



Open Archive Toulouse Archive Ouverte

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/21269>

To cite this version:

Guingal, Alice. *Impact du stress thermique sur la production et la qualité des embryons de génisses prim'Holstein*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 69 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

IMPACT DU STRESS THERMIQUE SUR LA PRODUCTION ET LA QUALITE DES EMBRYONS DE GENISSES PRIM'HOLSTEIN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

GUINGAL Alice

Née, le 29 mars 1991 à BAYONNE (64)

Directeur de thèse : Mme Nicole HAGEN-PICARD

JURY

PRESIDENT :
M. Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :
Mme Nicole HAGEN-PICARD
M. Xavier NOUVEL

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
M. serge LACAZE

Ingénieur et responsable des biotechnologies de la
reproduction à AURIVA-Elevage

Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : Madame Isabelle CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
M. DUCOS Alain, *Zootecnie*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
Mme BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
Mme CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie Vétérinaire*
M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
Mme LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales réglementées*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Jean PARINAUD,

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Biologie du développement et de la reproduction

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de jury de cette thèse,
Hommage et remerciements respectueux.

A Madame le Professeure Nicole HAGEN-PICARD,

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui m'a fait l'honneur de me proposer et d'encadrer cette thèse,
Qui m'a si bien accompagnée avec patience et disponibilité
Reconnaissance et remerciements les plus sincères.

A Monsieur le Docteur Laurent-Xavier NOUVEL,

Maitre de conférences de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui me fait l'honneur de prendre part au jury de cette thèse,
Sincères remerciements.

A Monsieur Serge LACAZE,

Ingénieur et responsable des biotechnologies de la reproduction à AURIVA-Elevage

Qui a permis puis aidé dans la réalisation de ce travail
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	7
TABLES DES ILLUSTRATIONS	9
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	16
1. La production d'embryons <i>in vivo</i> chez les bovins	16
1.1. Intérêts de cette technique	16
1.2. Principes de cette technique	16
1.3. Activité de transfert embryonnaire	16
1.4. Le protocole de superovulation	18
1.4.1. Nécessité de se baser sur des chaleurs de référence.....	19
1.4.2. Quels résultats en terme de production d'embryons ?	19
1.4.3. Quelles sont les limites de cette technique et les pistes d'amélioration ?	20
1.5. Production et qualité des embryons.....	21
1.5.1. Technique de collecte.....	21
1.5.2. Évaluation de la qualité des embryons	21
1.5.3. La conservation des embryons.....	22
2. Thermorégulation des bovins et rôle du stress thermique sur leur reproduction ...	24
2.1. La thermorégulation	24
2.2. Zone de confort thermique chez les bovins.....	25
2.3. Évaluation du stress thermique	27
2.4. Impact du stress thermique sur le métabolisme et la production de lait	30
2.5. Impact du stress thermique sur la reproduction femelle.....	30
2.5.2. Impact du stress thermique sur l'activité ovarienne.....	31
2.5.3. Impact sur la sécrétion d'hormones sexuelles	31
2.5.4. Impact du stress thermique sur la physiologie utérine.....	32
2.5.5. Impact du stress thermique sur la production d'embryons <i>in vivo</i>	32
2.5.6. Conclusion sur le stress thermique et ses impact sur la fonction de reproduction femelle	32
ETUDE EXPERIMENTALE	35
3. Objectifs de l'étude	35
4. Matériels et méthodes	35
4.1. Situations géographique et climatique de la station de donneuses d'embryons de Denguin	35
4.2. Base de données	36
4.3. Les génisses incluses dans notre étude	37

4.4.	Protocoles de superovulation sur les génisses de la station	38
4.5.	Evaluation de la qualité des embryons	39
4.6.	Evaluation du stress thermique	40
5.	Analyse statistique	40
6.	Résultats et discussion.....	41
6.1.	Effets de différents facteurs sur la production d’embryons et leur viabilité	41
6.1.1.	Production d’embryons en fonction des années	43
6.1.2.	Production d’embryons en fonction de l’âge des génisses	45
6.1.3.	Production d’embryons selon le protocole d’induction des chaleurs.....	46
6.1.4.	Production d’embryons en fonction de la saison.....	47
6.1.5.	Production d’embryons selon le rang de collecte	49
6.2.	Etude de la répétabilité intra et inter-individuelle de la production d’embryons	54
7.	Discussion générale	56
	CONCLUSION	62
	AGREMENT SCIENTIFIQUE	63
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	65

TABLES DES ILLUSTRATIONS :

