



LES HARAS NATIONAUX

Des caractéristiques de la semence des étalons à la récolte et après décongélation très répétables et héritables

Par : A. RICARD*, E. Cognard, S. Wittreck, M. Vidament***
 SAGA-INRA, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan
 Equitechnique, 61240 Le Mesnil Vicomte
 PRC, INRA, 37380 Nouzilly

Résumé

Une étude rétrospective a été réalisée sur les étalons dont le sperme a été congelé dans les Haras Nationaux et Equitechnic entre 1986 et 2002. Ont été caractérisés 14454 éjaculats produits par 503 étalons (issus de 5463 apparentés). Les mesures sont effectuées sur le sperme avant congélation : volume, concentration, nombre de spermatozoïdes et après décongélation : mobilité. Le modèle d'explication inclut : l'interaction campagne*technique de congélation (éventuelle)*centre, le mois de récolte, le temps entre 2 récoltes, l'âge de l'étalon, la race de l'étalon, l'effet de milieu commun aux différentes mesures réalisées sur un même cheval lors d'une même campagne, l'effet de milieu commun entre campagnes pour les mesures d'un même cheval, l'effet génétique et la résiduelle. Les caractéristiques de la semence fraîche sont aussi assez répétables (0.47 à 0.57) et héritables (0.17). Le taux de spermatozoïdes mobiles après décongélation est une variable indépendante des caractéristiques de la semence fraîche. Il s'est fortement amélioré depuis 1998, on atteint aujourd'hui une moyenne de 47% de mobilité contre 34% avant. La mobilité est une mesure très répétable pour un même étalon intra saison (0.60) et entre saison (0.51). L'héritabilité est assez élevée (0.27).

Mots-clés Etalon, hérabilité, congélation, caractéristiques séminales, mobilité.

Summary

A retrospective study was implemented on stallions whose semen has been frozen in 5 french national studs and in a private company (Equitechnic) from 1986 to 2000. On the ejaculates (n= 14 459) from 503 stallions (and 5463 relatives), the following characteristics have been studied : volume, concentration, number of spermatozoa of the raw ejaculate and motility after freezing-thawing. To calculate the heritability of the semen characteristics, the model includes : interaction year * freezing technique * freezing centre, month of collect, interval between 2 collects, age of stallion, breed of stallion, permanent environmental effect due to stallion in the same year and between years, additive genetic effect and residual. Criteria on raw semen are relatively repeatable (0,47 to 0,57) and heritable (0,17). The motility is not in relationship with the characteristics of the raw semen. Since 1998, motility was greatly improved : 47% vs 34% before (evolution with the time without real explanation). The motility is a very repeatable measure for a given stallion, within a year (0,60) and between years (0,51). Heritability of the motility is moderately high (0,27, $\sigma=0.05$).

Key-words : Stallion, heritability, freezing, seminal characteristics, motility

1. INTRODUCTION

La reproduction par sperme congelé possède de nombreux atouts commerciaux : facilité de déplacement géographique, meilleure gestion de la double carrière (reproduction et sport) de l'étalon. Son développement comme technique de reproduction conditionne la réussite de la reproduction d'un étalon à la capacité de congélation de son sperme. Il devient donc important de vérifier les facteurs de variation des caractéristiques de qualité spermatique et de déterminer la présence d'une éventuelle composante génétique.

2. DONNEES UTILISEES

L'étude est une étude rétrospective, réalisée sur les étalons dont le sperme a été congelé dans les Haras Nationaux entre 1986 et 2002 et chez Equitechnic de 1999 à 2002. Depuis 95, les données de congélation Haras Nationaux sont archivées régulièrement chaque année à partir du fichier du centre de contrôle au bout duquel sont saisies ou concaténées à Nouzilly toutes les données de la congélation venant des 5 centres. Depuis 1999, la congélation est informatisée chez Equitechnic et les données ont pu être facilement récupérées. Avant cette date, les données sur papier de 1986 à 1989 et certains fichiers retrouvés entre 1990 et 1994 ont pu être utilisés. La centralisation et la conservation de ces données sont les conditions nécessaires à cette étude qui n'aurait pu être réalisée expérimentalement qu'avec un investissement important de moyens. L'étude est donc le résultat d'une collaboration entre les laboratoires INRA de reproduction de Nouzilly et de génétique de Jouy en Josas, grâce au personnel des Haras Nationaux, à la collaboration de la société Equitechnic et avec l'aide des données généalogiques du SIRE.

