

Les facteurs nutritionnels *antepartum* sont associés à l'infertilité / infécondité dans les élevages bovins laitiers : exemple de l'île de la Réunion

TILLARD E. (1), HUMBLLOT P. (2), LECOMTE P. (3), BOCQUIER F. (4)

(1) CIRAD, UMR élevage des ruminants en régions chaudes, ligne Paradis, 97410 St-Pierre, La Réunion

(2) UNCEIA, 13 rue Jouet, BP65, 94703, Maisons-Alfort

(3) CIRAD, UR systèmes d'élevage et produits animaux, 97410 St-Pierre, La Réunion

(4) SUPAGRO MONTPELLIER, 2 place Viala, 34060 Montpellier cedex 1

RESUME – Un suivi individuel a été mené sur deux années dans vingt et un élevages laitiers de l'île de la Réunion afin d'identifier les facteurs nutritionnels et sanitaires associés à l'infertilité / infécondité. Nous traitons ici de l'influence des facteurs mesurés avant vêlage. Pour évaluer le statut nutritionnel individuel *antepartum*, l'état corporel et les concentrations sanguines des principaux paramètres biochimiques sanguins des métabolismes énergétique, azoté, hépatique et minéral (glucose, insuline, cholestérol, AGNE, β -hydroxybutyrate, urée, albumine, GLDH, GGT, calcium, phosphore et magnésium) ont été mesurés pour chaque femelle multipare de race Holstein durant le mois suivant le tarissement. Une glycémie basse avant vêlage (inférieure à 3,6 mmol / l) est associée à une diminution de la réussite de l'I1 chez les vaches hautes productrices (production lors de la lactation antérieure supérieure à 8 000 kg / 305 jours). Elle est également associée à une insulïnémie et une cholestérolémie basses ($p < 0,05$) qui semblent indiquer un état de déficit énergétique *antepartum*. Une diminution de la disponibilité de certains nutriments énergétiques comme le glucose ou de l'insulïnémie en fin de gestation et en tout début de lactation pourrait être directement impliquée dans la baisse de fertilité observée. De même, une urémie faible ($< 4,5$ mmol / l) avant vêlage est associée à un allongement de l'intervalle vêlage – insémination première. Cette valeur est révélatrice d'un déficit azoté alimentaire, en relation avec la consommation de certaines graminées fourragères tropicales (canne fourragère - *Pennisetum purpureum* ou de canne à sucre - *Saccharum officinarum*). Inversement, l'augmentation conjointe des concentrations *antepartum* d'urée et du β OH est associée à une réduction de la fertilité. Cette association, non liée à un quelconque déficit énergétique, est probablement la conséquence de l'ingestion d'une quantité élevée d'azote non protéique (ammoniac) ou de dérivés aminés (produits terminaux du catabolisme azoté) suite à la consommation d'ensilage d'herbe altéré par des fermentations clostridiennes importantes. Cette étude montre que, pendant la période tarissement – vêlage, certaines pratiques alimentaires peuvent, par elles-mêmes, affecter la reproduction ultérieure des vaches.

Precalving nutritional factors associated with infertility in dairy cows on the Reunion Island

TILLARD E. (1), HUMBLLOT P. (2), LECOMTE P. (3), BOCQUIER F. (4)

(1) CIRAD, UMR Elevage des ruminants en régions chaudes, ligne Paradis, 97410 St-Pierre, La Réunion

