h avant le retrait du CIDR / IA 24 h après le début de la chaleur; T5 : CIDR pendant 5 j avec 350 U. I. d'eCG + 20 mg de PGF_{2α} 24 h avant le retrait du CIDR/ IA 24 h après le début de la chaleur; Témoin : CIDR pendant 14 j avec 350 U. I. d'eCG au retrait du CIDR / IA 48 h après le retrait.

3.4. Discussion

L'élaboration d'un protocole d'insémination avec semence congelée chez la brebis nécessite de prendre en considération de nombreux aspects. Il faut s'assurer d'une induction des chaleurs chez un maximum de brebis dans un intervalle de temps rapproché, connaître l'effet physiologique du CIDR par sa libération de progestérone et l'induction subséquente du pic de LH et ainsi pouvoir prédire le moment de l'ovulation. Il faut aussi analyser l'efficacité d'un protocole d'insémination par les résultats de fertilité et de prolificité et ultimement par les résultats de productivité. De plus, il faut évaluer le moment de l'insémination idéal afin de maximiser la fertilité. Ainsi, il sera possible d'établir le traitement le plus efficace.

Le premier élément à considérer est l'effet physiologique du CIDR. Lors de ce projet, il y avait présence de progestérone endogène chez sept brebis au moment de la pose du CIDR lors du dosage de la progestérone. Cette situation était attendue puisque les brebis étaient en saison sexuelle, donc cycliques. Cette progestérone endogène, qui provient des corps jaunes encore actifs durant la phase lutéale des brebis, s'additionne à la progestérone exogène diffusée par le CIDR au début du traitement (Pearce et Robinson, 1985). Les données de ces brebis n'ont pas été utilisées dans l'analyse de la courbe de progestérone puisque la présence de progestérone endogène avait une influence sur les valeurs de cette courbe. Les courbes moyennes de libération de progestérone durant les traitements de 14 j (Témoin et T14) chez les brebis n'ayant pas de progestérone endogène à la pose étaient similaires à celles observées dans la littérature en saison sexuelle (Ainsworth et Downey, 1986; Fukui *et al.*, 1994; Ali *et al.*, 2009). La concentration maximum de progestérone était atteinte deux jours suivant la pose du CIDR, avec une valeur moyenne entre 4 et 5 ng/ml pour tous les traitements (T14, T5 et Témoin). Ces valeurs sont plus élevées que celles observées dans la littérature, qui oscillent plutôt autour de 3 ng/ml (Ainsworth et Downey, 1986; Fukui *et al.*, 1994; Ali *et al.*, 2009). Cette différence pourrait être expliquée par un effet des races utilisées, du poids des brebis et des méthodes de dosage. Par la suite, le taux de progestérone des brebis T14 et Témoin descendait graduellement jusqu'au retrait, où il atteignait la valeur de 1,6 ng/ml. Cette baisse graduelle menant à un taux de progestérone

faible au retrait a aussi été observée dans d'autres essais de protocoles de longue durée (12 à 14 j) (Ungerfeld et Rubianes, 1999; Knights *et al.*, 2001). Ce qui différencie le traitement de 5 j de celui de 14 j réside dans le fait que les concentrations de progestérone sont demeurées élevées pendant toute la durée du traitement, avec un taux de 4,0 ng/ml le jour du retrait, ce qui équivaut à 80 % de la valeur maximale atteinte après la pose. Cette valeur est beaucoup plus élevée que le 39 % et 33 % de la valeur maximale mesurée dans les traitements T14 et Témoin au moment du retrait, ce qui est en accord avec une étude montrant qu'un traitement court de 6 ou 9 j permettait le maintien de concentrations plus élevées de progestérone au retrait du CIDR comparativement à un traitement de 14 j (Fukui *et al.*, 1994). Il existe de nombreuses études sur l'effet d'un taux de progestérone trop bas au retrait des CIDR lors des protocoles de longue durée dans la littérature. Certains auteurs suggèrent qu'une faible concentration sanguine de progestérone au retrait des CIDR pourrait être responsable d'une diminution du taux de synchronisation puisque la chute de progestérone serait trop faible pour envoyer un signal assez fort afin d'induire les événements physiologiques qui mènent à l'ovulation (Fukui *et al.*, 1994). De plus, les moments du pic de LH et de l'ovulation par rapport au début de l'œstrus seraient plus variables lorsque la concentration de progestérone est basse, ce qui rendrait la prédiction de l'ovulation plus difficile et ainsi aurait un impact sur la fertilité lors de protocole d'insémination à temps fixe du retrait de l'implant de progestérone (Robinson et Smith, 1967; Van Cleeff *et al.*, 1998). Ce délai des événements physiologiques serait principalement causé par la persistance de gros follicules (Viñoles *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 2001). En effet, les follicules persistants sont de vieux follicules qui sont présents dans les ovaires à la fin du traitement de progestérone et qui seraient responsables de l'inhibition de la seconde vague folliculaire ainsi que d'une maturation prématurée menant à une perte de fertilité. Les résultats des brebis T14 et Témoin n'ont toutefois pas montré de différence du taux de venue en chaleur comparativement au protocole court de 5 j, malgré la différence de la concentration de progestérone sanguine au retrait du CIDR. C'est aussi ce qui avait été observé dans l'étude de Fukui *et al.* (1994).

En ce qui concerne le taux de perte des CIDR, il a été de 5 % dans la présente étude, ce qui est légèrement supérieur à ce qui est rapporté dans certaines études qui est plutôt situé entre

0 et 2,7 % (Fukui *et al.*, 1993b; Knights *et al.*, 2001; Fleisch *et al.*, 2012). Cependant, il existe aussi des études dans lesquelles le taux de perte est plus élevé, allant de 8 à 16 % (Rhodes et Nathanielsz, 1988; Fukui *et al.*, 1993a). Les trois traitements ont montré le même taux de rétention, signifiant que la longueur du traitement n'avait pas d'influence sur cette variable. L'utilisation de l'applicateur du fabricant lors de l'insertion du CIDR ainsi que le repli de la corde de nylon à l'intérieur de la vulve sont les deux éléments qui ont permis l'atteinte d'un taux de rétention élevé.

Le taux d'induction des chaleurs a été très élevé (97,1 %) pour tous les essais et traitements confondus. Ce résultat est comparable à ceux obtenus dans plusieurs études utilisant des protocoles de courte et de longue durée (6 à 14 j) avec eCG en association avec le CIDR (Maxwell et Barnes, 1986; Fukui *et al.*, 1999; Luther *et al.*, 2007). En ce qui concerne le moment du début de la chaleur, les traitements ont montré une différence. En effet, les brebis du traitement de courte durée T5 ont montré des signes de chaleurs plus tardivement que les brebis des traitements longs, puisque dans l'intervalle de 12 à 15 h du retrait, il y avait moins de brebis en chaleur que les traitements T14 et Témoin. Toutefois, à 20 h du retrait, la proportion des brebis venues en chaleur était identique pour les trois traitements. Ce délai dans l'induction de la chaleur des brebis subissant un traitement progestatif court avait déjà été observé chez des sujets soumis à une synchronisation à l'éponge (Viñoles *et al.*, 2001). La venue en chaleur plus tardive des brebis T5 pourrait être expliquée par la concentration de progestérone plus élevée dans le sang au retrait du CIDR. En effet, une concentration de progestérone élevée prendrait plus de temps à atteindre le niveau basal nécessaire, retardant la venue en chaleur et les événements physiologiques subséquents. De plus, un taux de progestérone sanguin élevé peut bloquer ou retarder le pic de LH induit par l'œstradiol en empêchant l'activation des pulses de GnRH (Bolt *et al.*, 1971; Richter *et al.*, 2002; Richter *et al.*, 2005).

Lors des essais de l'année 1, l'introduction du bélier a eu lieu à 15 h suivant le retrait du CIDR. La venue en chaleur des brebis a été observée beaucoup plus tôt que ce qui était attendu selon la littérature, c'est-à-dire entre 15 et 20 h après le retrait dans la présente

étude, comparativement à 25 à 37,5 h dans les études antérieures (Smith *et al.*, 1988; Knight *et al.*, 1992; Godfrey *et al.*, 1999). C'est pourquoi le moment de l'introduction des béliers vasectomisés a été devancé de 3 h dans les essais de l'année 2 (12 h du retrait) afin de mesurer plus précisément l'heure moyenne du début de la venue en chaleur des brebis. L'heure de l'introduction des béliers manque de précision dans la littérature, certains chercheurs ne rapportant pas l'heure de l'introduction de celui-ci suite au retrait de l'implant de progestérone, d'autres n'en faisant même pas mention dans leur protocole (Godfrey *et al.*, 1999; Kohno *et al.*, 2005). La grande variabilité des résultats sur l'induction de la chaleur dans la littérature peut être expliquée en partie par les conditions dans lesquelles ont été effectuées les expériences, comme la race des brebis, la saison de reproduction et le type d'élevage (extensif) qui différait du présent projet. Le type d'élevage a un effet direct sur l'IPP des brebis et donc sur la fertilité. Il faut aussi considérer que dans les deux essais de l'année 2, 67, 21 et 60 % des brebis T14, T5 et Témoin étaient déjà en chaleur au moment de l'introduction des béliers vasectomisés à 12 h du retrait. Van Cleeff *et al.* (1998) ont aussi observé une proportion importante de brebis déjà en chaleur à l'introduction du bélier 24 h après le retrait du CIDR, de l'ordre de 23 %. Il faut donc mettre un bémol sur la précision de l'évaluation du début de l'œstrus de plusieurs sujets puisqu'il était impossible de savoir l'heure exacte à laquelle ces brebis avaient réellement débuté leurs chaleurs. Il serait donc préférable d'introduire les béliers plus tôt que 12 h afin d'être en mesure de faire la détection du début de l'œstrus de l'ensemble des sujets pour ainsi pouvoir établir une heure moyenne de venue en chaleur plus précise. En fait, l'introduction des béliers aurait pu être faite directement lors du retrait du CIDR, afin d'observer le moment de la venue en chaleur réel de chacune des brebis. C'est d'ailleurs ce qui avait été fait dans plusieurs études, pour lesquelles les brebis étaient mises en contact avec les béliers lors du retrait du CIDR avec une détection des chaleurs aux 4 ou 6 h (Maxwell et Barnes, 1986; Romano *et al.*, 2000; Hashemi *et al.*, 2006). Malgré le manque de précision de l'heure de la venue en chaleur pour certaines brebis, elle a été et de loin plus hâtive que tout ce qui a été répertorié dans la littérature dans des études utilisant des protocoles semblables. Il est aussi probable que cette observation soit en lien avec la race Romanov utilisée dans cette expérience, une race reconnue pour ses excellentes aptitudes à la reproduction.