Nous disposons ainsi des résultats de 503 étalons sur 14454 éjaculats au cours de 15 campagnes de congélation. Une campagne de congélation court d'avril de l'année $n-1$ à mars de l'année n . La majorité des données sont des mesures récentes (70% des mesures ont été recueillies entre les campagnes 1999 et 2002) et proviennent des Haras Nationaux (77%).

Ces 503 étalons sont issus de 240 pères, et on retrouve 53 de ces pères qui sont eux-mêmes parmi les étalons mesurés. L'héritabilité pourra donc être calculée non seulement en comparant les mesures de $\frac{1}{2}$ frères de même père mais aussi en comparant les couples père/fils. Afin d'augmenter l'information disponible nous avons introduit l'ensemble des relations de parenté connues entre ces 503 étalons en remontant leurs 5 463 ancêtres présents dans le fichier généalogique du SIRE.

3. MESURES DES CARACTERISTIQUES SEMINALES

Les mesures sont effectuées sur le sperme avant congélation : volume, concentration en spermatozoïdes, nombre de spermatozoïdes et après décongélation : mobilité des spermatozoïdes.

Les variables *volume*, *concentration* et *nombre de spermatozoïdes* ont des distributions très dissymétriques avec une queue de distribution étirée vers les hautes valeurs. Il est donc nécessaire, pour réaliser les études d'héritabilité de leur redonner une distribution plus normale en leur appliquant une transformation de Box-Cox :

$$z = \frac{y^t - 1}{t \cdot \bar{y}^{(t-1)}}$$

avec \bar{y} moyenne géométrique de y ($\bar{y} = \left[\prod_{i=1}^n y_i \right]^{1/n}$)

La valeur de t est choisie pour maximiser le critère de normalité de la distribution (test de KOLMOGOROV, donné par la procédure UNIVARIATE de SAS). Ce critère ainsi que le test de SKWENESS (mesure de la symétrie) et de KURTOSIS (importance des queues de distribution) ont été calculés pour différentes valeurs de t par pas de 0.05. La valeur de t choisie est de 0.15 pour le *volume*, 0.20 pour la *concentration* et 0.25 pour le *nombre de spermatozoïdes*.

La *mobilité* a été étudiée à partir des données brutes et non à partir du calcul de la congélabilité par campagne. La congélabilité correspond au taux d'éjaculats gardés par rapport aux éjaculats produits sachant qu'un éjaculat est gardé quand la proportion de spermatozoïdes mobiles est supérieure ou égale à 35%. La variable brute *mobilité* a une distribution normale car les mesures de tous les éjaculats ont été conservées, que celui-ci soit gardé ou non. C'est un point important car il est rare d'avoir l'information sur les mesures des éjaculats non gardés dont la mobilité est inférieure à 35%. Cette information exhaustive nous permet de réaliser les calculs des paramètres génétiques sans problèmes. Il est beaucoup plus facile de travailler sur une variable comme la *mobilité*, qui est normale, que sur une variable comme le *taux d'éjaculats gardés* qui est calculée sur un nombre variable de mesures, avec une répétabilité entre ces mesures et un nombre de mesure qui dépend de la mesure elle-même ce qui conduit à cette distribution étrange. De plus la *mobilité* reste un caractère stable, même si le choix du seuil de mobilité pour garder un éjaculat varie, ce qui ne serait pas le cas du *taux de gardés*.

Le tableau 1 résume les statistiques élémentaires sur les 4 variables analysées. Les données de *concentration*, *volume* et *nombre de spermatozoïdes* n'ont pas été conservées dans le fichier national pour les Haras Nationaux en 1994 et de 1998 à 2000 ce qui explique le nombre de mesures totales inférieur.

Les 503 étalons ont participé en moyenne à près de 2 campagnes de prélèvement (moyenne 1.95, 55% n'ont qu'une campagne, 20% 2 et 25% de 3 à 9). Cela représente 982 campagnes-étalons. Les étalons ont en moyenne 28.7 éjaculats analysés (de 2 à 293), soit 14.7 par campagne (1 à 127). Il y a 14454 mesures de *mobilité* et 9717 mesures de *concentration*, *volume*, *nombre de spermatozoïdes*.