Figure 1: Evolution des taux de réussite à la 1ère insémination des génisses ou vaches multipares des vaches laitières de race Prim Holstein, Normandes, et Montbéliarde de 1999 à 2015.....	15
Figure 2: Evolution temporelle du nombre moyen d'embryons transférables par collecte en Europe sur la période de de 1988 à 2014.....	17
Figure 3 : protocole de super ovulation mis en place à partir des chaleurs de référence.....	18
Figure 4 : Protocole complet de super ovulation avec induction des chaleurs	19
Figure 5: protocole de cryoconservation des embryons selon différentes méthodes : vitrification, vitrification ultra rapide, ou congélation lente	23
Figure 6: Mécanismes de thermorégulation permettant le maintien d'une température corporelle constante.....	25
<i>Figure 7: Représentation schématique des relations entre thermogenèse, thermolyse et température ambiante.</i>	<i>26</i>
Figure 8: Figure : Adaptation des bovins en fonction des températures ambiantes	27
Figure 9: Abaque des THI en fonction de leur effet sur la physiologie des bovins	29
<i>Figure 10: production de lait selon le THI (population de 1 million de vaches laitières en Italie).</i>	<i>30</i>
Figure 11: Effet du stress thermique sur la production d'embryons des bovins femelles.....	33
Figure 12: impact du stress thermique de la croissance folliculaire à l'implantation embryonnaire ...	34
Figure 13: Situation géographique de la station de donneuses d'embryons d'AURIVA (Denguin, Pyrénées Atlantiques, France).....	35
Figure 14: Evolution des températures moyennes, et des températures moyennes minimales et maximales mensuelles à Denguin de 2005 à décembre 2015, d'après les données météorologiques de la station de Denguin (2005 à 2012) et de Pau, située à 15 km de Denguin (2013 à 2015)	36
Figure 15: Evolution de l'humidité relative à Denguin de 2005 à décembre 2015, d'après les données météorologiques de la station de Denguin (2005 à 2012) et de Pau, situé à 15 km de Denguin (2013 à 2015).....	36
Figure 16: Répartition des 195 génisses en fonction du nombre de collectes sur la station de Denguin, sur la période de 2005 à 2015	37
Figure 17: Répartition des 606 collectes des 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin en fonction de l'âge des génisses collectées sur la période de 2005 à 2015.....	38
Figure 18 : Répartition des 606 collectes des 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015 en fonction du type de chaleurs, naturelles ou induites par différentes catégories de protocoles hormonaux	39

Figure 19: Evolution temporelle du nombre de collectes effectuées sur les 195 génisses Prim Holstein hébergées à la station de Denguin de 2005 à 2015.....	43
<i>Figure 20: Evolution temporelle du nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte sur les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015.....</i>	<i>44</i>
Figure 21: Evolution annuelle du pourcentage de bons embryons obtenus sur les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015.....	44
Figure 22: Evolution du nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte en fonction de l'âge des 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin de 2005 à 2015	45
Figure 23: Evolution du taux moyen de bons embryons par collecte en fonction de l'âge des 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin de 2005 à 2015.....	45
Figure 24: Nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité par collecte en fonction du type de chaleurs et du protocole d'induction des chaleurs, réalisées sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin de 2005 à 2015.....	46
Figure 25: Taux moyens de bons embryons par collecte en fonction du type de chaleurs ou du protocole d'induction des chaleurs, sur les 195 génisses Prim Holstein collectées sur la station de Denguin de 2005 à 2015.....	47
Figure 26: Nombre mensuel de collectes effectuées sur les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015	47
Figure 27: Nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte en fonction de la saison sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin sur la période de 2005 à 2015	48
Figure 28: Taux moyen de bons embryons par collecte pour chaque saison et pour les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015	48
Figure 29: Nombre moyen d'embryons totaux et de bonne qualité, par collecte en fonction du rang de collecte, sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin, de 2005 à 2015.....	49
Figure 30 : Nombre moyen d'embryons par collecte en fonction du rang de collecte et de la saison, sur les 195 génisses de la station de Denguin de 2005 à 2015	50
Figure 31: Taux de bons embryons collectés par rang collecte sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin, de 2005 à 2015	50
Figure 32: Evolution des THI mensuels de 2005 à décembre 2015, d'après les données météorologiques de la station de Denguin (2005 à 2012) et de Pau, située à 15 km de Denguin (2013 à 2015).....	51
Figure 33: Nombre d'embryons totaux par collecte en fonction du THI de 2005 à 2015 sur les 606 collectes réalisées sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin.....	51
Figure 34: Nombre de bons embryons par collecte en fonction du THI de 2005 à 2015 sur les 606 collectes réalisées sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin.....	52