La mesure du pic de LH dans un contexte de synchronisation des chaleurs précédant des inséminations est importante puisque c'est un indice pour pouvoir estimer plus précisément le moment de l'ovulation chez la brebis. Sachant que les inséminations ont généralement lieu à heure fixe du retrait du CIDR, il serait essentiel de savoir avec précision le moment du pic de LH des brebis selon leur race et la méthode de synchronisation pour améliorer le protocole d'insémination par laparoscopie. L'induction du pic de LH n'a montré aucune différence entre les traitements, ce qui suggère que les événements physiologiques suivant le retrait du CIDR ont été similaires, même si la durée du traitement et le moment de l'injection d'eCG différaient. Tous traitements confondus, la moyenne de l'intervalle entre le retrait des CIDR et le pic de LH était de 30,8 h, ce qui diffère de ce qui a été rapporté dans la littérature. Il faut dire que les résultats concernant le moment du pic de LH varient beaucoup, étant situé entre 19 et 24 h pour les plus hâtifs (Thompson *et al.*, 1992; Fukui *et al.*, 1999; Godfrey *et al.*, 1999) jusqu'à 40 h pour les plus tardifs (Godfrey *et al.*, 1999). Une seule étude a rapporté un pic de LH à une heure similaire à celle du présent projet, avec un pic moyen à 31 h des retraits (Shackell, 1991). Il y a très peu d'études qui ont comme sujet la description complète des événements physiologiques qui suivent le retrait du CIDR, et parmi celles-ci, les conditions des études varient beaucoup, notamment pour les races de brebis utilisées et le protocole de synchronisation (type d'implant, eCG, etc.), ce qui rend les données de comparaison très rares.

L'injection d'eCG 24 h avant le retrait n'a pas permis de devancer le moment du pic de LH, contrairement à ce qui aurait été attendu, puisqu'il a été rapporté qu'une injection d'eCG 24 ou 48 h avant le retrait du CIDR induit un œstrus, un pic de LH et une ovulation plus précoces allant jusqu'à 10 h plus tôt que l'injection au retrait (Fukui *et al.*, 1985; Fukui *et al.*, 1989; Eppleston *et al.*, 1991). De plus, le traitement de courte durée n'a pas eu d'effet sur le moment de l'induction du pic de LH, même si la concentration de progestérone dans le sang des brebis au retrait du CIDR était plus élevée. Cela est en contradiction avec l'étude de Thompson *et al.* (1992) qui a observé un intervalle plus long entre le retrait du CIDR et l'induction de l'œstrus et du pic de LH lorsque les brebis étaient exposées à un niveau plus élevé de progestérone à la fin d'un traitement progestatif. Ce taux de progestérone élevé pendant la phase folliculaire jouerait un rôle important sur la réponse

ovarienne subséquente, notamment pour la maturation folliculaire (Thompson *et al.*, 1990; Thompson *et al.*, 1992). Toutefois, dans le contexte de l'étude, il est difficile d'établir des conclusions avec précision étant donné le nombre restreint de brebis qui a été utilisé pour le dosage de la LH (n = 17). Il serait néanmoins intéressant de développer les connaissances sur le sujet, puisque le moment de l'induction du pic de LH est plus précis pour l'estimation de l'ovulation. En effet, l'ovulation a lieu généralement entre 23 et 28 h suivant le pic de LH, peu importe la race de brebis utilisée (Cumming *et al.*, 1973; Shackell, 1991; McEvoy *et al.*, 1996). De plus, le moment du pic de LH semble influencé par plusieurs facteurs, notamment la race de brebis et le traitement de synchronisation utilisé. Il serait donc intéressant d'établir les facteurs responsables de cette grande variation dans la littérature, ce qui pourrait aider à la détermination du moment idéal de l'insémination chez la brebis.

En ce qui concerne la fertilité à l'agnelage des traitements d'inséminations, seule une tendance a été décelée en ce qui concerne l'effet des traitements sur la fertilité, plus particulièrement lors d'un seul essai, durant lequel le traitement Témoin avait obtenu les meilleurs résultats. Les cinq autres essais ont montré les mêmes résultats de fertilité, pour un taux global de 74,9 %. Les résultats obtenus ont été semblables à plusieurs études, qui rapportaient des taux de gestation situés entre 72 et 80 % suivant un protocole de synchronisation similaire impliquant la pose d'un CIDR pour une durée de 12 j et une injection d'eCG 24 h avant ou au retrait de l'implant (Fukui *et al.*, 2000; Luther *et al.*, 2007; Hiwasa *et al.*, 2009). Par ailleurs, les résultats de ce projet ont été supérieurs à ceux d'autres études qui ont obtenu des taux de fertilité situés entre 54 et 64 % (Fukui *et al.*, 1999; Ishida *et al.*, 1999; Fukui *et al.*, 2001). Puisque la race a un effet sur la fertilité en IA (Fair *et al.*, 2007), les résultats variés dans la littérature peuvent être expliqués en partie par ce facteur. Il faut aussi considérer que ce ne sont pas toutes les études qui utilisent un bélier pour faire la détection des chaleurs et qui inséminent seulement les brebis ayant montré un comportement d'œstrus. En effet, plusieurs études utilisant un protocole similaire à ce qui a été fait dans le présent projet effectuaient les inséminations à temps fixe du retrait, sans détection des chaleurs (Ishida *et al.*, 1999; Fukui *et al.*, 2001; Hiwasa *et al.*, 2009). Dans d'autres travaux avec détection des chaleurs, toutes les brebis étaient inséminées à temps fixe qu'elles soient venues en chaleur ou non (Maxwell et Barnes, 1986; Fukui *et al.*, 1994;

Fukui *et al.*, 1999). Ces deux méthodologies impliquent que les brebis n'ayant pas montré de signe d'œstrus sont quand même inséminées, ce qui cause nécessairement une baisse du taux de fertilité. Dans la présente étude, ce sont 341 brebis qui ont été synchronisées, mais seulement 330 qui ont été inséminées, puisque 11 d'entre elles n'étaient pas venues en chaleur dans les 27 h suivant le retrait du CIDR. Cela signifie que le taux de fertilité aurait été réduit de 2,4 % si toutes les brebis synchronisées avaient été inséminées passant de 74,9 % à 72,4 %. Dans une situation où le taux de synchronisation des chaleurs serait faible, cette perte de fertilité aurait pu cependant être beaucoup plus élevée. Seules deux études utilisant le CIDR et des inséminations avec semence congelée ont procédé à une détection des chaleurs pour n'inséminer que les brebis ayant montré des signes d'œstrus et ont atteint un taux de fertilité similaire à ceux de la présente étude, soit de 72 et 74 % (Fukui *et al.*, 1993a; Hill *et al.*, 1998). Le fait de procéder à la détection des chaleurs améliore donc les taux de fertilité et réduit les coûts liés à la réalisation des inséminations par laparoscopie.

Les traitements d'insémination ont eu une tendance à l'interaction $E \times Trt$ pour la prolificité, signifiant que les résultats de chacun des essais ne sont pas tous allés dans le même sens. Ainsi, les traitements ont eu un effet significatif lors d'un seul essai, dans lequel les brebis Témoin ont été plus prolifiques que les T14 et T5, ce qui contredit les résultats de la littérature, qui indiquent que l'eCG injectée 24 h avant favoriserait un meilleur développement folliculaire et un nombre plus élevé d'ovulations, pour ainsi produire un effet positif sur le nombre d'agneaux nés (Roberts et Edgar, 1966; Fukui *et al.*, 1985). Dans deux essais, le traitement Témoin a eu tendance à être plus faible que les T14 et T5. Le taux de prolificité légèrement plus faible du groupe Témoin pourrait être expliqué par une moins bonne synchronisation entre les ovulations et le moment de l'insémination. En effet, puisque la brebis Romanov est une race prolifique, plusieurs ovulations ont lieu une à la suite de l'autre sur une période de temps de 4 h, pour un taux d'ovulation moyen de 3,5 ovules (Baril *et al.*, 1993b). Ainsi, étant donné que les Témoin ont été inséminés à heure fixe du retrait, il est possible que le synchronisme entre l'insémination et l'ovulation soit moins optimal, ce qui aurait pu avoir comme conséquence que seuls les derniers ovules ayant ovulé aient été encore assez jeunes pour être fécondables, ou à l'inverse, seul un

ovule était déjà ovulé lors de l'arrivée des spermatozoïdes. Finalement, les traitements n'ont montré aucun effet sur la prolificité chez 3 des 6 essais. Ces résultats contradictoires des essais montrent donc que la prolificité est un paramètre variable qui doit être influencé par plusieurs facteurs autres que ceux contrôlés par le protocole de synchronisation et d'insémination. La prolificité suite à l'IA a été similaire aux résultats annuels des élevages, qui se situaient entre 2,59 et 3,00 agneaux nés/agnelage. Les protocoles testés ont donc permis le maintien des performances des brebis, ce qui est souhaitable pour l'élaboration d'un protocole dans des troupeaux commerciaux.

Afin de pouvoir déterminer plus précisément la rentabilité d'un tel projet, il faut calculer l'efficacité des traitements, qui prend en considération la fertilité à l'insémination ainsi que la prolificité. Cela permet de pouvoir déterminer clairement quel protocole a permis la naissance d'un maximum d'agneaux par brebis inséminées. Toutefois, la présence d'une interaction $E \times Trt$ montre des tendances différentes chez trois des six essais, et aucun effet chez les trois autres essais concernant l'efficacité globale des traitements. Donc, les protocoles n'ont pas eu un effet global similaire. Il faut toutefois considérer que les six essais ont été effectués chez quatre éleveurs, ce qui peut être responsable en partie de la variation des résultats, les sujets étant issus de différents élevages et les conditions d'élevage étant différent.