4. MODELES

Les facteurs de variation identifiés sont les suivants : la campagne de prélèvement, la technique de congélation (pour la mobilité après décongélation), le centre de prélèvement, le mois de prélèvement, l'écart de temps entre 2 prélèvements, l'âge de l'étalon, la race de l'étalon, l'effet individuel de l'étalon dans une même campagne et entre campagne et la valeur génétique de cet étalon.

L'interaction entre campagne, technique et centre se révélera significative, ce qui nous amène à privilégier une combinaison de ces facteurs pour les estimer. Pour estimer correctement les différents effets, il faut qu'il y ait au mieux un croisement entre ces effets (exemple : deux techniques utilisées la même campagne dans un même centre) et au moins des étalons qui soient soumis à différentes techniques (ou campagnes ou centres). Il n'est donc pas possible de comparer les résultats d'Equitechnic et des Haras Nationaux, un seul étalon a été prélevé par les 2 établissements (124 étalons ont été prélevés par Equitechnic et 380 par les Haras Nationaux). La seule comparaison se ferait alors à partir des relations de parenté entre les étalons congelés dans des centres différents, ce qui reste limité d'un point de vue statistique. Par contre il est possible de comparer les techniques dans les Haras Nationaux car la technique 37D1/4D2 (voir définition des techniques paragraphe suivant) a servi longtemps de référence puis la technique 37D1/22D2 qui est toujours utilisée en parallèle avec les autres techniques. Là encore c'est un atout de ces données que de pouvoir réaliser ces comparaisons grâce à un protocole adapté.

Les campagnes varient de 1986 à 2002 (sans 1988 et 1993), 1/3 des données ont été recueillies avant 1999 (de 100 à 800 données par an en moyenne), environ 2 500 mesures sont disponibles ensuite chaque campagne de 1999 à 2002.

Les techniques sont définies par la température à la première dilution, le dilueur de la première dilution, la température et le dilueur à la deuxième dilution après centrifugation. On distingue pour les Haras Nationaux 7 techniques :

- 37D1/4D2 (c'est la technique de base : (Palmer 1984), D1 : INRA82 + 2% de jaune d'oeuf, D2 : INRA82 + jaune oeuf + 2.5% de glycérol), 17% des données
- 37D1/22D2, 42% des données
- 22D2/22D2, 4% des données
- 37D1/22D2Glu (le D2 contient en plus 50mM de glutamine), 6% des données

- 37INRA82/22D2Glu, 0.1% des données
- 37INRA82/22D2, 1% des données
- 37Lait/22D2, 7% des données

Ces techniques ont donc pu être comparées, à l'exception de 37INRA82/22D2Glu qui a été trop peu utilisée (8 prélèvements).

La comparaison entre Equitechnic et les Haras Nationaux n'est pas possible mais celle entre les centres des Haras Nationaux l'est (ils ont utilisé les mêmes techniques, 20% des étalons ont connu 2 centres ou plus). Six centres sont identifiés : Cluny, Hennebont, Saint Lô pour les plus importants (22% à 28% des données Haras Nationaux pour chacun) et Le Pin, Tarbes et Angers.

Mis à part pour les campagnes 1986 à 1992, le mois de prélèvement est connu. L'activité est centrée sur les mois d'octobre en janvier (80% des données). Les mois de juin, juillet, août ont été regroupés.

On ne peut être certain de l'écart de temps entre 2 prélèvements si jamais certains prélèvements ne sont pas mesurés mais l'effet a été conservé en l'état pour tester son opportunité dans ces conditions de mesure. Il demeure inconnu pour les campagnes 1986 à 1992. L'écart en temps entre l'observation mesurée et la précédente est en général de 1 à 7 jours pour les prélèvements d'une même campagne, les cas les plus fréquents sont 2 à 3 jours (73% des cas). Les écarts au-delà de 7 jours ont été regroupés par tranche : 2 semaines (8-14 jours), 1 mois (15-30 jours), 6 mois (31-150 jours), 1 année (151-510 jours), plus d'une année (>510 jours).

L'âge de l'étalon varie de 4 à 25 ans, moyenne 10 ans 1/2. Les âges 10/11 ans, 12/13 ans, 14/15/16 ans et 17 ans et plus ont été regroupés. Les données sont étalées dans toutes les catégories.

