

Les facteurs photopériodique et nutritionnel interagissent sur les transitions saisonnières de reproduction chez les ovins

MENASSOL J-B. (1), MALPAUX B. (1), SCARAMUZZI R. J. (1, 2)

(1) INRA, UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly, France

(2) Department of Veterinary Basic Sciences, Royal Veterinary College, Herts, UK

RESUME

Les effets de l'interaction entre facteurs photopériodique et nutritionnel (brebis bien-nourries vs. restreintes) sur la saisonnalité de la reproduction ont été étudiés chez la brebis Île-de-France, entière ou ovariectomisée et traitée à l'œstradiol ; ainsi que sur les profils saisonniers d'activité ovarienne chez la brebis Mérinos d'Arles. Un troisième essai, utilisant le même modèle nutritionnel, étudiait les effets d'implants de mélatonine posés en fin de saison d'anoestrus, sur la réponse ovarienne de brebis Île-de-France. Les saisons ovarienne et neuroendocrinienne étaient significativement plus courtes chez les brebis restreintes, essentiellement du fait de décalages dans les transitions reproductives saisonnières. La qualité de la réponse ovarienne aux implants de mélatonine était également perturbée de façon significative par le statut nutritionnel des brebis. Cette étude montre que les facteurs nutritionnel et photopériodique interagissent au niveau central et modifient l'expression naturelle ou induite des transitions saisonnières de reproduction. En conséquence, cette interaction a une implication majeure dans la maîtrise des techniques actuelles (implants de mélatonine, effet mâle...) de manipulation de la saison de reproduction.

Photoperiodic and nutritional cues interact on seasonal reproductive transitions in sheep

MENASSOL J-B. (1), MALPAUX B. (1), SCARAMUZZI R. J. (1, 2)

(1) INRA, UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly, France

SUMMARY

The interaction between photoperiod and nutritional status (well-fed vs. restricted ewes) on seasonal reproductive activities was studied in ewes of the Ile-de-France breed, kept intact or ovariectomized and estradiol-treated, as well as in intact ewes of the Merinos d'Arles breed. Using the same nutritional model, a third study analysed the quality of the response to melatonin implants, inserted in the late anoestrus season in ewes of the Île-de-France breed. Dietary restriction significantly shortened the length of breeding season, mainly by impacting seasonal reproductive transitions. Nutritional status also significantly impacted the quality of the ovarian response to melatonin implants. This study clearly shows that photoperiodic and nutritional factors interact centrally, to further modulate the natural or artificially-induced, seasonal reproductive transitions. Therefore, this interaction has major implications in the control of the techniques currently used (melatonin implants, ram effect...) to manipulate the seasonality of reproduction.

INTRODUCTION

Chez les ovins des régions tempérées, la photopériode est le principal facteur environnemental contrôlant les activités saisonnières de reproduction (Malpoux, 2006). Les autres facteurs environnementaux tels que la nutrition, influent sur les profils saisonniers de reproduction sans que les modalités d'interaction avec le message photopériodique soient clairement établies (Rosa et Bryant, 2003). Nous avons donc développé un modèle ovin d'étude de ces interactions, en maintenant des groupes de brebis dans des situations nutritionnelles contrastées (bien-nourries vs. restreintes). Trois essais, utilisant ce modèle, ont été conduits dans la même année. Le premier (essai 1), a permis d'établir les effets de l'interaction entre messages photopériodique et nutritionnel sur les profils saisonniers d'activité ovarienne de la race Île-de-France. En parallèle et afin de confirmer l'origine centrale de ces effets, nous avons suivi dans les mêmes conditions, les profils saisonniers d'activité neuroendocrinienne de brebis ovariectomisées et traitées à l'œstradiol. Dans le deuxième essai (essai 2), étaient suivis les effets de cette même interaction sur la saison d'activité ovarienne de brebis Mérinos d'Arles, une race ayant un degré de photosensibilité moindre. Enfin le troisième essai (essai 3), visait à identifier les effets de cette interaction sur la

reprise d'une activité ovarienne, induite par la pose d'implants de mélatonine en fin de saison d'anoestrus, chez la brebis Île-de-France.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. GENERALITES

Les essais se sont déroulés sur le domaine expérimental de l'INRA de Tours (48° N) en bâtiment fermé disposant d'un programme lumineux mimant la photopériode ambiante (essai 1) ou en bâtiment ouvert (essais 2 et 3). Trente-et-une (essai 1) et dix-sept (essai 3) brebis Île-de-France du troupeau expérimental de l'INRA de Tours ainsi que vingt brebis Mérinos d'Arles (essai 2) du troupeau expérimental de l'INRA de Montpellier (domaine du Merle), ont été réparties en deux groupes, équilibrés selon des critères de note d'état corporel, de poids vif et d'âge.