L'heure de l'insémination se révèle comme étant un facteur important dans le cadre de l'élaboration d'un protocole d'insémination par laparoscopie. L'insémination des brebis selon l'heure du début de l'œstrus (T14 et T5) n'a pas permis de gain de fertilité comparativement à celles inséminées à temps fixe du retrait du CIDR (Témoin) même si elles avaient dû être mieux synchronisées à l'ovulation. En effet, une IA effectuée à 24 h du début de la chaleur devrait permettre une réduction de la variabilité entre le moment de l'IA et l'ovulation entre les sujets, puisqu'il est reconnu que l'intervalle entre la fin du traitement de progestérone et l'œstrus est très variable (Cumming *et al.*, 1973; Baril *et al.*, 1998). Toutefois, l'insémination par rapport à l'heure de la venue en chaleur n'a pas donné l'augmentation de la fertilité attendue. Ceci suggère que la plage fertile entre le moment du

dépôt de la semence et l'ovulation serait relativement grande. C'est ce qui avait été mis en évidence par l'équipe d'Amir et Schindler (1972), qui n'avait noté aucune différence dans le taux de fertilité pour des brebis inséminées à 4-8 h et 32-36 h de l'œstrus. Une autre étude (Eppleston et Roberts, 1986) en était venue aux mêmes conclusions : l'heure de l'insémination n'a pas d'effet sur la fertilité des brebis lorsque celle-ci est pratiquée à 48, 60 et 72 h du retrait de l'éponge. Aussi, l'équipe de Luther *et al.* (2007) a obtenu un taux de fertilité élevé de 80 % malgré le fait que l'IA ait été pratiquée beaucoup plus tard que dans la présente étude, soit entre 54 et 60 h suivant le retrait du CIDR et l'injection d'eCG. La fenêtre fertile pour l'insémination semble donc être beaucoup plus grande que certains auteurs semblent penser. Par exemple, Baril *et al.*, (1998) et Thibault, (1967) recommandent que la fécondation ait lieu entre 0 et 10 h suivant l'ovulation pour assurer un taux de fertilité maximal. De plus, en considérant la façon dont les brebis prolifiques ovulent, c'est-à-dire une ovulation à la fois étalée sur une période de plusieurs heures (Baril *et al.*, 1993b), cela augmente de beaucoup la période durant laquelle les ovules sont en état d'être fécondés. En considérant la durée de vie des ovules jusqu'à 24 h après l'ovulation (Bonnes et Batellier, 2005) et que la brebis Romanov peut ovuler sur une durée de 4 h, le dernier ovule libéré a donc la capacité d'être fécondé jusqu'à 29 h après le début de l'ovulation. En ajoutant la durée de vie des spermatozoïdes décongelés dans le tractus reproducteur des femelles entre 18 et 35 h (Lightfoot et Salamon, 1970b), il apparaît évident que la fenêtre fertile entre le moment du dépôt de la semence et l'ovulation est relativement grande. De cette manière, il est normal qu'aucune différence de fertilité n'ait été obtenue dans le présent projet, malgré la différence de 12 h entre les brebis ayant été inséminées le plus tôt et celles ayant été inséminées le plus tard par rapport au retrait du CIDR. Le moment de l'IA pourrait toutefois avoir un effet sur la prolificité puisque le dépôt de la semence trop tôt ou trop tard par rapport à l'ovulation ferait en sorte que les ovules trop jeunes ou trop vieux ne seraient pas fécondables. Il faut considérer que la venue en chaleur des brebis a été relativement rapide dans le présent projet, toutes les IA ayant été effectuées entre 36 et 48 h du retrait du CIDR tous traitements confondus, ce qui rend difficile la mise en évidence d'un effet des traitements important. C'est d'ailleurs un intervalle de temps entre 40 et 50 h suivant le retrait qui est souvent recommandé dans la littérature pour procéder à des inséminations par laparoscopie suivant une synchronisation

au CIDR (Fukui *et al.*, 1993b; Fukui *et al.*, 1994; Hiwasa *et al.*, 2009). Le choix d'inséminer à 48 h suivant le retrait du CIDR des brebis Témoin était en accord avec l'étude de Fukui *et al.* (1993a), qui recommandait une insémination à temps fixe à 48 h du retrait du CIDR. Un taux de fertilité comparable à la présente étude de 74 % avait été obtenu. L'insémination à temps fixe demeure donc une façon de faire efficace en insémination par laparoscopie puisque les brebis du traitement Témoin ont montré la même fertilité que les brebis inséminées à 24 h du début de leur chaleur.

Plusieurs facteurs connus pour influencer la fertilité des brebis inséminées ont été également analysés. Parmi tous ces facteurs, seul l'âge a montré une influence significative sur les résultats de fertilité. En effet, les brebis de 5 ans et plus ont obtenu une fertilité inférieure aux femelles âgées entre 2 et 4 ans. Cette observation est cohérente avec ce qui est rapporté dans la littérature, les agnelles et les brebis de plus de 5 ans étant celles le plus souvent responsables d'une perte de fertilité lors d'inséminations (Anel *et al.*, 2005; Arranz *et al.*, 2008; McCappin et Murray, 2011). Toutefois, les résultats du présent projet ne permettent pas de déterminer avec exactitude l'effet de l'âge, puisqu'à la sélection des femelles, toutes les agnelles et la majorité des brebis trop âgées étaient écartées du projet. Il serait donc préférable de procéder à une autre étude dans laquelle les inséminations seraient faites sur des brebis de toutes les strates d'âge afin d'obtenir des résultats plus fiables. Le bélier utilisé n'a pas non plus montré d'effet sur la fertilité à l'IA, et ce, malgré le fait que certaines études montrent une variation individuelle importante de 70 % entre les béliers (Butler et Maxwell, 1988; Hill *et al.*, 1998).

3.5. Conclusion

La présente étude a permis de tester trois protocoles d'insémination par laparoscopie qui ont permis l'atteinte d'un taux de fertilité élevé chez les brebis Romanov. Le CIDR a été très efficace pour induire et synchroniser la venue en chaleur des brebis (97,1 %), même si les brebis du traitement T5 ont vu leurs chaleurs retardées de quelques heures par rapport aux T14 et Témoin. L'insémination en fonction du moment de la venue en chaleur des brebis n'a pas permis d'améliorer le taux de fertilité par rapport à des IA à temps fixe

suivant l'arrêt du traitement progestatif. Le traitement de courte durée (5 j) n'a pas été supérieur au traitement de longue durée (14 j). Les trois traitements ont permis l'atteinte d'un taux de fertilité similaire (74,9 %). La prolificité et l'efficacité ont montré des interactions variables des résultats entre les traitements. Le protocole avec IA à heure fixe, 48 h après le retrait du CIDR, serait à privilégier puisqu'il nécessite une moins grande charge de travail et est plus facile à réaliser en pratique. La détection des chaleurs des brebis est une étape du protocole d'insémination qui devrait être conservée puisqu'elle permet de diminuer les coûts et améliore grandement l'efficacité de la technique.

CHAPITRE 4.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Le présent travail avait comme objectif de tester des protocoles de synchronisation des chaleurs avec CIDR jumelés à une IA par laparoscopie en semence congelée dans un contexte de production ovine spécifique au Québec. L'IA avec semence congelée est un outil d'amélioration génétique important qui permet d'améliorer rapidement la productivité des troupeaux grâce à l'utilisation de mâles élites. Cette technique a d'ailleurs fait ses preuves depuis de nombreuses années chez la vache laitière et le porc. Au Québec, l'IA chez les ovins avec semence congelée implique l'utilisation de brebis dans un système d'élevage accéléré (IPP court), des inséminations en saison sexuelle et l'utilisation d'eCG et du CIDR pour la synchronisation des chaleurs. Cette synchronisation est indispensable en insémination étant donné que la gestion des brebis s'effectue en groupe. Aucun ouvrage scientifique n'a testé des protocoles semblables sur la brebis prolifique Romanov (RV) dans un tel contexte, ce qui a rendu la comparaison avec la littérature parfois difficile.

Au Québec, les brebis prolifiques ont gagné en popularité depuis quelques années. Cela s'explique par l'utilisation de plus en plus répandue des croisements à trois races dont les objectifs sont de produire de l'agneau de marché de qualité et d'augmenter la productivité des troupeaux. Ce type de structure de production implique un accouplement avec une race maternelle et une race prolifique pour produire des brebis F1. Celles-ci seront par la suite accouplées avec une race paternelle pour produire des agneaux de marché. L'augmentation de l'utilisation de la brebis prolifique Romanov ces dernières années a mené à des problèmes de consanguinité qui peuvent être contrecarrés par un programme d'insémination artificielle. Toutefois, l'IA n'est plus disponible au Québec et l'expertise dans le domaine est très restreinte, notamment en insémination par laparoscopie. L'application d'un protocole d'IA efficace dans plusieurs troupeaux permettra une amélioration génétique importante chez plusieurs races pures et aura un impact positif sur

la qualité du cheptel ovin québécois, en supposant que les races se comportent de la même façon suite à une synchronisation des chaleurs. D'autres essais ont d'ailleurs été réalisés par notre équipe de recherche avec deux autres races pures (Suffolk et Dorset).

Le présent projet a permis d'étudier un protocole d'insémination qui se démarque de ceux actuellement utilisés dans d'autres pays sur deux aspects importants : l'IA effectuée en fonction de l'heure individuelle de la venue en chaleur de chacune des brebis et la détection des chaleurs. L'insémination par rapport au début de la chaleur plutôt qu'à heure fixe du retrait du CIDR n'avait jamais été testée au Canada. Ce protocole avait comme objectif d'augmenter la précision du dépôt de la semence par rapport à l'ovulation, puisqu'il est connu que l'intervalle entre le retrait du CIDR et l'ovulation est très variable entre les sujets et entre les races. Malgré le fait qu'il n'y a pas eu de gain de fertilité chez les brebis ayant été inséminées à 24 h de la chaleur comparativement à celles inséminées à 48 h du retrait, ce protocole a tout de même montré qu'il était efficace, puisque les trois protocoles ont montré un taux de fertilité moyen de 74,9 % chez la RV. L'utilisation d'un protocole en fonction de la venue en chaleur des brebis implique une détection des chaleurs à l'aide d'un bélier vasectomisé, qui n'avait pas non plus été étudié en Amérique du Nord dans un contexte d'IA avec une synchronisation au CIDR. La détection des chaleurs a un avantage important : elle permet de retirer du protocole d'insémination les brebis qui ne sont pas en chaleur, ce qui a permis un gain de fertilité de 2,4 %. Ce gain était relativement faible pour la race Romanov, puisque le taux d'induction des chaleurs a été très élevé et les chaleurs étaient très regroupées sur une courte période de temps. Toutefois, il est possible que ce gain de fertilité puisse être plus important dans d'autres cas, notamment chez d'autres races. L'utilisation du CIDR dans un contexte d'insémination en saison sexuelle n'avait jamais été testée dans les conditions propres au Québec, puisque cet implant n'est disponible sur le marché que depuis 2010. Les trois traitements ont permis de montrer que le CIDR était très efficace pour induire les chaleurs (97,1 %) dans un court intervalle de temps et que cet implant était adapté à une utilisation dans un protocole d'insémination.