Figure 35: Nombre d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte pour les différentes classes de THI sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin, collectées de 2005 à 2015	52
Figure 36: Taux de bons embryons par collecte en fonction du THI de 2005 à 2015 sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin	53
Figure 37: Relation entre le nombre d'embryons totaux produits à la première et à la deuxième collecte pour les 195 génisses collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015	55
Figure 38: Relation entre le nombre de bons embryons produits à la première et à la deuxième collecte pour les 195 génisses collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015	55
Figure 39: Répartition des THI mensuels relevés de 2005 à 2015 sur les stations météorologiques de Denguin et de Pau selon leurs valeurs	57
Figure 40: Niveau de stress thermique ressenti par des vaches laitières haute productrices en fonction du THI.....	58
Tableau 1: Synthèse bibliographique des études réalisées en Europe évaluant l'impact du stress thermique sur les performances de reproduction des vaches	14
Tableau 2 : Productions d'embryons bovins <i>in vivo</i> en 2014 et 2015, d'après l'International Embryo Technology Society (IETS)	18
Tableau 3 : Evaluation du stress subi par les bovins en fonction du THI	28
Tableau 4 : Age moyen [11.3 ; 30.6] selon le rang de collecte des 195 génisses Prim Holstein à la station de Denguin de 2005 à 2015	39
Tableau 5 : Répartition des collectes selon le rang de collecte et le type de chaleur	43
Tableau 6 : Production d'embryons par collecte et qualité des embryons (moyenne \pm ET) en fonction de différents facteurs (rang de collecte, type de chaleurs, saison ou THI)	44
Tableau 7 : Taux de non réponse au traitement de superovulation, en termes de nombre d'embryons collectés, en fonction de la classe de THI, sur les 195 génisses de la station de Denguin, et 606 collectes de 2005 à 2015	54
Tableau 8 : Taux de non réponse au traitement de superovulation, en termes de nombre de bons embryons, en fonction de la classe de THI, sur les 195 génisses de la station de Denguin, et 606 collectes de 2005 à 2015	55
Tableau 9 : Répétabilité intra-individuelle et inter-individuelle de la production d'embryons totaux et de bonne qualité, par collecte évaluée pour les collectes 1 et 2 (n=195 génisses) et pour les génisses collectées 4 fois (n=87)	55
Tableau 10 : Evaluation du stress subi par les vaches laitières en fonction du THI	58
Tableau 11 : Synthèse bibliographique des effets du stress thermique sur la fonction de reproduction femelle chez les bovins	61

LISTE DES ABREVIATIONS

AETE : association of embryo technologies in Europe

ANOVA : analysis of variance, analyse de variance

BID : bis in die, deux fois par jour

DPBS : Dubelcco's phosphate buffered saline : tampon phosphate salin de Dubelcco

eCG : gonadotropine chorionique équine

FSH : hormone folliculostimulante

GIEC : groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat

GnRH : gonadotropin-releasing hormone

Hr : humidité relative

IA : Insémination artificielle

IETS: international embryo technologies society

IM: intra musculaire

LH : hormone lutéinisante

Max : maximum

Min : minimum

NAT : naturelle, chaleur naturelle

PGF2 α : prostaglandine F2 α

TCI: température critique inférieure

TCS : température critique supérieure

THI : index température humidité relative

Tmoy : température moyenne mensuelle

INTRODUCTION

Plusieurs études ont montré une altération des performances de reproduction chez les vaches exposées à un stress thermique. La plupart de ces études ont été réalisées dans des conditions climatiques relativement chaudes, de type subtropical, tropical, aride ou même équatorial, que l'on peut retrouver dans certains pays comme la Floride, Israël ou le Brésil. Cependant, d'autres études réalisées (tableau 1), sous des climats tempérés, en Allemagne (SCHULLER et al., 2014), en Italie (BONI et al., 2014), en Espagne (GARCÍA-ISPIERTO et al., 2007) et en France (PEZON, J, 2015), ont également montré les effets délétères du stress thermique sur la production laitière ou les performances de reproduction de vaches laitières hautes productrices.

D'une façon générale, le stress thermique entraîne une diminution de l'ingestion, aggravant ainsi le déficit énergétique en début de lactation chez les vaches laitières hautes productrices. Il induit des modifications des sécrétions hormonales hypothalamo-hypophysaires et des stéroïdes. Le stress thermique est également associé à une diminution de la qualité de l'ovocyte, une altération du développement folliculaire et de l'environnement utérin. Il en résulte une diminution de l'expression des chaleurs et de l'infertilité (WOLFENSON et al., 2000) (DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003).