1.2. PROGRAMME ALIMENTAIRE

Régulièrement, les brebis étaient pesées (données non présentées) et leur note d'état corporel (NEC) évaluée sur une échelle de 0 (émaciée) à 5 (très grasse) (Russel *et al.*, 1969). Le système d'alimentation assurait un accès individuel

aux auges, limitant ainsi la compétition alimentaire. La ration consistait en un aliment complet (luzerne déshydratée, paille, mélasse) distribué en une fois.

Pour chaque groupe, les rations étaient calculées selon les recommandations de l'INRA, établies pour satisfaire les besoins d'entretien d'une brebis tarie (INRA, 2010), et ajustées en fonction du poids moyen et de la NEC médiane des brebis.

Lors des trois premiers mois du programme alimentaire, les quantités offertes étaient ajustées en vue d'obtenir un groupe avec une NEC médiane de 3,00 (brebis bien-nourries ou 'BN') et un groupe avec une NEC médiane de 1,50 (brebis restreintes ou 'R'). Pour les brebis du groupe R, cette période correspondait à une restriction énergétique (UF) de l'ordre de 40 % des besoins d'entretien tandis que la restriction protéique (PDI) était limitée à environ 70 % de ces mêmes besoins.

Une fois les objectifs de NEC atteints, l'état d'engraissement était maintenu en réajustant les rations, notamment en fonction des conditions environnementales (température, ...).

1.3. DESIGN EXPERIMENTAL

Le suivi expérimental a été réalisé 12 (essai 1), 17 (essai 2) et 6 (essai 3) mois après le commencement du programme alimentaire. Au début du suivi expérimental de l'essai 1, la moitié des animaux de chaque groupe a été ovariectomisée et traitée avec un implant sous-cutané en silastic (10 mm) contenant du 17β -œstradiol (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France).

L'essai 1 comportait alors quatre groupes, IF-BN (n = 10), IF-R (n = 9), IFovx-BN (n = 9) et IFovx-R (n = 7) ; l'essai 2, les groupes MER-BN (n = 9) et MER-R (n = 11) ; l'essai 3, les groupes IFmel-BN (n = 9) et IFmel-R (n = 8). Au début du suivi expérimental de l'essai 3, chaque brebis recevait deux implants sous-cutanés contenant 18 mg de mélatonine (Mélovine®, CEVA Santé Animale, La Ballastière, France).

1.4. PRELEVEMENTS SANGUINS ET DOSAGES

Des prélèvements sanguins bihebdomadaires au niveau de la veine jugulaire ont permis, par mesure des taux plasmatiques de progestérone et de LH, de suivre les activités ovarienne et neuroendocrinienne des brebis entières et ovariectomisées respectivement. Le sang était récolté dans des tubes héparinés (17 UI/mL; Vacutainer®, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA). Le plasma, obtenu par séparation après centrifugation (3700 g pendant 30 min à 4 °C), était stocké à -20 °C jusqu'au dosage.

1.4.1. Progestérone

La progestérone était dosée en mesures simples, dans 10 μ L de plasma, par ELISA (Canepa *et al.*, 2008). La sensibilité du dosage était en moyenne de $0,25 \pm 0,05$ ng/mL, le coefficient de variation intra-dosage variait entre 8 et 11 % et le coefficient de variation inter-dosage était de 9 %.

1.4.2. Hormone Lutéinisante

La LH était dosée en mesures simples, dans 20 μ L de plasma, par ELISA (Faure *et al.*, 2005). La sensibilité du dosage était en moyenne de $0,10 \pm 0,01$ ng/mL, le coefficient de variation intra-dosage variait entre 7 et 9 % et le coefficient de variation inter-dosage était de 8 %.