Malgré la réussite de ce projet en termes de fertilité des brebis, certaines limites sont à souligner. La venue en chaleur très rapide des brebis suite au retrait des CIDR n'a pas permis d'obtenir une moyenne exacte de l'intervalle de temps entre le retrait des CIDR et la venue en chaleur. En effet, dans plusieurs essais, la détection des chaleurs a débuté trop tardivement, puisque de nombreuses brebis étaient déjà en chaleur à l'introduction du bélier vasectomisé. Le dosage de la progestérone sur les brebis traitées au CIDR a été fait sur un groupe de brebis n'ayant pas été inséminé. Il a donc été impossible de faire le lien entre la concentration de progestérone sanguine et la fertilité des brebis. Il serait intéressant de procéder à des prises de sang plus fréquentes afin de déterminer le moment de l'atteinte du niveau maximal de progestérone dans le sang et la chute de celle-ci jusqu'au retrait afin de déterminer son influence sur l'induction de la chaleur et sur la fertilité.

Suite à l'évaluation de l'efficacité des trois traitements, des éléments prospectifs peuvent être mis de l'avant. Puisque les résultats de fertilité ont été plus que satisfaisants, on peut dire que l'utilisation de la semence congelée en IA par laparoscopie est bien maîtrisée et que son utilisation peut être envisagée par les producteurs. Toutefois, en considérant les coûts reliés à la technique d'IA par laparoscopie (Tableau 4.1) et la main-d'œuvre nécessaire pour être efficace, cette méthode demeure difficile d'accès pour les producteurs et pour son utilisation à grande échelle. Il serait donc intéressant de travailler sur une technique d'insémination cervicale, moins dispendieuse et moins complexe, pour qu'elle permette l'atteinte de taux de fertilité acceptables et constants entre les essais. Pour ce faire, il faudrait développer les recherches sur la conservation de la semence ovine puisque sa qualité suite à la décongélation demeure le point faible de l'insémination en production ovine. L'amélioration de la capacité de fécondation de la semence congelée permettrait l'atteinte de taux de fertilité élevés en IA cervicale, réduisant les coûts et les manipulations reliés à l'IA. Ainsi, l'insémination artificielle chez les ovins pourrait être utilisée à la grandeur de la province dans l'objectif d'améliorer la génétique des troupeaux rapidement.

Tableau 4.1 Coûts associés à chacun des protocoles d'insémination à l'essai

	Traitements		
	T14	T5	Témoin
<i>Synchronisation</i>¹			
CIDR (\$/brebis)	4,85	4,85	4,85
350 U.I. eCG (\$/brebis)	4,00	4,00	4,00
20 mg PGF _{2α} (\$/brebis)		3,05	
<i>Insémination</i>			
Semence ² (\$/paillette)	45	45	45
Laparoscopie ³ (\$/brebis)	50	50	50
Total (\$/brebis)	103,85	106,90	103,85

¹ Estimation selon les prix en vigueur en 2014. Il faut considérer l'ajout d'un applicateur pour le CIDR (15 \$) et des aiguilles et seringues (Richard Bourassa, vétérinaire, communication personnelle)

² Estimation qui comprend : Paillette de semence, transport et permis d'importation

³ Estimation qui comprend : Équipements, matériel, personnel (vétérinaire et techniciens) pour un groupe de plus de 30 brebis (Richard Bourassa, vétérinaire, communication personnelle)

Concernant les suites de ce projet, des inséminations ont été effectuées à l'automne 2014 dans le but de former des vétérinaires. Cette diffusion des connaissances à des professionnels dans le domaine permettra de rendre disponible cette technique aux producteurs de différentes races pures qui désirent augmenter leur productivité à l'aide de l'amélioration génétique de leur troupeau. Les producteurs commerciaux pourront éventuellement en profiter, grâce à l'accès à de nouveaux sujets issus de cette nouvelle génétique qui permettra un gain rapide de la génétique du cheptel ovin partout au Québec. Ces essais subséquents permettent aussi de tester la répétabilité du protocole sur d'autres races et ainsi valider les résultats obtenus dans le cadre de ce projet de recherche.

LISTE DES OUVRAGES CITÉS

- Abecia, J.A., Forcada, F. et González-Bulnes, A. 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Vet. Clin. Food Anim.* 27: 67–79.
- Adalsteinsson, S. 1979. The independent effects of live weight and body condition on fecundity and productivity of Icelandic ewes. *Anim. Sci.* 28: 13-23.
- Ainsworth, L. et Downey, B.R. 1986. A controlled internal drug-release dispenser containing progesterone for control of the estrous cycle of ewes. *Theriogenology* 26: 847-856.
- Alexander, B., Mastromonaco, G. et King, W.A. 2010. Recent advances in reproductive biotechnologies in sheep and goat. *J. Vet. Sci. Technol.* 1: 101.
- Ali, A. 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Res.* 72: 33-37.
- Ali, A., Hayder, M. et Saifelnaser, E.O.H. 2009. Ultrasonographic and endocrine evaluation of three regimes for oestrus and ovulation synchronization for sheep in the subtropics. *Reprod. Dom. Anim.* 44: 873-878.
- Amir, D. et Schindler, H. 1972. The conception rate of ewes after artificial insemination at different times during oestrus. *J. Reprod. Fertil.* 28: 261-264.
- Anel, L., Alvarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E. et de Paz, P. 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reprod. Dom. Anim.* 41: 30–42.
- Anel, L., Boixo, J.C., Anel, E., Carbajo, M., Domínguez, J.C., Olmedo, J.A. et Melcon, C. 1992. Fertility of Churra ewes following intrauterine insemination by laparoscopy with frozen-thawed semen. Pages 1384-1386 *dans* 12th Int. Congr. Anim. Reprod. A.I., The Hage, Holland.
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., de la Fuente, L.F. et de Paz, P. 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in Churra ewes: A field assay. *Theriogenology* 63: 1235-1247.
- Arranz, J.M., Freret, S., Fidelle, F., Fatet, A., Druart, X., Beckers, J.F., Sulon, J., Sousa, N.M., Bodin, L., David, I., Lagriffoul, G., Beltran de Heredia, I., Sasieta, L., Arrese, F., Maeztu Sardina, F., Lana Soto, M.P. et Lasarte, M. 2008. Réussite à l'insémination en élevages ovins laitiers pyrénéens : facteurs de variation liés aux conduites de troupeaux. *Renc. Rech. Ruminants* 15: 359-362.

- Bailey, J.L., Blodeau, J.-F. et Cormier, N. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon minireview. *J. Androl.* 21: 1-7.
- Bailey, J.L., Buhr, M.M. et Robertson, L. 1994. Relationships among in vivo fertility, computer-analysed motility and in vitro Ca²⁺ flux in bovine spermatozoa. *Can. J. Anim. Sci.* 74: 53-58.
- Bailey, J.L., Morrier, A. et Cormier, N. 2003. Semen cryopreservation: Successes and persistent problems in farm species. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 393-401.
- Baird, D.T. 1978. Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod.* 18: 359-364.
- Baril, G., Brebion, P. et Chesné, P. 1993a. Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre. Étude FAO: Production et Santé Animales. FAO, Italie, Rome. 183 pp.
- Baril, G., Chemineau, P., Cognié, Y., Guérin, Y., Leboeuf, B., Orgeur, P. et Vallet, J.-C. 1993b. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome, Italie, 111 pp.
- Baril, G., Cognié, Y., Freitas, V.J.F., Maurel, M.C. et Mermillod, P. 1998. Maîtrise du moment de l'ovulation et aptitude au développement de l'embryon chez les ruminants. *Renc. Rech. Ruminants* 5: 57-62.
- Baril, G., Rémy, B., Leboeuf, B., Beckers, J.F. et Saumande, J. 1996. Synchronization of estrus in goats: The relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology* 45: 1553-1559.
- Bartlewski, P.M., Baby, T.E. et Giffin, J.L. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 124: 259-268.
- Beck, N.F.G., Davies, B. et Williams, S.P. 1993. Oestrous synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Anim. Sci.* 56: 207-210.
- Beckers, J.F., Remy, B., Baril, G., Figueiredo, J.R., Bureau, F., Sulon, J. et Saumande, J. 1995. Anti-eCG antibodies are transmitted via the colostrum in goats. *Theriogenology* 43: 165.
- Bindon, B.M., Blanc, M.R., Pelletier, J., Terqui, M. et Thimonier, J. 1979. Perioovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J. Reprod. Fertil.* 55: 15-25.

- Bodin, L., Drion, P.V., Remy, B., Brice, G., Cognié, Y. et Beckers, J.F. 1997. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. *Reprod. Nutr. Dev.* 37: 651-660.
- Bodin, L., Elsen, J.M., Hanocq, E., François, D., Lajous, D., Manfredi, E., Mialon, M.M., Boichard, D., Foulley, J.L., Sancristobal-Gaudy, M., Teyssier, J., Thimonier, J. et Chemineau, P. 1999. Génétique de la reproduction chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.* 12: 87-100.
- Bolend, M.P. et Gordon, I. 1978. Recovery and fertilization of eggs following natural service and uterine insemination in the Galway ewe. *Ir. Vet. J.* 7: 123-125
- Bolt, D.J., Kelley, H.E. et Hawk, H.W. 1971. Release of LH by estradiol in cycling ewes. *Biol. Reprod.* 4: 35-40.
- Bonnes, G. et Batellier, F. 2005. Reproduction des animaux d'élevage. Educagri Éditions. 407 pp.
- Brice, G., Bodin, L., Remy, B., Maurel, M.C. et Beckers, J.F. 1995a. Effets de la PMSG liés aux traitements répétés de synchronisation sur la reproduction ovine. *Renc. Rech. Ruminants* 2: 391-394.
- Brice, G., Jardon, C. et Valle, A. 1995b. Le point sur la conduite de la reproduction chez les ovins. Institut de l'élevage. Paris, France. 79 pp.
- Buckrell, B.C., Buschbeck, C., Gartley, C.J., Kroetsch, T., McCutcheon, W., Martin, J., Penner, W.K. et Walton, J.S. 1994. Further development of a transcervical technique for artificial insemination in sheep using previously frozen semen. *Theriogenology* 42: 601-611.
- Butler, L.G. et Maxwell, W.M.C. 1988. The effects of sire and location on results of on-farm intrauterine insemination of frozen-thawed semen. *Proc. Aust. Assoc. Anim. Breed. Genet.* 7: 394-397.
- Campbell, J.W., Harvey, T.G., McDonald, M.F. et Sparksman, R.I. 1996. Transcervical insemination in sheep: An anatomical and histological evaluation. *Theriogenology* 45: 1535-1544.
- Candappa, I.B.R. et Bartlewski, P.M. 2011. A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *Open Reprod. Sci. J.* 3: 162-175
- Candappa, I.B.R., Brainbridge, H.C., Price, N.T., Hourigan, K.R. et Bartlewski, P.M. 2009. A preliminary study on the suitability of Cervidil® to induce cervical dilatation for artificial insemination in ewe. *Res. Vet. Sci.* 87: 204-206.

