

Partie 1 : Innovations

Effet de la photostimulation des étalons : mythe ou réalité ?

Texte proposé par :

Daniel Guillaume – Ifce / Inra

Présentation en binôme avec :

Pascal Noue – Haras de la Hêtraie

9h30 – 10h00

Daniel Guillaume¹, Louise Grosboillot¹, Didier Chesneau¹, Frédéric De Geoffroy², Stéphanie Prevost³, Matthieu Keller¹, Gaud Dervilly-Pinel³

Avec la participation exceptionnelle de Pascal Noue⁴

1) Neuroendocrinologie des interactions et comportements sexuels, Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA, UMR85, CNRS, UMR7247, Université de Tours, IFCE, France

2) ESCE, Jumenterie du Pin, IFCE, France.

3) LABERCA, UMR INRA 1329, LUNAM, ONIRIS, France

4) Haras de la Hêtraie, Le Pont Caudel, 50680 Cerisy-la-Forêt

Introduction

L'activité reproductrice des chevaux est saisonnière, avec une période de repos sexuel pendant les jours courts. Cette saisonnalité a été nettement plus étudiée chez la jument que chez l'étalon. Chez celle-ci la durée de l'arrêt de la reproduction est fortement modulée par le niveau d'alimentation : les juments maigres présentent une inactivité ovarienne complète pendant près de 8 mois, alors que chez les juments grasses seulement la moitié d'entre elles présente cet arrêt [1]. Par ailleurs, la reprise de la cyclicité de la jument peut être avancée par une photostimulation commençant vers le jour le plus court de l'année, avec 14h30 de lumière par jour et un minimum de 10 lux [2]. Chez l'étalon, la période de repos sexuel est principalement caractérisée par une diminution de la motivation sexuelle [3]. Cependant, l'effet du traitement photostimulant sur la fonction reproductrice des étalons, en particulier sur le comportement sexuel ou le niveau de testostérone, n'est pas clairement établi. Certains auteurs ont trouvé des effets [4], d'autres pas [5]. Afin de comprendre cette apparente contradiction, les objectifs de cette étude étaient de mettre en évidence l'impact d'un traitement de photostimulation sur les concentrations des stéroïdes urinaires et sur la motivation sexuelle de l'étalon, estimée par la latence de l'éjaculation sur un mannequin sans utiliser de jument.

Matériels et méthodes

L'expérience s'est déroulée en Normandie (latitude 48.75 ° N), impliquant 10 étalons de races de sports ou de loisir ou des Trotteurs, (15.5 ± 5.13 ans, 572 ± 17.14 kg, moyenne ± SEM). Ces étalons sont normalement utilisés pour enseigner les techniques de récoltes pour l'insémination artificielle et sont donc bien conditionnés pour être collectés sur un mannequin sans l'utilisation de jument. Avant et pendant l'expérience, ils étaient logés dans la même écurie. Cette écurie était séparée en 2 parties par une porte étanche à la lumière. Cinq étalons sont restés dans la partie éclairée (lot Phot-Stim) et les 5 autres étalons ont été maintenus sous photopériode naturelle (lot Phot-Nat). Les conditions d'éclairage ont été choisies comme précédemment définies pour les juments [2]. Le traitement lumineux a commencé le 20 décembre. La lumière blanche provenant d'un néon a été allumée à 7h30 et