1.5. ANALYSE DES DONNEES

Les périodes d'activité ovarienne ou neuroendocrinienne étaient définies comme la durée séparant le premier du dernier échantillon dont les taux de progestérone ou de LH

étaient supérieurs à 1 ng/mL. Étaient ainsi définis le début, le milieu et la fin de la saison de reproduction. Les données ont été analysées en utilisant une ANOVA à un ou deux facteurs. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS (SPSS Inc., IBM Company Headquarters, Illinois, USA).

2. RESULTATS

2.1. NOTE D'ETAT CORPOREL

Au cours du suivi expérimental, au sein de chaque essai, les brebis du groupe BN avaient une NEC médiane (\pm interquartile) significativement plus élevée ($p < 0,01$) comparée à celle des brebis du groupe R :

- IF-BN : $3,15 \pm 0,36$ vs. IF-R : $1,75 \pm 0,42$
- IFovx-BN : $3,10 \pm 0,40$ vs. IFovx-R : $1,90 \pm 0,58$
- MER-BN : $3,00 \pm 0,36$ vs. MER-R : $1,73 \pm 0,31$
- IFmel-BN : $3,50 \pm 0,63$ vs. IFmel-R : $2,00 \pm 0,58$

Il n'y avait pas de différences significatives entre les NEC médianes d'un même groupe nutritionnel, ainsi qu'une absence d'un effet du temps sur l'évolution des NEC médianes de chaque groupe.

2.2. SAISON D'ACTIVITE OVARIENNE

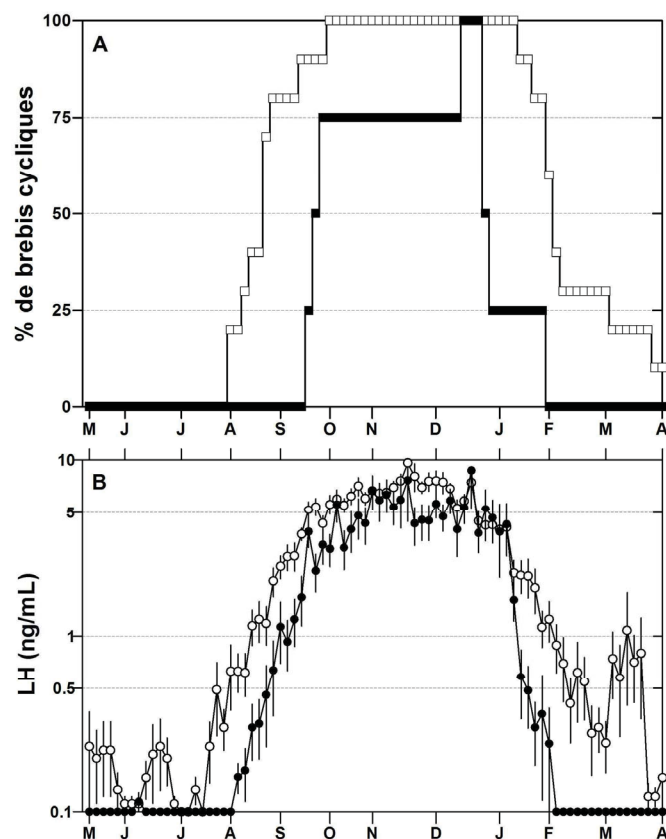
La saison d'activité ovarienne était significativement plus longue pour les brebis du groupe IF-BN comparées aux brebis du groupe IF-R (176 ± 13 vs. 81 ± 21 jours; $p < 0,01$; Figure 1 A). Pour l'essai 2, selon les critères utilisés, deux brebis du groupe BN présentaient une saison de reproduction ininterrompue (Figure 2).

De la même manière, dans cet essai, la saison d'inactivité ovarienne était plus courte pour les brebis du groupe MER-BN comparées aux brebis du groupe MER-R (81 ± 18 vs. 159 ± 18 jours ; $p < 0,01$; Figure 2).

Dans l'essai 1, cette différence était causée par un début significativement avancé et une fin significativement retardée de la saison d'inactivité ovarienne ($p < 0,01$) pour les brebis du groupe R (Figure 1 A). La même tendance ($p < 0,10$) était observée dans l'essai 2 (Figure 2).

Les dates de mi-saison d'activité ovarienne étaient comparables pour chaque groupe au sein de chaque essai (Figures 1 A et 2).