- .Cappai, P., Sanna, S.R., Branca, A., Fraghi, A. et Bomboi, G. 1998. Comparison of laparoscopic and transcervical insemination with frozen semen in Sarda dairy ewes. *Anim. Sci.* 66: 369-373.
- Carlson, K.M., Pohl, H.A., Marcek, J.M., Muser, R.K. et Wheaton, J.E. 1989. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of estrus in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 18: 205-218.
- Chemineau, P., Cognié, Y., Guérin, Y., Orgeur, P. et Vallet, J.-C. 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Animal Production and Health Paper. FAO. Rome, Italie. 222 pp.
- Chemineau, P., Malpaux, B., Guérin, Y., Maurice, F., Daveau, A. et Pelletier, J. 1992. Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins. *Ann. Zootech.* 41: 247-261.
- Clarke, I.J., Thomas, G.B., Yao, B. et Cummins, J.T. 1987. GnRH secretion throughout the ovine estrous cycle. *Neuroendocrinology* 46: 82-88.
- Cline, M.A., Ralston, J.N., Seals, R.C. et Lewis, G.S. 2001. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J. Anim. Sci.* 9: 589-594.
- Cognié, Y. 1988. Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. *INRA Prod. Anim.* 1: 83-92.
- Cognié, Y., Baril, G., Poulin, N. et Mermillod, P. 2003. Current status of embryo technologies in sheep and goat. *Theriogenology* 59: 171-188.
- Cognié, Y., Colas, G. et Thimonier, J. 1984. Control of reproduction in the ewe. Pages 175-190. *Dans* The reproductive potential of cattle and sheep. Les colloques de l'INRA. Rehovot, Israël.
- Colas, G. 1975. Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-frozen ram semen. *J. Reprod. Fertil.* 42: 277-285.
- Colas, G., Thimonier, J., Courit, M., Ortavanr, R., Cornu, C. et Guérin, Y. 1973. Fertilité, prolificité et fécondité pendant la saison sexuelle des brebis inséminées artificiellement après traitement à l'acétate de fluorogestone. *Ann. Zootech.* 22: 441-451.
- Contreras-Solis, I., Vasquez, B., Diaz, T., Letelier, C., Lopez-Sebastian, A. et Gonzalez-Bulnes, A. 2009. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". *Theriogenology* 71: 1018-1025.

- Corteel, J.M., Leboeuf, B. et Baril, G. 1988. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Ruminant Res.* 1: 19-35.
- Cseh, S., Faigl, V. et Amiridis, G.S. 2012. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 130: 187-192.
- Cumming, I.A., Buckmaster, J.M., Blockey, M.A.d.B., Goding, J.R., Winfield, C.G. et Baxter, R.W. 1973. Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. *Biol. Reprod.* 9: 24-29.
- Diekman, M.A., Neary, M.K. et Kelly, G.R. 2003. Repeated injections of pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) failed to induce antibody production in fall lambing ewes. *Sheep and Goat Res. J.* 18: 114-115.
- Donovan, A., Hanrahan, J.P., Kummen, E., Duffy, P. et Boland, M.P. 2004. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 84: 359-368.
- Donovan, A., Hanrahan, J.P., Lally, T., Boland, M.P., Byrne, G.P., Duffy, P., Lonergan, P. et O'Neill, D.J. 2001. AI for sheep using frozen-thawed semen. Project report (ARMIS 4047). Research Stimulus Fund. 43 pp.
- Driancourt, M.A., Gauld, I.K., Terqui, M. et Webb, R. 1986. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. *J. Reprod. Fertil.* 78: 565-575.
- Druart, X., Guerin, Y., Gatti, J.-L. et Dacheux, J.-L. 2009. Conservation de la semence ovine. *INRA Prod. Anim.* 22: 90-96.
- Eikje, L.S., Schaeffer, L.R., Ådnøy, T. et Klemetsdal, G. 2011. Sheep breeding schemes utilising artificial insemination; large-scale simulation with a complex breeding goal. *Animal* 5: 367-377.
- Eppleston, J., Evans, G. et Roberts, E.M. 1991. Effect of time of PMSG and GnRH on the time of ovulation, LH secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 26: 227-237.
- Eppleston, J. et Roberts, E.M. 1986. The effect of progestagen, PMSG and time of insemination on fertility in ewes following intra-uterine insemination with frozen semen. *Aust. Vet. J.* 63: 124-125.
- Eppleston, J., Salamon, S., Moore, N.W. et Evans, G. 1994. The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen-thawed ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 36: 211-225.

- Evans, A.C.O., Duffy, P., Crosby, T.F., Hawken, P.A., Boland, M.P. et Beard, A.P. 2004. Effect of ram exposure at the end of progesterone treatment on estrus synchronisation and fertility during the breeding season in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 84: 349-358.
- Evans, G. 1988. Current topics in artificial insemination of sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 41: 103-116.
- Evans, G. 1991. Application of reproductive technology to the Australian livestock industries. *Reprod. Fertil. Dev.* 3: 627-650.
- Evans, G. et Armstrong, D.T. 1984. Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *J. Reprod. Fertil.* 70: 47-53.
- Evans, G. et Maxwell, W.M.C. 1987. *Salamons' artificial insemination of sheep and goats.* Butterworths, Sydney, Australie, 194 pp.
- Fair, S., Hanrahan, J.P., Donovan, A., Duffy, P., O'Meara, C.M., Lonergan, P. et Evans, A.C.O. 2007. Hormonal relationships during the periovulatory period among ewe breeds known to differ in fertility after cervical artificial insemination with frozen thawed semen. *Anim. Reprod. Sci.* 97: 284-294.
- Fair, S., Hanrahan, J.P., O'Meara, C.M., Duffy, P., Rizos, D., Wade, M., Donovan, A., Boland, M.P., Lonergan, P. et Evans, A.C.O. 2005. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology* 63: 1995-2005.
- Fair, S., Hanrahan, J.P., Ward, F., O'Meara, C.M., Duffy, P., Donovan, A., Lonergan, P. et Evans, A.C.O. 2006. The difference in embryo quality between Belclare and Suffolk ewes is not due to differences in oocyte quality. *Theriogenology* 66: 191-197.
- Fenton, L.S., Shackell, G.H., Ramsay, M.L., Dodds, K.G., Reid, P.J. et Mcleod, B.J. 1997. Influence of year, age, and geographical location on induced oestrus in ewes early in the breeding season. *N. Z. J. Agric. Res.* 40: 69-74.
- Findlater, R.C.F., Haresign, W., Curnock, R.M. et Beck, N.F.G. 1991. Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates. *Anim. Sci.* 53: 89-96.
- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R. et Janett, F. 2012. Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Res.* 107: 141-146.

- Forcada, F., Ait Amer-Meziane, M., Abecia, J.A., Maurel, M.C., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T., Asenjo, B., Vázquez, M.I. et Casao, A. 2011. Repeated superovulation using a simplified FSH/eCG treatment for in vivo embryo production in sheep. *Theriogenology* 75: 769-776.
- Fukui, Y., Akaike, M., Anzai, H. et Ono, H. 1989. Effect of timing of injection with pregnant mare's serum gonadotrophin on fixed-time artificial insemination. *J. Agric. Sci., Camb.* 113: 361-364.
- Fukui, Y., Fujii, M. et Tashiro, Y. 1993b. Insemination doses of frozen-thawed semen in seasonally anestrous ewes treated with two different progesterone-impregnated intravaginal devices. *J. Reprod. Dev.* 39: 269-273.
- Fukui, Y., Hirai, H., Honda, K. et Hayashi, K. 1993a. Lambing rates by fixed-time intrauterine insemination with frozen semen in seasonally anestrous ewes treated with a progestogen-impregnated sponge or CIDR device. *J. Reprod. Dev.* 39: 1-5.
- Fukui, Y., Ishikawa, D., Ishida, N., Okada, M., Itagaki, R. et Ogiso, T. 1999. Comparison of fertility of estrus synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. *J. Reprod. Dev.* 45: 337-343.
- Fukui, Y., Itagaki, R., Ishida, N. et Okada, M. 2001. Effect of different hCG treatments on fertility of estrus-induced and artificially inseminated ewes during the non-breeding season. *J. Reprod. Dev.* 47: 189-195.
- Fukui, Y., Kobayashi, M., Kojima, M. et Ono, H. 1985. Effects of time of PMSG and fixed-time GnRH injections on estrus incidence and fertility in physiologically different ewes pre-treated with progestogen-impregnated vaginal sponge during the nonbreeding season. *Theriogenology* 24: 631-641.
- Fukui, Y., Kohno, H., Okabe, K., Katsuki, S., Yoshizawa, M., Togari, T. et Watanabe, H. 2010. Factors affecting the fertility of ewes after intrauterine insemination with frozen-thawed semen during the non-breeding season. *J. Reprod. Dev.* 56: 460-466.
- Fukui, Y., Tabushi, K., Yamada, A., Hayashi, N. et Tanaka, K. 1994. Effect of insertion periods of controlled internal drug release device (CIDR) on conception rate by fixed-time intrauterine insemination with frozen semen in seasonally anestrous ewes. *J. Reprod. Dev.* 40: 221-226.
- Fukui, Y., Yamamura, K., Matsunaga, N. et Miyamoto, A. 2000. Effect of bovine somatotropin administration on day 11 after artificial insemination in estrus-induced ewes during the non-breeding season. *J. Reprod. Dev.* 46: 133-138.
- Garner, D.L., Thomas, C.A., Gravance, C.G., Marshall, C.E., DeJarnette, J.M. et Allen, C.H. 2001. Seminal plasma addition attenuates the dilution effect in bovine sperm. *Theriogenology* 56: 31-40.