La race la plus fréquente est le Selle français (327 étalons, 71% des données). Il y a 5 pur-sang, 17 Trotteurs français, 36 Arabes, 72 Anglo-Arabes, 12 Selle Etrangers et 34 autres étalons, principalement des poneys. En plus des effets identifiés du milieu, il faut tenir compte d'un effet de milieu commun aux différentes mesures d'un même cheval. Nous avons distingué un effet commun aux mesures d'une même campagne et un effet commun sur toutes les campagnes afin de prendre en compte la ressemblance sans doute plus importante entre 2 prélèvements d'une même campagne et ceux de 2 campagnes différentes pour un même cheval.

L'effet génétique additif est identifié par le cheval et mis en relation avec les autres effets génétiques par l'intermédiaire de la matrice de parenté. Les covariances entre effets génétiques d'individus apparentés sont déterminées par leur relation de parenté.

Le modèle final est donc :

Mesure = Campagne*technique*centre de prélèvement
 + Mois de prélèvement
 + Temps entre prélèvements
 + Age
 + Race
 + Effet de milieu commun aux mesures d'une même campagne d'un même cheval
 + Effet de milieu commun aux mesures d'un même cheval entre campagne
 + Effet génétique additif
 + Résiduelle.

Les effets de milieu commun et les effets génétiques sont des effets aléatoires (on estime une variance). Les effets génétiques sont corrélés entre eux selon les apparentements. Pour calculer ces apparentements entre les 503 étalons, nous avons remonté l'ensemble des pedigrees de ces chevaux disponibles au SIRE ce qui représente 5463 chevaux.

5. RESULTATS ET DISCUSSION : ESTIMATION DES EFFETS DU MILIEU

5.1. Relations Phénotypiques entre variables

Les corrélations phénotypiques ont été calculées à partir des variables transformées pour la *concentration*, le *volume* et le *nombre de spermatozoïdes*. Elles sont calculées sur les résiduelles du modèle précédent, il s'agit donc des corrélations obtenues en dehors des effets conjoints des facteurs identifiés sur chacune des variables. Elles portent sur 9 717 données et sont toutes significativement différentes des 0. Il y a une opposition entre volume et concentration ($r = -0.57$) alors que les 2 variables contribuent conjointement, avec un avantage au volume, au nombre de spermatozoïde total : corrélation de 0.58 avec le volume, 0.32 avec la concentration. Par contre les corrélations avec la mobilité après décongélation sont proches de 0 : -0.04 avec le volume, 0.00 avec la concentration et -0.05 avec le nombre de spermatozoïdes. Cela fait que même si la régression de la mobilité après décongélation sur les 3 variables mesurées avant décongélation est légèrement significative (test de signification < 10%), la proportion de variance expliquée est extrêmement faible ($r^2 = 0.003$). La pente de cette régression est négative sur le nombre de spermatozoïdes par éjaculat et 1 écart type de plus de spermatozoïde n'engendre qu'1/20 d'écart-type de points de mobilité en moins.

La relation négative entre concentration et volume est classique (Pattie et al. 1982, Palmer et al. 1984). L'intérêt de cette étude est de montrer sur une très grande série la quasi-absence de relation de : volume, concentration et nombre de spermatozoïdes avec la mobilité post-décongélation, ce qui contredit les conclusions de Bittmar et al. (1992) qui accordent de l'importance à la concentration initiale sur les résultats de congélation. Dans notre étude, ce manque de relation est peut être dû au fait que les étalons de ce fichier sont en principe sélectionnés sur leur semence avant la congélation.

5.2. Volume, Concentration et Nombre de Spermatozoïdes

Tous les effets sont significatifs.

Le *volume* baisse au cours des campagnes successives pendant que la *concentration* augmente ce qui entraîne une stabilité du *nombre de spermatozoïdes*. La baisse du *volume* sur les 15 ans est d'environ 1/2 écart type (soit environ 7ml autour de la moyenne compte tenu des transformations de variables), l'augmentation de la concentration de 0.4 écart-type (soit +45 millions de spermatozoïdes/ml). Intra Haras Nationaux, il y a peu de différences entre centres. L'effet du mois de prélèvement semble défavorable pour les mois de juin, juillet, août en terme de *volume* et *nombre de spermatozoïdes* mais cela concerne très peu de données (1%) et uniquement chez Equitechnic. L'effet de l'écart de temps entre prélèvement montre une augmentation du *volume* et de la *concentration*, donc du *nombre de spermatozoïdes* au fur et à mesure que l'écart entre prélèvements augmente (1/2 écart type entre les extrêmes). Le *nombre de spermatozoïdes* augmente avec l'âge de l'étalon grâce à une augmentation du *volume* produit mais il semble y avoir un fléchissement après 17 ans. L'effet est d'environ 0.4 écart-type. L'effet de la race est marqué par une baisse du *nombre de spermatozoïdes* chez les Trotteurs Français et les Arabes comparés aux races de selle (Selle Français et Anglo-Arabs) due à un plus faible *volume* malgré une plus forte *concentration*. Le pur-sang est au niveau des races de selle en terme de *nombre de spermatozoïdes* mais avec un plus fort *volume* et une *plus faible concentration*, différence qui existe aussi dans le même sens entre le Selle Français (*volume* plus élevé et *concentration* plus faible) et l'Anglo-Arabe sans que le nombre de spermatozoïdes soit affecté.