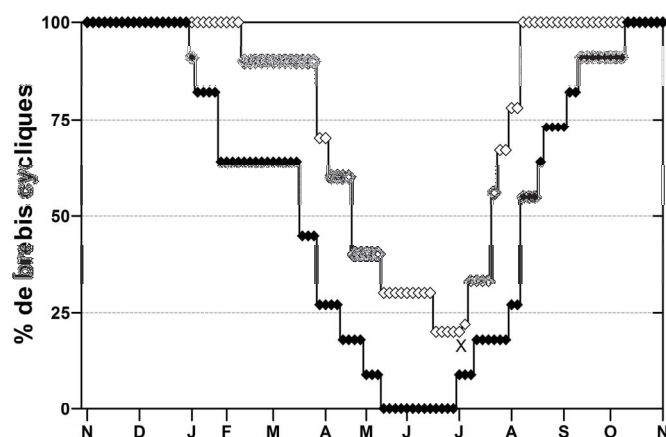
Figure 1 : essai 1. Suivi des activités ovarienne (A) et neuroendocrinienne (B) des brebis Ile-de-France des groupes BN (symboles ouverts) et R (symboles fermés). Les suivis sont exprimés en pourcentage de brebis cycliques et moyenne \pm s.e.m. des concentrations plasmatiques de LH, respectivement. Notez l'échelle logarithmique en (B).



2.3. SAISON D'ACTIVITE NEUROENDOCRINIENNE

La période de concentrations élevées de LH était significativement plus longue chez les brebis du groupe IFovx-BN comparées aux brebis du groupe IFovx-R (188 ± 10 vs. 132 ± 3 jours ; $p < 0,001$; Figure 1 B). Cette différence était causée par un début tardif et une fin précoce ($p < 0,01$) de la saison d'activité neuroendocrinienne chez les brebis du groupe IFovx-R (Figure 1 B). Pendant cette période, les deux groupes nutritionnels avaient des dates de mi-saison et des concentrations de LH plasmatiques comparables (Figure 1 B).

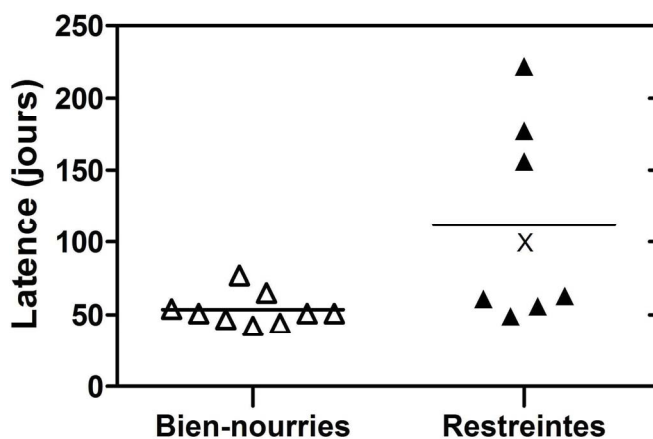
Figure 2 : essai 2. Suivi de l'activité neuroendocrinienne des brebis Mérinos d'Arles des groupes MER-BN (symboles ouverts) et MER-R (symboles fermés), exprimé en pourcentage de brebis cycliques. La croix marque la date de la mort d'une brebis du groupe BN.



2.4. IMPLANTS DE MELATONINE

Après la pose d'implants de mélatonine, l'apparition du premier cycle ovarien s'effectuait significativement plus tardivement chez les brebis du groupe IFmel-R comparées aux brebis du groupe IFmel-BN ($p < 0,05$; Figure 3). La proportion de brebis présentant un cycle ovarien dans les 100 jours suivants la pose d'implants était significativement plus élevée chez les brebis du groupe IFmel-BN comparées aux brebis du groupe IFmel-R (100 % vs. 50 % ; $p < 0,05$).

Figure 3 : essai 3. Latence, exprimée en jours, au premier cycle œstral suivant la pose d'implants de mélatonine, en fin de saison d'œstrus, chez des brebis Île-de-France. Sont représentées les latences individuelles des brebis du groupe IFmel-BN (symboles ouverts) et du groupe IFmel-R (symboles fermés), ainsi que les moyennes par groupe (barre). La croix symbolise la date de la mort d'une brebis du groupe R.