- Ghalsasi, P.M. et Nimbkar, C. 1996. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. *Small Ruminant Res.* 23: 69-73.
- Godfrey, R.W., Collins, J.R., Hensley, E.L. et Wheaton, J.E. 1999. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology* 51: 985-997.
- Gonzalez-Bulnes, A., Garcia-Garcia, R.M., Santiago-Moreno, J., Dominguez, V., Lopez-Sebastian, A. et Cocero, M.J. 2003. Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatments in ewes. *Theriogenology* 60: 281-288.
- Gonzalez-Bulnes, A., Veiga-Lopez, A., Garcia, P., Garcia-Garcia, R.M., Ariznavarreta, C., Sanchez, M.A., Tresguerres, J.A.F., Cocero, M.J. et Flores, J.M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology* 63: 2523-2534.
- Gonzalez, R.E., Labuonora, D. et Russel, A.J.E. 1997. The effects of ewe live weight and body condition score around mating on production from four sheep breeds in extensive grazing systems in Uruguay. *Anim. Sci.* 64: 139-145.
- Goodman, R.L. et Inskeep, E.K. 2006. Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the sheep. Chapitre 44: 2389-2447. *Dans* Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*. Elsevier, Oxford, Royaume-Uni.
- Gordon, I. 1997. *Controlled reproduction in sheep and goats*. CAB International, University Press, Cambridge, Royaume-Uni. 450 pp.
- Gunn, R.G. et Doney, J.M. 1979. Fertility in Cheviot ewes. 1. The effect of body condition at mating on ovulation rate and early embryo mortality in North and South Country Cheviot ewes. *Anim. Sci.* 29: 11-16.
- Gunn, R.G., Doney, J.M. et Russel, A.J.F. 1969. Fertility in Scottish Blackface ewes as influenced by nutrition and body condition at mating. *J. Agric. Sci., Camb.* 73: 289-294.
- Hackett, A.J. et Wolynetz, M.S. 1982. Effect of PMSG on the reproductive performance of totally confined ewes bred at synchronized estrus. *Theriogenology* 17: 215-221.
- Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S. et Buckrell, B.C. 1990a. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology* 33: 993-1010.
- Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S., Sharpe, P. et Buckrell, B.C. 1990b. Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology* 33: 1231-1243.
- Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S. et Buckrell, B.C. 1990c. The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology* 33: 977-992.

- Hammerstedt, R.H., Graham, J.K. et Nolan, J.P. 1990. Cryopreservation of mammalian sperm: What we ask them to survive. *J. Androl.* 11: 73-88.
- Hamra, A.H., Massiri, Y.G., Marcek, J.M. et Wheaton, J.E. 1986. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled internal drug-release dispensers, implants and sponges. *Anim. Reprod. Sci.* 11: 187-194.
- Haresign, W., Read, S.R., Curnock, R.M. et Reed, H.C.B. 1986. A note on the use of laparoscopy for intrauterine insemination of frozen-thawed semen in the ewe. *Anim. Prod.* 43: 553-556.
- Harrison, R.M. et Wilds, D.E. 1980. *Animal laparoscopy*. Williams and Wilkins. Baltimore, États-Unis. 256 pp.
- Hashemi, M., Safdarian, M. et Kafi, M. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Res.* 65: 279-283.
- Hauger, R.L., Karsch, F.J. et Foster, D.L. 1977. A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal relationships between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. *Endocrinology* 101: 807-817.
- Hill, J.R., Thompson, J.A. et Perkins, N.R. 1998. Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 merino ewes under commercial conditions: A survey. *Theriogenology* 49: 697-709.
- Hiwasa, M., Kohno, H., Togari, T., Okabe, K. et Fukui, Y. 2009. Fertility after different artificial insemination methods using a synthetic semen extender in sheep. *J. Reprod. Dev.* 55: 50-54.
- Hunter, R.H.F. 1994. Causes for failure of fertilization in domestic species. Pages 1-22. *Dans Embryonic mortality in domestic species*. CRC Press Inc. Londres, Royaume-Uni.
- Husein, M.Q. et Ababneh, M.M. 2008. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology* 69: 376-383.
- Ishida, N., Okada, M., Sebata, K., Minato, M. et Fukui, Y. 1999. Effects of GnRH and hCG treatments for enhancing corpus luteum function to increase lambing rate of ewes artificially inseminated during the non-breeding season. *J. Reprod. Dev.* 45: 73-79.
- Jabbour, H.N. et Evans, G. 1991. Fertility of superovulated ewes following intrauterine or oviducal insemination with fresh or frozen-thawed semen. *Reprod. Fertil. Dev.* 3: 1-7.

- Jeffcoate, I.A., Rawlings, N.C. et Rieger, D. 1984. Progesterone and the surge release of gonadotropins in the ewe. *Dom. Anim. Endocrinol.* 1: 309-317.
- Kaabi, M., Alvarez, M., Anel, E., Chamorro, C.A., Boixo, J.C., de Paz, P. et Anel, L. 2006. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. *Theriogenology* 66: 1876-1883.
- Karsch, F.J., Legan, S.J., Hauger, R.L. et Foster, D.L. 1977. Negative feedback action of progesterone on tonic Luteinizing Hormone secretion in the ewe: Dependence on the ovaries. *Endocrinology* 101: 800-806.
- Karsch, F.J., Legan, S.J., Ryan, K.D. et Foster, D.L. 1980. Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod.* 23: 404-413.
- Kermani Moakhar, H., Kohram, H., Zareh Shahneh, A. et Saberifar, T. 2012. Ovarian response and pregnancy rate following different doses of eCG treatment in Chall ewes. *Small Ruminant Res.* 102: 63-67.
- Killeen, A.D. et Moore, N.W. 1970. Transport of spermatozoa, and fertilization in the ewe following cervical and uterine insemination early and late in oestrus. *Aust. J. Biol. Sci.* 23: 1271-1278.
- Killian, D.B., Kiesling, D.O. et Warren, J.E. 1985. Lifespan of corpora lutea induced in estrous-synchronized cycling and anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 61: 210-215.
- King, M.E., McKelvey, W.A.C., Dingwall, W.S., Matthews, K.P., Gebbie, F.E., Mylne, M.J.A., Stewart, E. et Robinson, J.J. 2004. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology* 62: 1236-1244.
- Knickerbocker, J.J., Wiltbank, M.C. et Niswender, G.D. 1988. Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. *Dom. Anim. Endocrinol.* 5: 91-107.
- Knight, T.W., O'Neill, K., Ridland, M., Hamilton, G., Death, A. et Wyeth, T. 1992. Effects of month and PMSG on the interval from CIDR removal to ovulation in Romney and Merino ewes. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 52: 261-263.
- Knights, M., Hoehn, T., Lewis, P.E. et Inskoop, E.K. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrous ewes. *J. Anim. Sci.* 79: 1120-1131.
- Kohno, H., Okamoto, C., Iida, K., Takeda, T., Kaneko, E., Kawashima, C., Miyamoto, A. et Fukui, Y. 2005. Comparison of estrus induction and subsequent fertility with two different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. *J. Reprod. Dev.* 51: 805-812.

- Land, R.B. 1971. The incidence of oestrus during lactation in Finnish Landrace, Dorset Horn and Finn-Dorset sheep. *J. Reprod. Fertil.* 24: 345-352.
- Land, R.B., Pelletier, J., Thimonier, J. et Mauléon, P. 1973. A quantitative study of genetic differences in the incidence of oestrus, ovulation and plasma luteinizing hormone concentration in the sheep. *J. Endocr.* 58: 305-317.
- Langford, G.A., Marcus, G.J. et Batra, T.R. 1983. Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progestogen-treated sheep. *J. Anim. Sci.* 57: 307-312.
- Leethongdee, S., Khalid, M., Bhatti, A., Ponglowhapan, S., Kershaw, C.M. et Scaramuzzi, R.J. 2007. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. *Theriogenology* 67: 767-777.
- Letelier, C.A., Contreras-Solis, I., García-Fernández, R.A., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J.A.F., Flores, J.M. et Gonzalez-Bulnes, A. 2009. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology* 71: 676-682.
- Lewis, P.E., Bolt, D. et Inskeep, E.K. 1974. Luteinizing hormone release and ovulation in anestrus ewes. *J. Anim. Sci.* 38: 1197-1203.
- Lightfoot, R.J. et Salamon, S. 1970a. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method II. The effects of method of insemination on fertilization and embryonic mortality. *J. Reprod. Fertil.* 22: 399-408.
- Lightfoot, R.J. et Salamon, S. 1970b. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method I. Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. *J. Reprod. Fertil.* 22: 385-398.
- Lucidi, P., Barboni, B. et Mattioli, M. 2001. Ram-induced ovulation to improve artificial insemination efficiency with frozen semen in sheep. *Theriogenology* 55: 1797-1805.
- Luther, J.S. 2008. Application of laparoscopic artificial insemination techniques to the North Dakota sheep industry. Pages 24-26. *Dans* Sheep Research Report. North Dakota State University. États-Unis.
- Luther, J.S., Grazul-Bilska, A.T., Kirsch, J.D., Weigl, R.M., Kraft, K.C., Navanukraw, C., Pant, D., Reynolds, L.P. et Redmer, D.A. 2007. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Res.* 72: 227-231.
- Marshall, J.T.A. et Nancarrow, C.D. 1993. Changes in saccharide-binding sites on the surface of ram spermatozoa following freeze-thawing. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 25: 65.