La hausse de concentration observée sur les 15 années de l'étude, à nombre de spermatozoïdes constants, pourrait provenir d'une amélioration de la qualité de la semence du fait de son importance grandissante dans la valeur d'un étalon de sport. L'augmentation du poids des testicules donc du nombre de spermatozoïdes avec l'âge est classiquement décrite jusqu'à 12 ans voire 15 ans puis les testicules régressent (Clément et al., 1992). Les comparaisons entre races françaises dans les différentes études donnent souvent des résultats contradictoires.

5.3. Mobilité

L'effet de la race n'est pas significatif (dès lors qu'on tient compte de la répétabilité des mesures pour un même étalon). L'effet de l'âge est juste significatif (test de signification 7%), les autres effets sont très significatifs (1%).

Les effets campagne, technique et centre ont été estimés pour chaque combinaison. Mais il est vrai que les héritabilités sont peu différentes selon que l'on tienne compte de ces interactions ou si on utilise un modèle additif campagne+centre+technique. Pour simplifier l'interprétation des effets, il est donc plus facile de les présenter séparément. La figure II donne l'ensemble des résultats. On constate que l'effet de la technique seule n'est pas aussi important que l'évolution positive des moyennes dans le temps (+15 points en moyenne entre 1986 et 2002) ne le laissait présager. En effet, les campagnes pendant lesquelles les techniques ont cohabité permettent de ne mettre en évidence une supériorité de la technique 37D1/22D2 par rapport à la technique utilisée auparavant 37D1/4D2 que de 3 points. La progression globale est plutôt due à une évolution favorable générale avec le temps, qui semble plutôt imputable à une amélioration de la technicité de façon globale mais pas d'une technique particulière. Un saut semble s'être effectué à partir de la campagne 1998 où on gagne plus de 10 points de mobilité (soit les 3/4 d'un l'écart type de la mobilité). Les techniques 22D2/22D2 et 37INRA82/22D2 apportent une amélioration à la technique actuelle de référence 37D1/22D2 (+3.2 points et 2.4 points respectivement). Les interactions entre le centre de prélèvement et la campagne sont importantes (un centre n'est donc en général meilleur qu'une certaine campagne).

Par rapport au saut quantitatif effectué en 1998 par rapport aux campagnes précédentes, les autres facteurs de variations sont bien sur plus modestes et représentent en général des écarts de 4 points de mobilité soit 1/4 d'écart type entre les valeurs extrêmes. L'effet du mois est favorable de décembre en mars et défavorable de juin à septembre (5 points d'écart). L'effet du temps entre prélèvement est favorable quand l'intervalle est de 1 ou 2 jours et défavorable au-delà de 8 jours (4 points d'écart). L'effet de l'âge de l'étalon est défavorable au-delà de 12 ans (2 points d'écart) par rapport aux chevaux de 4 à 11 ans.

Il n'a pas été trouvé d'explication dans le saut qualitatif fait en 1998 car les changements majeurs (technique de base, fabrication des dilueurs) avaient été réalisés entre 1995 et 1997. La comparaison des techniques 2 à 2, sur les mêmes données de base, a été faite après une sélection stricte des éjaculats réellement produits en alternance entre les 2 techniques pour un étalon donné (Vidament et al. 2000, 2001). C'est pourquoi les résultats déjà publiés sont un peu différents de ceux trouvés ici. L'effet favorable de l'hiver sur l'été pour la mobilité post-décongélation a déjà été démontré par Magistrini et al. (1987) (+ 5 points), qui avait aussi montré qu'il n'y avait pas de différence entre les intervalles 1 ou 2 jours entre collecte. L'effet de l'âge est très faible ici, ce qui est en contradiction avec les données de Bittmar et al (1992) dans lesquelles on relève un effet très positif de l'âge mais avec un facteur de confusion entre concentration et âge.