Tableau 2: Synthèse bibliographique des études réalisées en Europe évaluant l'impact du stress thermique sur les performances de reproduction des vaches

Auteur	Pays de l'étude	Conclusions de l'étude
(SCHULLER et al., 2014)	Allemagne	Diminution du taux de gestation en fonction du THI
(BONI et al., 2014)	Italie	Diminution du taux de gestation, de l'expression des chaleurs en été
(GARCÍA-ISPIERTO et al., 2007)	Espagne	Diminution du taux de gestation en été
(PEZON, J, 2015)	France	Evaluation du stress thermique en été en France et baisse des performances laitières

Ainsi, le stress thermique pourrait altérer les premiers stades du développement embryonnaire, les embryons après 7 jours de gestation deviennent résistants au stress thermique (EALY et al., 1993). Ainsi, dans des pays chauds, en Arabie Saoudite (ALFURAJI et al., 1996), en Arizona (MONTY and RACOWSKY, 1987), en Floride (PUTNEY et al., 1988a), en Israël (ROTH et al., 2000) ou au Brésil, le stress thermique entraîne une réduction de la production d'embryons *in vivo*. Cependant, peu d'études ont évalué l'impact du stress thermique sur la production d'embryons *in vivo*, sous des latitudes tempérées.

La transplantation embryonnaire est développée en France qui est le 1^{er} producteur européen d'embryons *in vivo*, avec 50 000 à 66 000 embryons totaux produits par an. Cette biotechnologie permet d'accélérer le progrès génétique en multipliant la descendance de femelles élites. Cependant, la réponse à la superovulation est variable et dépend de la population folliculaire au moment où débute le traitement de superovulation. Ainsi, un effet du stress thermique sur le développement folliculaire pourrait altérer la réponse à la superovulation de femelles donneuses d'embryons et la qualité des embryons.

Le réchauffement climatique constitue une préoccupation environnementale majeure pour notre planète. En effet, les activités humaines entraînent une modification de la composition de l'air en gaz à effet de serre, ce qui a pour conséquence une augmentation des températures. Le GIEC (Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat) a établi différents modèles de prévision de la hausse des températures.

Ainsi à la demande du ministère de l'Ecologie, les scénarios suivants ont pu être établis en France (JOUZEL et al., 2014):

A moyen terme (2021-2050) :

- Une hausse des températures moyennes, comprise entre 0,6 °C et 1,3 °C
- Des vagues de chaleur ou canicule en été plus fréquentes, de 0 à 5 jours sur l'ensemble du territoire.
- Une légère augmentation des précipitations moyennes annuelles, de 0 à 0,42 mm/jour en moyenne en France.

Et à plus long terme, (de 2071 à 2100) :

- Une forte hausse des températures moyennes, de 1.4°C à 5.3°C en été
- Des vagues de chaleur plus fréquentes en été, pouvant dépasser une durée de 20 jours
- Une hausse des précipitations en hiver, de 0,1 à 0,85 mm/jour.

L'ensemble de ces données indique que le problème de stress thermique pourrait constituer un enjeu majeur en élevage au 21^{ème} siècle.

Ces dernières décennies, les performances de reproduction des vaches laitières et surtout de la race Prim'Holstein se sont dégradées (figure 1). En France, en 2004, le taux de réussite à la 1^{ère} IA était de 37% pour les vaches Prim'Holstein et de 56% pour les génisses Prim'Holstein, contre 43% et 57% respectivement pour les vaches multipares et les génisses de cette race en 1999. Cette dégradation de presque 1% par an (de 1999 à 2004) pour les vaches multipares s'explique en partie par une sélection sur les performances laitières au détriment de la fertilité (HOEKSTRA et al., 1994) (CARTHY et al., 2016). Cependant, depuis 5 ans, le taux de réussite à la 1^{ère} insémination s'est stabilisé (figure1) grâce à une sélection sur des indices génétiques plus globaux (fertilité, longévité). En 2015, les taux de réussite à la 1^{ère} insémination étaient de 40% pour les vaches Prim'Holstein et 55% pour les génisses Prim'Holstein.