- Mattner, P.E., Entwistle, K.W. et Martin, I.C.A. 1969. Passage, survival, and fertility of deep-frozen ram semen in the genital tract of the ewe. *Aust. J. Biol. Sci.* 22: 181-188.
- Mauer, R.E., Revenal, P., Johnson, E.S., Moyer, R.H., Hlrata, A. et White, W.F. 1972. Levels of luteinizing hormone in sera of ewes near the time of oestrus as determined by radioimmunoassay. *J. Anim. Sci.* 34: 88-92.
- Maurel, M.C., Roy, F., Hervé, V., Bertin, J., Vaiman, D., Cribiu, E., Manfredi, E., Bouvier, F., Lantier, I., Boue, P. et Guillou, F. 2003. Réponse immunitaire à la eCG utilisée dans le traitement de l'induction d'ovulation chez la chèvre et la brebis. *Gyn. Obst. Fert.* 31: 766-769.
- Maxwell, W.M.C. 1986a. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 10: 301-308.
- Maxwell, W.M.C. 1986b. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 2. Effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 10: 309-316.
- Maxwell, W.M.C. et Barnes, D.R. 1986. Induction of oestrus in ewes using a controlled internal drug release device and PMSG. *J. Agric. Sci., Camb.* 106: 201-203.
- Maxwell, W.M.C. et Butler, L.G. 1984. Fertility of ewes following intra-uterine insemination using a laparoscope compared with other methods. *Proc. Aust. Assoc. Anim. Breed. Genet.* 4: 192-193.
- Maxwell, W.M.C. et Evans, G. 2009. Current status and future prospects for reproductive technologies in small ruminants. *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* 18: 287-295.
- Maxwell, W.M.C. et Hewitt, L.J. 1986. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *J. Agric. Sci.* 106: 191-193.
- Maxwell, W.M.C., Butler, L.G. et Wilson, H.R. 1984b. Intra-uterine insemination of ewes with frozen semen. *J. Agric. Sci.* 102: 233-235.
- Maxwell, W.M.C., Evans, G., Rhodes, S.L., Hillard, M.A. et Bindon, B.M. 1993. Fertility of superovulated ewes after intrauterine or oviducal insemination with low numbers of fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.* 5: 57-63.
- Maxwell, W.M.C., Wilson, H.R. et Butler, L.G. 1984a. Fertility of ewes after intrauterine insemination with frozen semen. *Anim. Prod. Aust.* 15: 448-451.
- McCappin, N. et Murray, R.D. 2011. Some factors affecting pregnancy rate in ewes following laparoscopic artificial insemination. *Vet. Rec.* 168: 99.

- McEvoy, T.G., Robinson, J.J., Aitken, R.P. et Robertson, I.S. 1996. The effect of time of intrauterine insemination on the development and viability of embryos collected from superovulated ewes. *Theriogenology* 46: 727-738.
- McKelvey, W.A.C., Robinson, J.J., Aitken, R.P. et Henderson, G. 1985. The evaluation of a laparoscopic insemination technique in ewes. *Theriogenology* 24: 519-535.
- Menchaca, A. et Rubianes, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.* 16: 403-413, 1031-3613.
- Moenter, S.M., Caraty, A., Locatelli, A. et Karsch, F.J. 1991. Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: Existence of a preovulatory GnRH surge. *Endocrinology* 129: 1175-1182.
- Moor, R.M., Osborn, J.C. et Crosby, I.M. 1985. Gonadotrophin-induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.* 74: 167-172.
- Olesen, I. 1993. Effects of cervical insemination with frozen semen on fertility and litter size of Norwegian sheep. *Livest. Prod. Sci.* 37: 169-184.
- Ozyurtlu, N., Kucukaslan, I. et Cetin, Y. 2010. Characterization of oestrous induction response, oestrous duration, fecundity and fertility in Awassi ewes during the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatments. *Reprod. Dom. Anim.* 45: 464-467.
- Papadopoulos, S., Hanrahan, J.P., Donovan, A., Duffy, P., Boland, M.P. et Lonergan, P. 2005. In vitro fertilization as a predictor of fertility from cervical insemination of sheep. *Theriogenology* 63: 150-159.
- Parks, J.E. et Graham, J.K. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38: 209-222.
- Pearce, D.T. et Robinson, T.J. 1985. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. *J. Reprod. Fertil.* 75: 49-62.
- Pérez, L.J., Valcárcel, A., de las Heras, M.A., Moses, D. et Baldassarre, H. 1996. Evidence that frozen/thawed ram spermatozoa show accelerated capacitation in vitro as assessed by chlortetracycline assay. *Theriogenology* 46: 131-140.
- Phillippo, M., Swapp, G.H., Robinson, J.J. et Gill, J.C. 1971. The diagnosis of pregnancy and estimation of fetal numbers in sheep by laparoscopy. *J. Reprod. Fertil.* 27: 129-132.
- Purdy, P., Stobart, R.H., Larson, B. et Blackburn, H. 2009. Evaluation of new techniques to enhance the use of A.I. on farm. *Proc. U.S. Sheep Research Programs*: 36-38.

- Quintana Casares, P., Maxwell, W.M.C., Wilson, H.R. et Setchell, B.P. 1990. The effect of dose of motile spermatozoa inseminated by intauterine and cervical inseminations on conception rate. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 22: 68.
- Quirke, J.F., Hanrahan, J.P. et Gosling, J.P. 1981. Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. *J. Reprod. Fertil.* 61: 265-272.
- Rawlings, N.C. et Evans, A.C.O. 1995. Androgen negative feedback during the early rise in LH secretion in bull calves. *J. Endocrinol.* 145: 243-249.
- Raynal, P. et Houdeau, E. 2004. Comparaison de l'activité réflexe de l'utérus au cours de l'insémination artificielle et de l'accouplement chez la brebis. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 33: 725-733.
- Rhind, S.M. et McNeilly, A.S. 1986. Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and prolactin in Scottish Blackface ewes in high and low levels of body condition. *Anim. Reprod. Sci.* 10: 105-115.
- Rhind, S.M., McKelvey, W.A.C., McMillen, S., Gunn, R.G. et Elston, D.A. 1989. Effect of restricted food intake, before and/ or after mating, on the reproductive performance of Greyface ewes. *Anim. Prod.* 48: 149-155.
- Rhodes, L. et Nathanielsz, P.W. 1988. Comparison of a controlled internal drug release device containing progesterone with intravaginal medroxyprogesterone sponges for estrus synchronization in ewes. *Theriogenology* 30: 831-836.
- Richter, T.A., Robinson, J.E. et Evans, N.P. 2002. Progesterone blocks the estradiol-stimulated luteinizing hormone surge by disrupting activation in response to a stimulatory estradiol signal in the ewe. *Biol. Reprod.* 67: 119-125.
- Richter, T.A., Robinson, J.E., Lozano, J.M. et Evans, N.P. 2005. Progesterone can block the preovulatory Gonadotropin-Releasing Hormone/Luteinising Hormone surge in the ewe by a direct inhibitory action on oestradiol-responsive cells within the hypothalamus. *J. Neuroendocrin.* 17: 161-169.
- Ritar, A.J. et Ball, P.D. 1993. The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 31: 249-262.
- Roberts, E.M. 1968. Endoscopy of the reproductive tract of the ewe. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 7: 192-194.
- Roberts, E.M. et Edgar, D.G. 1966. Timing of injection of pregnant mare's serum for the anoestrous breeding of ewes. *Nature* 212: 1048-1048.

- Robinson, T.J. et Smith, J.F. 1967. The time of ovulation after the withdraw of SC-9880 impregnated intravaginal sponges from cyclic Merino ewes. Pages 158-168. *Dans* The control of the ovarian cycle in the sheep. Sydney University Press, Australie.
- Romano, J.E., Christians, C.J. et Crabo, B.G. 2000. Continuous presence of rams hastens the onset of estrus in ewes synchronized during the breeding season. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 66: 65-70.
- Rosa, H.J.D. et Bryant, M.J. 2003. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Res.* 48: 155-171.
- Rousseau, G., Castonguay, F., Parent, G. et Bois, M. 1991. L'insémination ovine d'hier, d'aujourd'hui et d'après demain. Pages 37-46. *Dans* Colloque sur la production ovine. Québec, Canada.
- Roy, F., Combes, B., Vaiman, D., Cribiu, E.P., Pobel, T., Delétang, F., Combarous, Y., Guillou, F. et Maurel, M.-C. 1999. Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: Association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. *Biol. Reprod.* 61: 209-218.
- Roy, F., Maurel, M.C., Combarous, Y., Briois, J.P., Pobel, T. et Deletang, F. 1995. Étude de la réponse immunitaire observée chez les ovins et les caprins traités avec PMSG dans le cadre de l'insémination artificielle. *Renc. Rech. Ruminants* 2: 395-398.
- Salamon, S. et Maxwell, W.M.C. 1995a. Frozen storage of ram semen II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Anim. Reprod. Sci.* 38: 1-36.
- Salamon, S. et Maxwell, W.M.C. 1995b. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 37: 185-249.
- Salamon, S. et Robinson, T. 1962. Studies on the artificial insemination of Merino sheep. I. The effects of frequency and season of insemination, age of the ewe, rams, and milk diluents on lambing performance. *Aust. J. Agric. Res.* 13: 52-68.
- Salamon, S., Maxwell, W.M.C. et Evans, G. 1985. Fertility of ram semen frozen-stored for 16 years. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 17: 62.
- Salamon, S., Maxwell, W.M.C. et Firth, J.H. 1979. Fertility of ram semen after storage at 5°C. *Anim. Reprod. Sci.* 2: 373-385.
- Santolaria, P., Palacin, I. et Yániz, J. 2011. Management factors affecting fertility in sheep. Chapitre 11: 167-190. *Dans* Artificial insemination in farm animal. InTech. Rijeka, Croatie.
- SAS Institute inc. 2001. SAS User's Guide : Statistic, SAS for Windows, version 9.2. SAS Institute inc., Cary, Caroline du Nord, États-Unis.

- Sayre, B.L. et Lewis, G.S. 1997. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. *Theriogenology* 48: 267-275.
- Scaramuzzi, R.J., Downing, J.A., Campbell, B.K. et Cognié, Y. 1988. Control of fertility and fecundity of sheep by means of hormonal manipulation. *Aust. J. Biol. Sci.* 41: 37-46.
- Shackell, G.H. 1991. The timing of oestrus, LH surge and ovulation in ewes following synchronisation with MAP sponges FGA sponges or CIDR's. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 51: 73-78.
- Shackell, G.H., Kyle, B. et Littlejohn, R.P. 1990. Factors influencing the success of a large scale artificial insemination programme in sheep. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 50: 427-430.
- Smith, J.F. et Parr, J. 1992. Effect of oestrogen pre-treatment and duration of CIDR treatment on pattern of onset of oestrus in ewes. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 52: 257-260.
- Smith, J.F., Cruickshank, G.F., McGowan, L.T., Parr, J. et Mortimer, B.J. 1988. Seasonal changes in oestrus, ovulation and conception of Coopworth ewes treated with CIDRs and PMSG. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 48: 99-102.
- Smith, J.F., Parr, J., Murray, G.R., Clarke, A.G., Oliver, J.E. et Duganzich, D.M. 1997. Effect of sperm dose, diluent type and timing of insemination on pregnancy rates in sheep. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 57: 186-188.
- Smith, J.F., Parr, J., Murray, G.R., Clarke, A.G., Oliver, J.E., McDonald, R.M., Upreti, G.C. et Duganzich, D.M. 1999. Effect of very low sperm doses on pregnancy rates after AI in sheep. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 59: 219-222.
- Taşdemir, U., Büyükleblebici, S., Tuncer, P.B., Coşkun, E., Özgürtaş, T., Aydın, F.N., Büyükleblebici, O. et Gürcan, İ.S. 2013. Effects of various cryoprotectants on bull sperm quality, DNA integrity and oxidative stress parameters. *Cryobiology* 66: 38-42.
- Tasseron, F., Amir, D. et Schindler, H. 1977. Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling and freezing. *J. Reprod. Fertil.* 51: 461-462.
- Tchamitchian, L., Ricordeau, G., Lefèvre, C. et Desvignes, A. 1973. Observations sur l'anoestrus post-partum des brebis Romanov après un agnelage en saison sexuelle. *Ann. Zootech.* 22: 295-301.
- Thibault, C. 1967. Analyse comparée de la fécondation et de ses anomalies chez la brebis, la vache et la lapine. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 7: 5-23.