éteinte à 22h00 [14.5L, 9.5D]. L'intensité lumineuse, à la hauteur des yeux des chevaux était de 30 lux dans les coins et 112 lux au centre du box. L'éclairage a été maintenu jusqu'à la fin de l'expérience le 5 avril. Le comportement sexuel a été testé tous les 15 jours. Le test consistait en une collecte de sperme pour l'insémination artificielle sans jument, avec application de l'urine de jument sur le mannequin, comme cela a été préalablement validé [6]. Les vidéos obtenues lors du test comportemental ont été analysées à l'aide du logiciel BORIS® [7]. Parmi les différents paramètres analysés, seuls les latences sont présentées, temps entre l'entrée dans le hangar de monte et la réalisation de la première érection, du premier saut sur le mannequin et de l'éjaculation. Les échantillons de sang ont été prélevés à la veine jugulaire après chaque test, puis, de janvier à la fin de l'expérience, 2 fois par semaine. Les urines des étalons ont été recueillies par miction naturelle. Les échantillons de plasma et d'urine sont stockés rapidement à -20°C. La testostérone dans le plasma est mesurée par un dosage radio-immunodosage (RIA) [8]. La caractérisation d'un grand nombre de stéroïdes endogènes (n = 20) dans les urines étalons a été réalisée en utilisant une approche de stéroïdomique, selon une méthode analytique préalablement validée [9], utilisant la chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Des analyses statistiques, réalisées avec le logiciel SAS, ont été réalisées pour chaque variable, par analyse de variance selon un modèle de données répétées, sur 3 périodes préalablement identifiées: avant la photostimulation (P1: du 26 octobre au 19 décembre), une phase de transition (P2: du 20 décembre au 6 janvier) et pendant le traitement photopériodique (P3: du 7 janvier au 5 avril).

Résultats

Vingt stéroïdes ont été mesurés dans les échantillons d'urine, y compris la testostérone, ses précurseurs et ses métabolites, ainsi que les œstrogènes, la nandrolone et leurs métabolites respectifs. Onze d'entre eux ont pu être quantifiés. Malgré un effet animal important (p <0,001), le traitement par photostimulation induit une augmentation significative des concentrations urinaires de 5 stéroïdes (tableau 1). Le niveau d'estrone dans les urines bien que très élevé, n'a pas été affecté par la photostimulation. En outre, les niveaux de testostérone plasmatique ne sont pas significativement modifiés par le traitement. Pour les paramètres comportementaux, seule la latence de l'érection est significativement réduite par le traitement dans le lot photostimulé ; elle passe de 231 ± 58 s dans la période 1 à 99 ± 17 s dans la période 3. Dans le lot traité, un cheval en particulier a eu toutes ces latences considérablement réduites par la photostimulation.

Discussion

Notre travail a montré que l'impact de la photostimulation est indéniable sur les étalons. Pour les concentrations plasmatiques de testostérone, nos résultats ont confirmé les résultats antérieurs [5] mais pas les résultats plus anciens [3, 4]. Les variations des concentrations des stéroïdes (à l'origine de la testostérone ou provenant de sa dégradation) dans les urines, induites par le traitement, pour de raison de pharmacodynamie sont probablement plus facile à mettre en évidence que les variations des concentrations plasmatiques de testostérone. D'autre part, l'élimination rénale active de la testostérone et de ses métabolites entraîne une concentration dans l'urine. Les quantités totales des stéroïdes dans l'urine représentent donc leurs productions d'une miction à la miction suivante. Ces données stéroïdiennes confirment l'effet de la photostimulation sur la synthèse de différents stéroïdes sexuels. Il est classiquement accepté que la testostérone soit l'hormone qui stimule la libido. Du fait de l'augmentation de sa production, le paramètre de comportements sont modifiés. La latence de l'érection est significativement réduite par le traitement. Ce paramètre n'est pas ou peu influencé par les expérimentateurs. D'autre part l'application de l'urine de jument en œstrus sur le mannequin ayant également stimulée la motivation sexuelles des étalons [6], les temps d'attente pour le premier saut ou l'éjaculation sont très courtes et donc difficiles à améliorer.