SUMMARY – Nutritional and health factors associated with infertility in multiparous Holstein dairy cows were studied throughout a 2 year survey from 21 herds on the Reunion Island. For assessing precalving nutritional imbalances, body condition score and blood metabolites associated with energy, nitrogen, hepatic and mineral status (glucose, insulin, cholesterol, NEFA, β -OH, urea, albumin, GLDH, GGT, Ca, P, Mg) were measured once within 30 d following drying-off. A low precalving glucose concentration (less than 3.6 mmol / L) was associated with a decrease in first service conception risk (FSCR) in high-producing cows (*i.e.* those with a milk yield observed during the previous lactation greater than 8,000 kg). The association with low concentrations of insulin and cholesterol seems to reflect a negative energy balance in the drying-off period that could result in a decrease during early lactation of some energy nutrients like glucose or insulin that are known to be potentially involved in postpartum follicle development and resumption of ovarian cyclicity. Additionally, a low precalving urea concentration (less than 4.5 mmol / L) was associated with an increase in calving to first service interval in the subsequent lactation, probably in relation with a poor nitrogen diet due to intake of tropical forages like sugar cane (*Saccharum officinarum*) or Elephant grass (*Pennisetum purpureum*). Conversely, cows with combined high urea and β OH concentrations at calving had a low first service conception risk. Since high prepartum blood β OH concentration could not be linked to negative energy balance, it was hypothesized that combined high urea and β OH concentrations could be the result of spoiled silage intake that have undergone poor fermentations (*eg.* clostridial fermentation) and are usually characterized by high butyric acid and high ammonia and soluble non-proteic nitrogen content. These results show that inadequate dry/pre-partum cow nutrition may result in a substantial decrease in reproductive performance.

INTRODUCTION

Cette étude a été menée à la Réunion pour identifier les facteurs nutritionnels associés à l'infertilité / infécondité des vaches laitières durant la phase de tarissement. Peu d'éleveurs portent une attention particulière à cette phase du cycle de production. Pourtant, plusieurs travaux ont montré qu'une alimentation énergétique ou protéique *antepartum* inadéquate ou qu'un état corporel au vêlage excessif ou insuffisant pouvaient avoir des effets différés indésirables sur la reproduction (Holtenius *et al.*, 2003, Markusfel *et al.*, 1997, Van Saun *et al.*, 1993). L'objectif de cette étude est d'identifier les facteurs nutritionnels *antepartum* ayant un

impact potentiel sur le taux de réussite de l'insémination première (**TRI1**) et sur les intervalles vêlage - insémination première (**VI1**) et vêlage - insémination fécondante (**VI1f**).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. COLLECTE DES DONNEES

Vingt et une exploitations laitières (14 % de la population des éleveurs laitiers) ont été suivies entre juillet 1999 et août 2001. La taille moyenne des exploitations était de quarante et une têtes (15 - 88) et leur niveau moyen de production s'élevait à 6 400 kg par lactation de 305 jours. Des visites bihebdomadaires ont permis d'enregistrer les événements

démographiques (mouvements, reproduction) et de planifier les mesures d'état corporel et les prélèvements sanguins nécessaires à la caractérisation du statut nutritionnel antepartum individuel. Seules les vaches multipares de race Holstein ont été incorporées dans cette étude.

1.2. LES PARAMETRES NUTRITIONNELS

1.2.1. Etat corporel

Une notation de l'état corporel a été effectuée (grille variant de 0 à 5, par demi-points) dans les 30 jours suivant le tarissement. Compte tenu des variations limitées de l'état corporel durant la phase de tarissement, cette notation a été utilisée pour estimer la note au vêlage. La durée moyenne du tarissement était de 61 jours ($\pm 1,3$).