6. RESULTATS ET DISCUSSION : ESTIMATION DE L'HERITABILITE

Les résultats concernant l'héritabilité sont dans le tableau 2.

L'héritabilité de la *concentration* et du *nombre de spermatozoïdes* est la même : 0.17 et très proche de celle du *volume* : 0.18. La répétabilité intra campagne est la plus grande pour la *concentration* (0.57) puis le *volume* (0.51) et le *nombre de spermatozoïdes* (0.47) avec le même décalage avec la répétabilité entre campagnes (0.48, 0.41 et 0.35 respectivement). Avec des héritabilités comparables, la concentration semble très répétable pour un même étalon. Les répétabilités intra-campagne de la concentration, du volume et du nombre de spermatozoïdes (produit des 2 mesures précédentes) trouvées ici sont proches des répétabilités obtenues par les différents auteurs lors des études sur le spermogramme d'étalon où des éjaculats espacés de 24 h sont examinés (respectivement 0,45, 0,48, 0,56 pour la concentration, 0,26, 0,46, 0,46 pour le volume, et 0,37, 0,40 et 0,42 pour le nombre de spermatozoïdes) (Pattie et al., 1982, Palmer et al, 1984, Rousset et al. 1987). Par contre, la répétabilité entre années a été peu étudiée et cette étude est une des premières sur le calcul de l'héritabilité de ces mesures.

L'héritabilité de la *mobilité* est estimée à 0.27 avec un écart type d'erreur de 0.052 soit un intervalle de confiance de l'ordre de 0.17 à 0.37. La répétabilité entre 2 mesures intra campagne est de 0.60, légèrement supérieure à celle entre 2 campagnes (0.51). Il y a donc à la fois un effet génétique qui ne semble pas négligeable et un effet propre à l'étalon important. La répétabilité de la mobilité post-décongélation d'un étalon intra-campagne et entre campagne est élevée. Nous avons déjà noté une corrélation de 0,60 entre les mobilités moyennes obtenues par le même étalon sur 2 années successives (Vidament et al., 1997). Ceci suggère une composante individuelle forte. L'héritabilité relativement élevée trouvée ici montre qu'une partie de cette composante est d'origine génétique. A titre de comparaison, l'héritabilité du gain en Saut d'obstacle est de l'ordre de 0.25 avec une répétabilité de seulement 0.45.

Il a été montré chez le cheval une composante génétique dans certains paramètres de la reproduction : par exemple, les étalons porteurs de petits testicules ont des fils plus souvent porteurs de petits testicules et des filles présentant une fertilité moindre (Tunon et al., 2000). Or la taille testiculaire est en relation étroite avec le nombre de spermatozoïdes produits, caractère mesuré dans notre étude. Chez le lapin, on a pu mettre en évidence un effet hétérosis sur la concentration et le nombre total de spermatozoïdes de l'éjaculat quand on croise 2 lignées d'animaux (Brun et al., 2001).

Dans d'autres espèces, il a été démontré une part génétique dans l'aptitude du sperme à la congélation. Parmi les coqs, des lignées présentent une fertilité après congélation du sperme de plus ou moins longue durée (Ansah et al. 1982). Chez la souris, il existe des lignées présentant un sperme d'aptitude très différente à la congélation (Songsasen et al., 1997). Chez le porc, il a été mis en évidence une différence dans l'ADN de 2 groupes d'animaux dont le sperme se congelait très différemment (Thurston et al., 2000).

Le modèle utilisé permet de prédire les performances de *mobilité* avec un r^2 de 0.66. La corrélation entre la *mobilité* prédite et observée est de 0.81. Il est possible de faire le même calcul a posteriori sur le *taux d'éjaculats gardés* plutôt que sur la mobilité puisque c'est en fait la variable qui définit le rendement de la congélation. Grâce à la mobilité prédite (valeur moyenne) on peut calculer le pourcentage de cas ou la mobilité possible est supérieure à 35% (compte tenu de la valeur moyenne et de la variabilité résiduelle intra campagne et cheval qui dépend de la répétabilité). On obtient ainsi le taux prédit d'éjaculats gardés que l'on peut comparer au % de cas ou la mobilité est réellement supérieure à 35% qui est le taux mesuré. Le r^2 est de 0.88, la corrélation entre le taux prédit et observé de 0.94.