- Thibault, C., Courrot, M., Martinet, L., Mauleon, P., du Mesnil du Buisson, F., Ortavant, R., Pelletier, J. et Signoret, J.P. 1966. Regulation of breeding season and estrous cycles by light and external stimuli in some mammals. *J. Anim. Sci.* 25: 119-139.
- Thimonier, J. et Pelletier, J. 1971. Difference génétique dans la décharge ovulante (LH) chez la brebis de race Ile-de-France; relations avec le nombre d'ovulations. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 11: 559-567.
- Thompson, J.G., Simpson, A.C., James, R.W. et Tervit, H.R. 1990. The application of progesterone-containing CIDR devices to superovulated ewes. *Theriogenology* 33: 1297-1304.
- Thompson, J.G., Simpson, A.C., James, H.R., Tervit, G.W., Asher, G.W. et Peterson, A.J. 1992. Timing of the LH peak and ovulations in superovulated Coopworth ewes synchronised with progesterone-containing CIDR^R devices. *Proc. N-Z Soc. Anim. Prod.* 52: 171-174.
- Ungerfeld, R. et Rubianes, E. 1999. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim. Sci.* 68: 349-353.
- Vallet, J.C., Manar, S., Ait-Bihi, N. et Perrin, J. 1995. Insémination artificielle sous contrôle laparoscopique dans le cadre d'un programme Maroc-Français d'amélioration génétique et de promotion des races ovines d'origine française. *Renc. Rech. Ruminants* 2: 448.
- Van Cleeff, J., Karsch, F.J. et Padmanabhan, V. 1998. Characterization of endocrine events during the peri-estrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Dom. Anim. Endocrinol.* 15: 23-34.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G. et Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 55: 993-1004.
- Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M. et Rubianes, E. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology* 51: 1351-1361.
- Walker, S.K., Smith, D.H., Ancell, P. et Seamark, R.F. 1989. Time of ovulation in the South Australian Merino ewe following synchronization of estrus. 2. Efficacy of GnRH treatment and its relevance to insemination programs utilizing frozen-thawed semen. *Theriogenology* 31: 555-564.
- Watson, P.F. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil. Dev.* 7: 871-891.

- Watson, P.F. et Martin, I.C.A. 1972. A comparison of changes in the acrosomes of deep-frozen ram and bull spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 28: 99-101.
- Watson, P.F. et Martin, I.C.A. 1976. Artificial insemination of sheep: The fertility of semen extended in diluents containing egg yolk and inseminated soon after dilution or stored at 5°C for 24 or 48 hours. *Theriogenology* 6: 553-558.
- Welch, R.A.S., Andrewes, W.D., Barnes, D.R., Bremner, K. et Harvey, T.G. 1984. CIDR dispenser for oestrus and ovulation control in sheep. Pages 354-355 *dans* 10th Int. Congr. Anim. Reprod. A.I., Urbana Champaign, Illinois, États-Unis.
- Wheaton, J.E., Carlson, K.M., Windels, H.F. et Johnston, L.J. 1993. CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 127-141.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 77: 1-14.
- Windsor, D.P., Széll, A.Z., Buschbeck, C., Edward, A.Y., Milton, J.T.B. et Buckrell, B.C. 1994. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. *Theriogenology* 42: 147-157.
- Wulster-Radcliffe, M.C. et Lewis, G.S. 2002. Development of a new transcervical artificial insemination method for sheep: effects of a new transcervical artificial insemination catheter and traversing the cervix on semen quality and fertility. *Theriogenology* 58: 1361-1371.
- Wulster-Radcliffe, M.C., Wang, S. et Lewis, G.S. 2004. Transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. *Theriogenology* 62: 990-1002.
- Zelege, M., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J., Muller, T. et Erasmus, J.A. 2005. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Ruminant Res.* 56: 47-53.

Annexe A.

**Tableau synthèse des études scientifiques portant sur
l'utilisation du CIDR en insémination artificielle par
laparoscopie avec semence congelée chez la brebis**

Référence	Année de parution	Race ¹	n	Synchronisation							IA (h après retrait)	Fertilité				
				Implant	Durée (j)	Dose et type d'hormones	Période	Taux de venue en chaleur (%)	Oestrus (h)	Pic LH (h)		Gestation (%)	Agnelage (%)			
<i>Maxwell, W.M.C.</i>	1986	MM		Éponge	12	400 UI PMSG	Au retrait	96,0	24-48		60	60,0				
				CIDR								54,0				
<i>vanReenen, G.M.</i>	1990	MM	250	CIDR	13			89,0					76,0			
<i>Fukui, Y.</i>	1993a	SU	91	CIDR	9	600 UI PMSG	24h avant retrait				44-52		58,1			
													59,4			
			83	Éponge									67,9			
													51,7			
													66,7			
44,4																
<i>Fukui, Y.</i>	1993b	SU	22	MAP	9	600 UI PMSG	24h avant retrait					18		59,1		
			24									36		66,7		
			25									48		52,0		
			26									60		46,2		
			21	CIDR	9	600 UI PMSG	24h avant retrait							18		47,6
			24											36		33,3
			23											48		73,9
			22											60		40,9
<i>Fukui, Y.</i>	1994	SU	33	CIDR	6	600 UI PMSG	24h avant retrait				42-50		78,8	66,7		
			34				9						18-24	85,3	76,5	
			34				12							91,2	85,3	

¹ CL : Columbia ; HA : Hampshire; MM : Merino; MO : Montdale ; SO : Southdown ; SU : Suffolk; XX : croisée.

Référence	Année de parution	Race ¹	n	Synchronisation							IA (h après retrait)	Fertilité	
				Implant	Durée (j)	Dose et type d'hormones	Période	Taux de venue en chaleur (%)	Oestrus (h)	Pic LH (h)		Gestation (%)	Agnelage (%)
<i>Hill, J.R.</i>	1998	MM	28447	MAP	12-15						48-58	64,6	
				FGA								74,7	
				FGA								72,1	
				CIDR								46-54	71,7
<i>Fukui, Y.</i>	1999	SU XX		MAP	12	500 UI eCG	24h avant retrait	100,0	27,3	33	44-52		45,0
				FGA				91,0	31,2	24,7			41,5
				CIDR				100,0	21,8	19			57,9
				Éponge				91,0	22,8	34			39,5
<i>Ishida, N.</i>	1999	SU	34	CIDR	12	500 UI eCG/ 100µg GnRH	24h avant retrait/ au retrait				44-54	55,9	51,5
			34			500 UI eCG/ 500UI hCG						61,8	59,4
			34			500 UI eCG/ sln saline						67,6	63,6
<i>Fukui, Y.</i>	2000	SU XX	44	CIDR	12	500 UI PMSG	24h avant retrait				42-45	72,7	65,9
			43			500 UI PMSG/ 100 mg BST	24h avant retrait/ 13 j après retrait					65,1	51,2

¹ CL : Columbia ; HA : Hampshire; MM : Merino; MO : Montadale ; SO : Southdown ; SU : Suffolk; XX : croisée.

Référence	Année de parution	Race ¹	n	Synchronisation							IA (h après retrait)	Fertilité		
				Implant	Durée (j)	Dose et type d'hormones	Période	Taux de venue en chaleur (%)	Oestrus (h)	Pic LH (h)		Gestation (%)	Agelage (%)	
<i>Fukui, Y.</i>	2001	SU SO	31	CIDR	12	500 UI eCG/ 100 UI hCG	24h avant retrait				45-51	64,5	37,9	
			29			500 UI eCG/ 300 UI hCG						69	55,2	
			28			500 UI eCG						65,4	54,2	
<i>Fukui, Y.</i>	2002	SU XX	122	CIDR	12	500 UI eCG	24h avant retrait				44-52		68,4	
													59,5	
<i>Fukui, Y.</i>	2007	SU XX	30	CIDR	12	500 UI eCG	24h avant retrait				43-47	66,7	66,7	
			30										65,5	62,1
<i>Luther, J.S.</i>	2007	HA CL SU	10	CIDR	12	400 UI eCG	Au retrait	90,0			54-60	80		
			9			Pas eCG		100,0				44,4		
			9			400 UI eCG		75,0				66,7		
			8			FGA		100,0				37,5		
		HA MO	32	Norgestomet	14		eCG au retrait/ GnRH 36h après retrait	93,8				53,1		
			30			400 UI eCG		86,7				70		
			34			400 UI eCG/ 25µg GnRH		94,1				55,9		
			33			25µg GnRH		75,8				51,5		
<i>Hiwasa, M.</i>	2009	SU XX		CIDR	12	500 UI eCG	24h avant retrait				40-43	72,2		
<i>Fukui, Y.</i>	2010	SU	33	CIDR	12	500 UI eCG	24h avant retrait				40-49	63,6	60,6	
			33										39,4	36,4
			34										70,6	70,6

¹ CL : Columbia ; HA : Hampshire; MM : Merino; MO : Montadale ; SO : Southdown ; SU : Suffolk; XX : croisée.

Annexe B.

Fréquences cumulatives de l'induction des chaleurs 27 h suite au retrait des CIDR lors de l'année 1 (essais A1, B, C1)

La détection des chaleurs de l'année 1 (A1, B, C1, D) de l'étude a débuté à 15 du retrait du CIDR. Étant donné que la méthodologie a été modifiée à l'année 2, ces données n'ont pas été analysées dans le cadre de la répartition des chaleurs puisqu'elles étaient biaisées par l'heure d'introduction des béliers qui était trop tardive. Elles demeurent toutefois un bon indicatif sur l'efficacité des traitements de synchronisation. Les données du traitement Témoin ont été retirées des graphiques, ainsi que les données de la bergerie D, puisque la détection des chaleurs a été effectuée à l'aide d'un seul bélier, résultant en un décalage des heures de venue en chaleur.