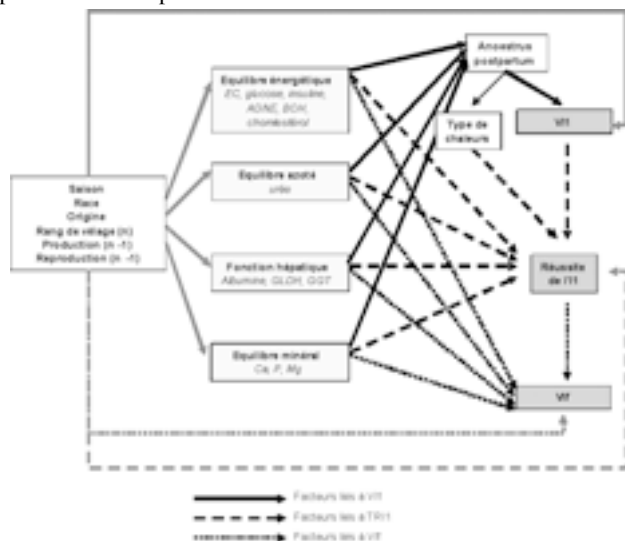
1.2.2. Métabolites sanguins

Un prélèvement sanguin a également été effectué systématiquement dans le mois suivant le tarissement. Les analyses ont porté sur différents paramètres du métabolisme énergétique (glucose, insuline, acides gras non estérifiés (AGNE), betahydroxybutyrate (β OH), cholestérol), azoté (urée), hépatique (albumine, glutamate déshydrogénase – GLDH), et minéral (calcium, phosphore et magnésium). Les dosages ont été réalisés par voie enzymatique avec à un spectromètre automate multi analyseur. L'insuline a été dosée par *Radio-Immuno-Assay*. L'objectif de ces dosages était d'évaluer le niveau moyen des paramètres biochimiques sanguins pendant la période de tarissement.

1.3. LE SCHEMA DE CAUSALITE

La saison (saison sèche vs. saison des pluies), la race (Holstein vs. croisée Holstein), l'origine (élevée dans la ferme, élevée en *feedlot*, importée), le rang de vêlage (rang = 2 vs. rang > 2), la production et la reproduction de la lactation antérieure sont systématiquement incorporés aux modèles comme facteurs de confusion (figure. 1).

Figure 1 : Représentation des relations entre les variables explicatives (facteurs nutritionnels, facteurs de confusion) et les paramètres de reproduction.



1.4. LES ANALYSES STATISTIQUES

Les facteurs associés à la réussite de l'II ont été analysés par régression logistique. L'II est considérée comme réussie si elle est suivie d'un vêlage ou d'une gestation avancée (> 3 mois). Quatre cent soixante-treize lactations démarrant par un vêlage à terme, présentant une II comprise entre le

30^{ème} et le 200^{ème} jour de lactation et sans données manquantes pour les paramètres nutritionnels ont été utilisées. Le type de chaleur et l'intervalle VII ont été forcés dans le modèle afin d'évaluer l'effet direct du statut nutritionnel sur la réussite de l'II. Les facteurs associés aux intervalles VII et VI ont été analysés avec le modèle de Cox (analyse de survie) afin de prendre en compte les données censurées, *i.e.* les lactations sans enregistrement d'II ou d'If (animaux morts, réformés ou sortis du suivi sans avoir reçu d'II ou d'If). Un total de 481 et 468 lactations démarrant par un vêlage à terme, d'une durée supérieure à trente jours et sans données manquantes pour les paramètres nutritionnels a été utilisé, respectivement pour l'analyse des intervalles VII et VI. Pour l'analyse des intervalles VII, les lactations avec II réalisée sur chaleurs induites ont été éliminées afin que l'intervalle VII soit un meilleur reflet de la durée de l'*anoestrus postpartum*. Par ailleurs, l'analyse des intervalles VI a été restreinte aux seuls animaux ayant reçu une II pour limiter les biais liés aux animaux non remis à la reproduction et dont la réforme est différée en fin de lactation. Un effet « troupeau » aléatoire a été incorporé dans tous les modèles afin d'augmenter la qualité des inférences statistiques sur les effets fixes.

2. RESULTATS

2.1. FACTEURS ASSOCIES À TRII

Une glycémie basse avant vêlage (< 3,6 mmol/l) est associée à une diminution du TRII chez les vaches hautes productrices (production de la lactation antérieure > 8 000 kg / 305 jours) (tableau 1, figure 2). L'hypoglycémie est également associée à une concentration basse de l'insuline et du cholestérol et une concentration plus élevée des AGNE (tableau 2).

Tableau 1 : Estimation des *odds ratio* (OR), de leur intervalle de confiance (95 %), et des probabilités de réussite de l'II prédites

Covariables	Modalités	Odds ratio	Int. de confiance de l'OR	P	Valeurs prédites De TRII
Moyenne		-	-	0,039	0,411
VII	≤ 60 jours	0,442	0,271 : 0,722	0,001	0,236
PLA305	> 8000 kg	0,437	0,230 : 0,831	0,013	0,234
Chaleurs	Induites	0,427	0,195 : 0,935	0,035	0,230
Glucose	(continue)	1,152	0,694 : 1,913	0,588	0,405 - 0,422
β OH	(continue)	2,214	1,004 : 4,879	0,051	0,355 - 0,459
Urée	> 4,5 mmol / l	0,672	0,435 : 1,036	0,075	0,319
Calcium	(continue)	2,235	0,780 : 7,083	0,133	0,385 - 0,433
PLA305 * Glucose	PLA305 : > 8000 kg	1,857	0,531 : 6,498	0,041	0,188 - 0,338
Urée * β OH	Urée: > 4,5 mmol / l	0,112	0,031 : 0,405	0,003	0,387 - 0,269
Troupeau (σ^2_{ij})				0,456	