Tableau 1: Concentrations (ng/ml) des 5 stéroïdes, quantifiées dans l'urine des étalons pour lesquels l'effet du traitement photostimulant est significatif.

stéroïdes	lots	P1	P3	effet global de l'interaction lots* périodes
androstaniol-3β17αdiol	Phot-Stim	23.7 ± 2.2 ^b	53.6 ± 6.1 ^a	p<5%
	Phot-Nat	29.1 ± 3.7 ^b	34.3 ± 3.0 ^{ab}	
androstaniol-3α17βdiol	Phot-Stim	20.4 ± 2.3 ^c	49.5 ± 5.0 ^a	p<1%
	Phot-Nat	17.2 ± 1.9 ^c	20.1 ± 2.1 ^{bc}	
estradiol-β	Phot-Stim	890.5 ± 54.3 ^b	1326.1 ± 66.4 ^a	p<5%
	Phot-Nat	631.0 ± 49.0 ^b	813.9 ± 95.8 ^b	
nandrolone	Phot-Stim	166.9 ± 11.0 ^b	282.8 ± 17.0 ^a	p<1%
	Phot-Nat	127.2 ± 11.7 ^b	160.7 ± 17.0 ^b	
norandrostenedione	Phot-Stim	983 ± 89 ^c	1735 ± 225 ^a	p<1%
	Phot-Nat	823 ± 110 ^{bc}	1190 ± 168 ^{abc}	

Comparaison de la concentration de stéroïdes urinaires entre les 2 groupes maintenus sous traitement de photostimulation (Phot-Stim) ou sous photopériode naturelle (Phot-Nat) et entre les périodes P1 et P3. Les moyennes arithmétiques ± SEM sont présentées. Lorsque la différence globale pour l'interaction entre les périodes et les groupes était significative, les concentrations sont notées avec un exposant différent suivant le test de Tukey-Kramer.

Références bibliographiques.

- [1] Salazar-Ortiz J, Camous S, Briant C, Lardic L, Chesneau D, Guillaume D. Effects of nutritional cues on the duration of the winter anovulatory phase and on associated hormone levels in adult female Welsh pony horses (*Equus caballus*). *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:130.
- [2] Guillaume D, Duchamp G, Nagy P, Palmer E. Determination of minimum light treatment required for photostimulation of winter anoestrous mares. *Journal of Reproduction and Fertility-Supplement*. 2000:205-16.
- [3] Pickett BW, Faulkner LC, Seidel GE, Jr., Berndtson WE, Voss JL. Reproductive physiology of the stallion. VI. Seminal and behavioral characteristics. *J Anim Sci*. 1976;43:617-25.
- [4] Thompson DL, Jr., Pickett BW, Berndtson WE, Voss JL, Mett TM. Reproductive physiology of the stallion. VIII. Artificial photoperiod, collection interval and seminal characteristics, sexual behavior and concentrations of LH and testosterone in serum. *J Anim Sci*. 1977;44:656-64.
- [5] Schrammel N, Deichsel K, Aurich J, Aurich C. A long-day light program accelerates seasonal coat changes but is without effect on semen and metabolic parameters in Shetland pony stallions. *Theriogenology*. 2016;85:946-53.
- [6] Guillaume D, Moussu C, De Geoffroy F, Chesneau D, Keller M. **Olfactory stimulation or inhibition of sexual behavior of stallions in non-breeding season**. *Physiology and Behavior*. 2018;in print.
- [7] Friard O, Gamba M. BORIS: A free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*. 2016;7:1327-30.
- [8] Hochereau-De Reviers M, Copin M, Seck M, Monet-Kuntz C, Cornu C, Fontaine I, et al. Stimulation of testosterone production by PMSG injection in the ovine male: effect of breed and age and application to males carrying or not carrying the "F" Booroola gene. *Animal Reproduction Science* 1990;23:21-32.
- [9] Kaabia Z, Dervilly-Pinel G, Popot M, Bailly-Chouriberry L, Plou P, Bonnaire Y, et al. Monitoring the endogenous steroid profile disruption in urine and blood upon nandrolone administration: An efficient and innovative strategy to screen for nandrolone abuse in entire male horses. *Drug testing and analysis*. 2014;6:376-88.