Il est possible aussi de réfléchir sur le nombre d'éjaculats nécessaire pour avoir une bonne idée de la valeur de la mobilité d'un étalon pour une campagne (Figure II) grâce à la connaissance de la répétabilité. On constate que 3 éjaculats donnent une bonne précision ($CD \geq 0.80$), cette précision est excellente à 6 éjaculats ($CD > 0.90$) et plafonne ensuite. Ceci conforte la règle actuelle appliquée dans les Haras Nationaux où après 6 à 9 éjaculats de mauvaise qualité la première année, l'étalon est présumé incongelable et est déclaré définitivement incongelable s'il produit l'année suivante à nouveau 6 éjaculats de mauvaise qualité.

Il est également possible de donner des listes des meilleures estimations génétiques des chevaux pour la mobilité (étalons mesurés ou apparentés donc même des juments...).

7. CONCLUSION

Le taux de spermatozoïdes mobiles après décongélation est une variable indépendante des caractéristiques de la semence fraîche : concentration, volume, nombre de spermatozoïdes. C'est une variable qui s'est fortement améliorée depuis 1998, on atteint aujourd'hui une moyenne de 47% de mobilité contre 34% avant ce qui permet d'espérer un taux d'éjaculats gardés ($\geq 35\%$ de mobilité) de 78% contre 47% auparavant. L'amélioration technologique globale et les changements de techniques de congélation sont responsables de ce progrès. Pour améliorer encore ces performances il faut préférer une période de congélation de décembre en mars, 1 à 2 jours d'intervalle entre prélèvement et préférer des étalons de moins de 12 ans. Cependant, en dehors de l'amélioration générale depuis 1998, l'effet majeur demeure l'effet de l'étalon lui-même : la mobilité est une mesure très répétable pour un même étalon intra campagne (0.60) et entre campagne (0.51). Un étalon « moyen » aura un taux d'éjaculat gardé de 78% quand un étalon à 1 écart type de la distribution

(15% meilleurs) en aura 98% et un étalon à moins un écart type (15% plus mauvais) 32%. Cette forte répétabilité permet aussi d'avoir rapidement une bonne estimation de la qualité d'un étalon (à partir de 3 éjaculats). D'un point de vue génétique, l'héritabilité est assez élevée (0.27) et peut permettre une sélection mais il faut alors déterminer le poids économique qu'on veut lui attribuer par rapport à la qualité sportive. Cela peut aussi être une voie de recherche pour des marqueurs moléculaires, en relation avec ce qui est aussi fait dans d'autres espèces.

REMERCIEMENTS à G. Marionneau, C. Leroy, Y. Rivallain, J.P. Jourdain, T. de Sainte Marie, E. Piednoel, J. Gerboin, J. Harel, A. Mouret-Lafage, P. Fournier, C. de Lartigue, J.M. Baradeau, P. Duchemin des centres de congélation des Haras Nationaux d'Hennebont, Le Pin, St Lô, Cluny, Tarbes et Angers.