Tableau 2 : Etat corporel et concentrations des métabolites énergétiques au vêlage pour différents niveaux de la glycémie au vêlage chez les vaches présentant une production laitière antérieure > 8 000 kg

	glucose au vêlage (mmol / l)		
	≤3,4	3,4 – 3,7	>3,7
Nb lactations	48	28	26
NEC (0 – 5 pts)	3,27	3,29	3,37
Insuline (μ UI / ml)	14,21 ^a	14,38 ^a	20,27 ^b
AGNE (mmol / l)	0,27	0,25	0,19
Cholestérol (mmol / l)	3,61 ^a	3,75 ^a	4,57 ^b

Pour chaque paramètre, des lettres différentes en indice signent une différence significative ($p < 0,05$)

L'augmentation conjointe des concentrations *antepartum* d'urée et du β OH est également associée à une réduction de la fertilité (tableau 1, figure 3). Le TRII décroît de 39 à 27 %

lorsque la concentration du β OH avant vêlage passe de 0,40 à 0,69 mmol / l (1^{er} et 3^{ème} quartile) chez les animaux présentant une urémie élevée. L'augmentation de la concentration *prepartum* du β OH semble s'accompagner d'un effet sur la réussite de l'I1 diamétralement opposé selon le niveau d'urémie de la vache : une concentration croissante du β OH améliore la réussite de l'I1 ($p = 0,051$) lorsque l'urémie est $\leq 4,5$ mmol / l et la pénalise ($p < 0,05$) lorsque l'urémie est $> 4,5$ mmol / l.

Figure 2 : Effet de la glycémie et de la production laitière antérieure (PLA305) sur la réussite de l'I1

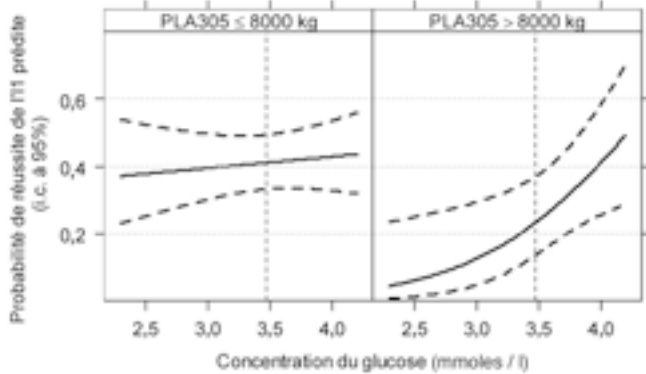
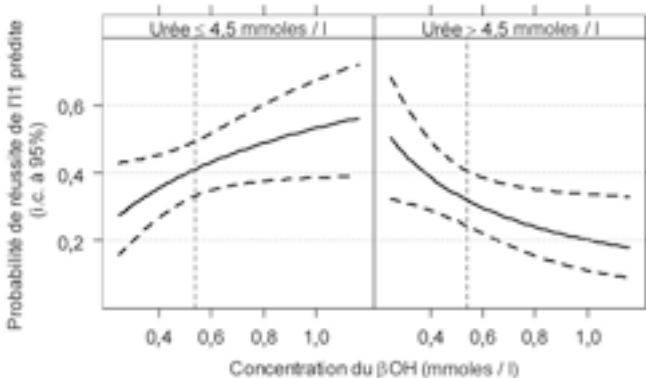


Figure 3 : Effet des concentrations du β OH et de l'urée sur la réussite de l'I1



En revanche, rien n'indique dans les paramètres métaboliques mesurés avant vêlage qu'un niveau élevé de β OH chez les animaux présentant une urémie élevée soit en relation avec un déficit énergétique *antepartum* (tableau 3).