3. DISCUSSION

Les résultats de l'essai 1 identifient clairement les effets de l'interaction des messages photopériodique et nutritionnel sur la saison de reproduction de la race Île-de-France.

Ces résultats confirment ceux des études déjà réalisées chez la chèvre (Zarazaga *et al.*, 2005; Zarazaga *et al.*, 2011) et mettent en avant l'effet du facteur nutritionnel sur les transitions saisonnières de reproduction. De plus, le parallélisme entre les effets de cette interaction sur les profils saisonniers d'activité ovarienne et neuroendocrinienne, conforte l'hypothèse selon laquelle la nutrition affecterait l'activité du complexe hypothalamo-hypophysaire de façon photopériode-dépendante.

Selon les travaux de Martin *et al.* (2002), réalisés chez le bélier, le poids respectif des facteurs photopériodique et nutritionnel dans le contrôle des activités saisonnières de reproduction varie avec le degré de photosensibilité de l'espèce considérée. Les profils saisonniers d'activité ovarienne des brebis du groupe MER-BN confirment le moindre degré de saisonnalité des brebis Mérinos d'Arles, comparées aux brebis du groupe IF-BN. Toutefois, les effets de la nutrition sur les transitions saisonnières de reproduction sont de poids comparables entre les deux races.

Cette observation peut être liée aux différences de conditions expérimentales entre ces deux essais (bâtiments ouverts vs. bâtiments fermés). Toutefois, elle suggère que les mécanismes impliqués dans les effets de la nutrition sur les profils saisonniers de reproduction seraient comparables entre races de différents degrés de photosensibilité.

Le statut nutritionnel a profondément marqué la qualité de la réponse (latence et proportion) aux implants de mélatonine.

Le fait que la moitié des brebis du groupe IFmel-R n'ont pas répondu aux implants de mélatonine suggère que le signal mélatoninergique ne permettait pas de surpasser les effets inhibiteurs de la nutrition, et induire une activité ovarienne en contre-saison.

Toutefois, dès lors que l'activité ovarienne était stimulée par les implants, les réponses étaient synchronisées entre les groupes nutritionnels. Dans ce cas, on ne peut exclure un effet de synchronisation des transitions saisonnières entre groupes nutritionnels, par l'administration de mélatonine.

CONCLUSION

La nutrition a un effet majeur sur les transitions saisonnières de reproduction, induites ou naturelles, probablement en agissant sur l'interprétation du message photopériodique.

Déterminer précisément les mécanismes d'interaction entre facteurs photopériodique et nutritionnel, potentiellement communs aux différentes races de brebis, jouerait un rôle majeur dans la maîtrise des techniques actuelles de manipulation de la saison de reproduction des ovins.

Les auteurs remercient Armelle Collet et Didier Chesneau pour leur aide dans la réalisation des différents essais ainsi que le personnel de l'UEPAO et de l'hôpital-abattoir de l'UMR-PRC.

Canepa, S., Laine, A.L., Fagu, C., Flon, C., Monniaux, D. 2008. Cah. Tech. INRA, 64, 19-30.

Faure, M.O., Nicol, L., Fabre, S., Fontaine, J., Mohoric, N., McNeilly, A., Taragnat, C. 2005. J. Endocrinol., 186, 109-21.

INRA 2010. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux – Valeurs des aliments, Quae.

Malpaux, B. 2006. In Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. J. D. Neill. Birmingham, USA, Elsevier, 2231-2281.

Martin, G.B., Hotzel, M.J., Blache, D., Walkden-Brown, S.W., Blackberry, M.A., Boukhliq, R.C., Fisher, J.S., Miller, D.W. 2002. Reprod. Fertil. Dev., 14, 165-75.

Rosa, H.J.D., Bryant, M.J. 2003. Small Rum. Res., 48, 155-171.

Russel, A.J.F., Doney, J.M., Gunn, R.G. 1969. J. Agric. Sci. 72, 451-454.

Zarazaga, L., Celi, I., Guzmána, J.L., Malpaux, B. 2011. Anim. Reprod. Sci., 126, 83-90.

Zarazaga, L.A., Guzman, J.L., Dominguez, C., Perez, M.C., Prieto, R. 2005. Anim. Reprod. Sci., 87, 253-67