BIBLIOGRAPHIE

- Bittmar A., Kosiniak K (1992). The role of selected biochemical components of equine seminal plasma in determining suitability for deep-freezing. *Archivum Veterinarium Polonicum*, 33 : 1-2.
- Brun J.M., Theau-Clément M., Bolet G. () The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Research* (soumis en déc 2001). Je demande des nouvelles à M. Theau.
- Clément F., Vidament M., Magistrini M. (1992). Estimation du pouvoir fécondant de l'étalon. *Rec. Med. Vét.* 168 : 947-957..
- Magistrini M., Chanteloube P., Palmer E. (1987). Influence of season and frequency of ejaculation on production of stallion semen for freezing. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 35 : 127-133.
- Palmer E. (1984). Factors affecting stallion semen survival and fertility. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Urbana, 377-378.
- Palmer E., Fauquenot A. (1984). Mesure et prédiction de la fertilité des étalons. Etude méthodologique. JARRIGE R. et MARTIN-ROSSET W. : *Le cheval : Reproduction, Sélection, Alimentation, Exploitation*. INRA, Paris, 113-127
- Palmer E., Magistrini M. (1992). Automated analysis of stallion semen post-thaw motility. *Acta Vet. Scand., Suppl.* 88, 137-152.
- Pattie W.A., Dowsett K.F. (1982). The repeatability of seminal characteristics of stallions. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 32 : 9-13.
- Rousset H., Chanteloube P., Magistrini M., Palmer E. (1987). Assessment of fertility and semen evaluation of stallions. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 35 : 25-31.
- Songsasen N., Leibo S.P. (1997). Cryopreservation of mouse spermatozoa. II. Relationship between survival after cryopreservation and osmotic tolerance of spermatozoa from three strains of mice. *Cryobiology*, 35, 255-269.
- Thurston L.M., Siggins K., Mileham A.J., Watson P.F., Holt W.V. (2000). Identification of amplified restriction fragment length polymorphism (AFLP) markers linked to genes controlling boar sperm viability following cryopreservation. *J.Reprod. Fert.. Abstracts series* 29.
- Tunon A.M., Emanuelson U., Planborg S., Malmgrem L. (2000). Genetic transmission of reproductive traits in horses. In proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction, Abstract, vol1 : 313.
- Vidament M., Dupéré A.M., Julienne P., Evain A., Noue P., Palmer E. (1997). Equine frozen semen: freezability and fertility field results. *Theriogenology*, 48, 907-917.
- Vidament M, Ecot P., Noue P., Bourgeois C., Magistrini M. & Palmer E, 2000. Centrifugation and addition of glycerol at 22°C instead of 4°C improve post-thaw motility and fertility of stallion spermatozoa. *Theriogenology* 54 (6), 907-919.
- Vidament M, Yvon JM, Couty I, Arnaud G, Nguekam-Feugang J, Noue P, Cottion S, Le Tellier A, Noel F, Palmer E, Magistrini M. 2001. Advances in cryopreservation of stallion semen in modified INRA82. *Anim Reprod Sci* Dec 3;68(3-4):201-218
- Vidament M., Dupéré A.M., Julienne P., Evain A., Noue P., Palmer E. (1997). Equine frozen semen: freezability and fertility field results. *Theriogenology*, 48, 907-917.

Tableau 1

Statistiques des mesures des caractéristiques séminales
(Base statistics of measures on seminal traits : concentration, volume, number of spermatozoa.)

Variabes de base	Concentration (/ml)	Volume (ml)	Nbre spz* (millions)
Effectif (Number)	9717	9717	9717
Moyenne (Mean)	241,7	35,66	6997
Ecart-type (Standard Deviation)	136,2	21,36	3472
Minimum	21	3	351
Maximum	1508	180	39864
Test de normalité (Kolmogorov)	0,091	0,132	0,074
Test de symétrie (Skewness)	1,388	1,319	1,384
Test de queues (Kurtosis)	3,417	2,642	4,249

*spz=spermatozoïdes

Variabes transformées*	Concentration	Volume	Nbre spz
Effectif (Number)	9717	9717	9717
Moyenne (Mean)	686,5	80,47	22206
Ecart-type (Standard Deviation)	116,3	18,28	3101
Minimum	298,9	21,47	9304
Maximum	1184,4	141,30	36701
Test de normalité (Kolmogorov)	0,019	0,045	0,013
Test de symétrie (Skewness)	0,107	-0,074	0,009
Test de queues (Kurtosis)	-0,282	-0,219	0,288

Transformation de Box-Cox, puissance 0.20 pour la Concentration, 0.15 pour le Volume, 0.25 pour le Nombre de Spermatozoïdes

Tableau 2
Héritabilité des caractéristiques séminales
Heritability of seminal characteristics

	Concentration	Volume	Nombre spz.	Mobilité
<i>Part des variances :</i>				
Résiduelle	0,431	0,496	0,527	0,397
Intra-étalon et intra-saison	0,088	0,093	0,12	0,092
Intra-étalon et entre-saison	0,308	0,233	0,181	0,239
Génétique	0,173	0,179	0,172	0,271
<i>Paramètres génétiques :</i>				
Répétabilité intra-saison	0,57	0,51	0,47	0,60
Répétabilité entre saison	0,48	0,41	0,35	0,51
Héritabilité	0,17	0,18	0,17	0,27
<i>Ecart-type d'estimation des rapports de variances</i>				
Résiduelle	0,014	0,012	0,014	0,012
Intra-étalon et intra-saison	0,009	0,010	0,012	0,007
Intra-étalon et entre-saison	0,063	0,049	0,056	0,049
Génétique	0,067	0,051	0,060	0,052