Tableau 3 : Etat corporel et concentrations des métabolites énergétiques au vêlage pour différentes concentrations du β OH au vêlage chez les vaches présentant une urémie $> 4,5$ mmol / l

	β OH au vêlage (mmol / l)		
	$\leq 4,5$	0,45 - 0,63	$> 0,63$
Nb lactations	68	67	72
NEC (0 - 5 pts)	3,23	3,45	3,22
Glucose (mmol / l)	3,48	3,57	3,40
Insuline (μ UI / ml)	14,91	14,86	17,30
AGNE (mmol / l)	0,22	0,21	0,27
Cholestérol (mmol / l)	3,71	3,58	3,56

2.1. FACTEURS ASSOCIES À VII ET VIF

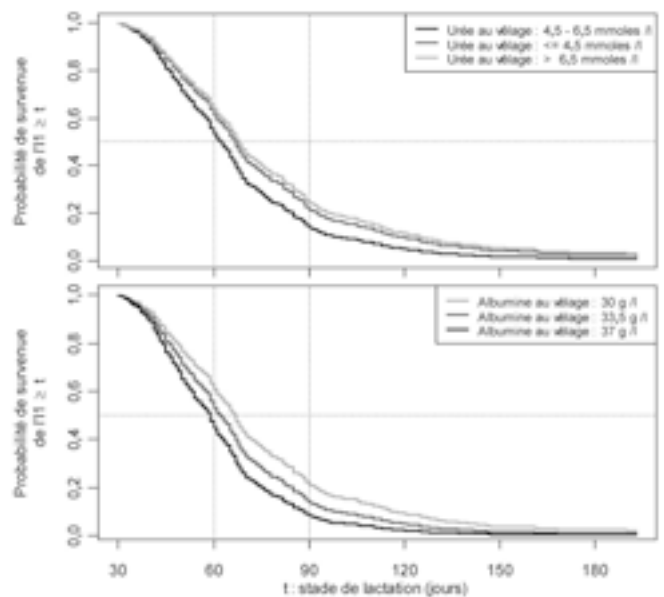
Une urémie faible ($< 4,5$ mmol / l) avant vêlage est associée à un allongement de l'intervalle VII (tableau 4, figure 4). Une urémie élevée ($> 6,5$ mmol / l) a tendance à allonger l'intervalle VII, mais l'association n'est pas significative ($p = 0,07$). L'urémie n'est pas liée de façon marquée aux paramètres énergétiques. Elle représente donc

un indicateur du niveau de couverture des besoins protéiques avant vêlage. Une albuminémie basse avant vêlage est également associée à un allongement de VII (tableau 4, figure 4). Cependant, l'absence de relation entre le niveau de l'albumine et l'urée ou la GLDH *antepartum* ne semble pas indiquer d'association claire entre l'albuminémie et le statut nutritionnel azoté ou le fonctionnement hépatique. Aucun paramètre nutritionnel n'a montré d'association significative avec l'intervalle VIF.

Tableau 4 : Estimation des risques relatifs (HR), de leur intervalle de confiance (95 %), des probabilités prédites de survie de l'I1 après 60 jours (PI1-60) et après 90 jours (PI1-90) et du stade de lactation (SII-50 en jours) pour lequel il existe une I1 dans 50 % des lactations

Covariables	Modalités	HR	I.C. de HR	P	Valeurs prédites		
					PI1-60 (%)	PI1-90 (%)	SII-50 (j)
Moyenne					53	14	62
Origine	SICALAIT	0,744	0,575-0,964	0,025	63	23	67
	Importée	0,798	0,584-1,090	0,157	60	21	66
VII antérieur (continue - jour)	$\leq 0,4$ mmol / l	0,993	0,990-0,997	$< 0,001$	52 - 60	13 - 20	61 - 66
	$> 0,8$ mmol / l	1,166	0,915-1,486	0,214	48	10	59
β OH	$\leq 3,5$ mmol / l	1,114	0,809-1,535	0,507	49	11	60
	$> 3,5$ mmol / l	0,832	0,646-1,071	0,153	59	19	65
Cholestérol	$\leq 4,5$ mmol / l	0,779	0,619-0,980	0,033	61	21	66
	$> 6,5$ mmol / l	0,720	0,505-1,025	0,068	63	24	66
Urée	≤ 10 UI / l	0,794	0,640-0,986	0,037	61	21	66
	(continue - g / l)	1,070	1,025-1,117	0,002	56 - 50	17 - 11	64 - 60
Albumine	$\leq 2,5$ mmol / l	0,906	0,732-1,121	0,364	56	17	64
Troupeau (σ^2_{η})				$< 0,001$			

Figure 4 : Effet de l'urémie et de l'albuminémie *antepartum* sur la probabilité de survie de l'I1



3. DISCUSSION

3.1. DEFICIT ENERGETIQUE ET TRI1

L'hypoglycémie *antepartum* semble être associée à un déficit énergétique de la ration durant la période de tarissement. Les relations observées entre les concentrations du glucose, de l'insuline et des AGNE ne sont plus significatives après vêlage (non présentées). Ceci confirme l'effet différé de l'hypoglycémie *antepartum* sur la réussite de l'I1. Une alimentation déficitaire en énergie, pendant la période de tarissement, pourrait induire une surcharge graisseuse précoce et excessive du foie et une réduction du métabolisme hépatique, qui pourrait être impliquée dans la diminution de la fertilité (Watson *et al.*, 1984). Elle pourrait

également conduire à une diminution, en tout début de lactation, de la disponibilité de certains nutriments énergétiques comme le glucose *via* l'insuline. Or, cette dernière semble être impliquée dans le rétablissement de la cyclicité ovarienne, la sécrétion folliculaire d'oestradiol et la sensibilité de l'ovaire aux hormones gonadotropes (Butler *et al.*, 1989, Jorritsma *et al.*, 2003). Les premières vagues folliculaires commencent leur développement très tôt dans la lactation, voire même avant vêlage (Britt, 1992). Un déficit énergétique *antepartum* pourrait alors également altérer la qualité des ovocytes au cours des premiers stades du développement folliculaire et affecter l'ovulation ultérieure. Les vaches fortes laitières seraient particulièrement sensibles à un tel déficit énergétique compte tenu de leur aptitude supérieure à mobiliser leur réserves corporelles après vêlage.

3.2. EXCES D'UREE ET DE β OH ET TRII

L'augmentation conjointe des concentrations *antepartum* d'urée et du β OH est associée à une réduction de la fertilité. Cette association, non liée à un déficit énergétique, est probablement la conséquence de l'ingestion d'une quantité élevée d'azote non protéique (ammoniac) ou de dérivés aminés (produits terminaux du catabolisme azoté) suite à la consommation d'ensilage d'herbe altéré par des fermentations clostridiennes excessives. A la Réunion, les fourrages sont principalement conservés sous forme d'ensilage enrubanné. L'herbe est souvent récoltée dans des conditions qui pénalisent sa valeur alimentaire (pluies et humidité, temps de préfanage insuffisant, stade de maturation tardif) et qui conduisent à des fourrages présentant un taux de matière sèche trop bas (< 25 %) et un niveau d'acidité trop faible, favorables au développement de flores clostridiennes indésirables. Leur taux moyen d'azote ammoniacal est généralement très élevé (13,4 %) (Barbet-Massin *et al.*, 2004). L'ingestion des composés issus de la dégradation des protéines de l'herbe pourrait entraîner une élévation du taux sanguin d'ammoniac et d'urée, dont l'impact sur la qualité des ovocytes, la fonction ovarienne et le développement embryonnaire ont déjà été rapportés (Fergusson *et al.*, 1989, Canfield *et al.*, 1990). En situation d'élevage, un effet négatif direct de l'ingestion d'ensilage d'herbe par les vaches en lactation sur le taux de réussite de l'I1, indépendamment de l'équilibre énergétique de la ration, a déjà été observé (Mc Dougall *et al.*, 1994). L'impact sur la fertilité serait lié à une dégradation de l'azote protéique de l'herbe associée à une augmentation dans la circulation sanguine des produits du catabolisme protéique tel que l'urée, qui pourrait affecter les premières phases du développement folliculaire avec des conséquences différées de plusieurs semaines sur la reproduction. Par ailleurs, l'acide butyrique d'origine alimentaire est converti en β OH dans le rumen et conduit à des concentrations sanguines élevées dont l'impact sur la fertilité a été décrit (Miettinen, 1990). Des endotoxines d'origine clostridienne pourraient également être mises en cause *via* un blocage de la sécrétion de LH induite par l'oestradiol (Breen *et al.*, 2004)

3.3. DEFICIT AZOTE ET VII

Une urémie faible (< 4,5 mmol / l) avant vêlage est associée à un allongement de l'intervalle VII. Cette valeur est révélatrice d'un déficit protéique alimentaire et est liée à

la consommation de graminées fourragères tropicales comme la canne fourragère (*Pennisetum Purpureum*) ou la canne à sucre (*Saccharum Officinarum*) et ses sous-produits (bagasse, paille de canne). Une sous-alimentation azotée avant vêlage, ou en tout début de lactation, diminue l'ingestion et le rendement de la digestion des aliments, qui, à leur tour peuvent pénaliser les performances globales de l'animal (production et reproduction) (Beever, 2006). Dans notre étude, il est difficile, en l'absence de données sur les quantités ingérées individuellement par les animaux, de statuer sur la relation entre déficit azoté et ingestion/digestion. L'hypoalbuminémie *antepartum* est associée à un allongement de l'intervalle VII, sans lien avec l'équilibre azoté ou l'intégrité du tissu hépatique. Elle pourrait toutefois indiquer un ralentissement du métabolisme protéique du foie et une diminution de la disponibilité des acides aminés circulant, avec un impact possible sur la synthèse des hormones gonadotropes et de la GnRH, de nature protéique.

CONCLUSION

Cette étude s'est focalisée sur les facteurs nutritionnels *antepartum* associés à l'infertilité/infécondité. D'autres facteurs extra-nutritionnels (non discutés) jouent également un rôle important comme le recours aux traitements hormonaux pour induire les premières chaleurs (tableau 1) ou le niveau des performances de reproduction de la lactation antérieure (tableau 4). Cette étude montre que, pendant la période du tarissement, certaines pratiques alimentaires peuvent, par elles-mêmes, affecter la reproduction ultérieure des vaches. En particulier, une complémentation énergétique insuffisante ou une alimentation protéique inadéquate, ainsi que la distribution d'ensilage d'herbe de médiocre qualité accroissent le risque de diminution des performances de reproduction.

- Barbet-Massin V., Grimaud P., Michon A., Thomas P., 2004.** Guide technique pour la création et la valorisation des prairies à la Réunion, CIRAD-UAFP, 97p.
- Beever D.E., 2006.** *Anim Reprod Sci*, 96, 212-226
- Breen K.M., Billings H.J., Debus N., Karsch F.J., 2004.** *Endocrinology*, 145:221-227
- Butler W.R., Smith R.D., 1989.** *J Dairy Sci*, 72, 767-783
- Canfield R.W., Sniffen C.J., Butler W.R., 1990.** *J Dairy Sci*, 73, 2342-2349
- Ferguson J.D., Chalupa W.V., 1989.** *J Dairy Sci*, 72, 746-766
- Holtenius K., Agenas S., Delavaud C., Chilliard Y., 2003.** *J Dairy Sci*, 86, 883-891
- Jorritsma R., Wensing T., Kruip T.A.M., Vos P.L., Noordhuizen J.P., 2003.** *Vet Res*, 34, 11-26
- Markusfeld O., Galon N., 1997.** *The Veterinary Record*, 141:67-72
- McDougall S., Clark D.A., Maclillan K.L., Williamson N.B., 1994.** *Proc. New Zealand Soc. of Anim. Prod.*, 54, 95-98
- Miettinen P.V.A., 1990.** *J Vet Med*, A37:417-424
- Van Saun R.J., Idleman S.C., Sniffen C.J., 1993.** *J Dairy Sci*, 76:236-244
- Watson E.D., Harwood D.J., 1984.** *Proc 10th Intern. Cong. Anim. Reprod.*, Urbana (Illinois), 409-411