Taux de réussite des IA premières

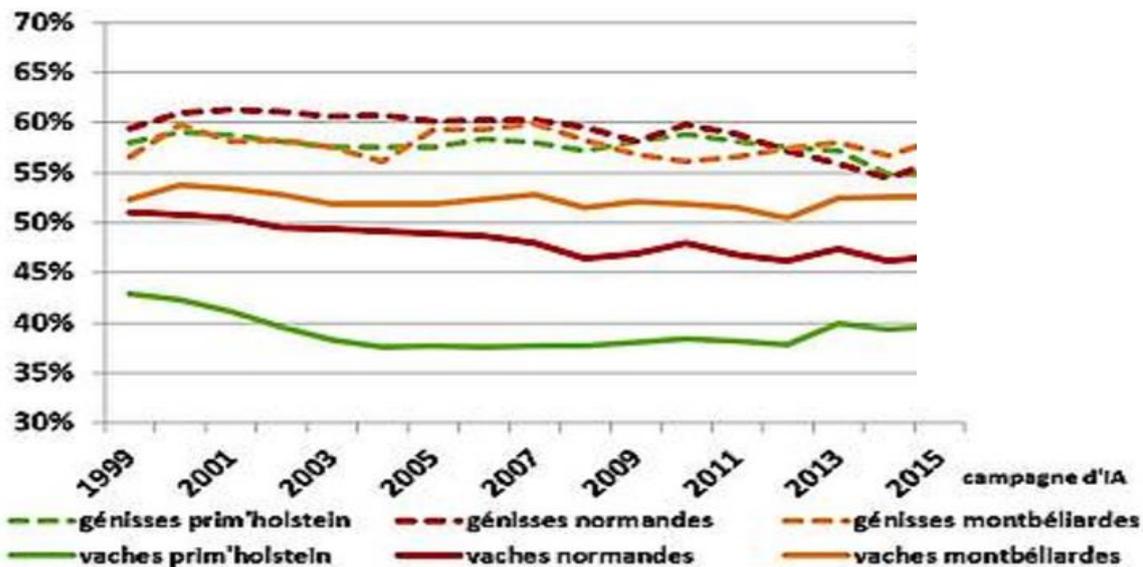


Figure 1: Evolution des taux de réussite à la 1ère insémination des génisses ou vaches multipares des vaches laitières de race Prim Holstein, Normandes, et Montbéliarde de 1999 à 2015.

Source : Institut de l'élevage, Bilan 1999 – 2015, Institut de l'élevage 2017, 48 pages

Ainsi, dans le contexte actuel de réchauffement climatique et de dégradation de la fertilité des vaches laitières, l'évaluation de l'impact du stress thermique sur la fertilité femelle dans les conditions climatiques tempérées du Sud-Ouest de la France permettra d'évaluer les conséquences des épisodes caniculaires sur la reproduction dans les élevages bovins français et de considérer l'intérêt de mesures adaptées d'aide à la thermorégulation.

Notre étude expérimentale a pour objectif d'évaluer l'impact du stress thermique sur la production *in vivo* d'embryons de génisses Prim'Holstein dans des conditions climatiques tempérées.

Dans une première partie, nous décrivons la transplantation embryonnaire, et en particulier la production d'embryons *in vivo*. Puis, nous présenterons une synthèse bibliographique sur les mécanismes de thermorégulation et sur l'impact du stress thermique sur les performances reproductives des vaches. Enfin, nous présenterons notre étude expérimentale, réalisée à partir de la base de données de la station AURIVA située à Denguin dans le Sud-Ouest de la France (64), sur l'impact du stress thermique sur la production d'embryons *in vivo* de génisses Prim'Holstein sur la période de 2005 à 2015.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La production d'embryons *in vivo* chez les bovins

1.1. Intérêts de cette technique

La production embryonnaire *in vivo* est relativement développée en élevage bovin. Elle permet d'accélérer le progrès génétique. En effet, alors que l'IA a permis d'accélérer la sélection génétique par la voie mâle, le transfert embryonnaire permet d'intensifier la sélection des femelles :

- En réduisant l'intervalle entre générations
- En multipliant la descendance d'une femelle sélectionnée pour son intérêt génétique, soit en raison de son niveau très élevé (vache élite), soit en raison de sa rareté (cheptel à faible effectif).

La diffusion du progrès génétique dans le temps et dans l'espace a été possible grâce à la maîtrise de la congélation d'embryons. Ce stockage d'embryons peut permettre la sauvegarde de races à faible effectif. En outre, l'introduction d'embryons congelés offre plus de garantie sanitaire que celle d'animaux vivants.

1.2. Principes de cette technique

La production d'embryons *in vivo* comprend plusieurs étapes :

- Sélection de la femelle donneuse sur sa valeur génétique et sur son statut physiologique (à plus de 70 jours du vêlage et cyclée).
- Induction d'une superovulation de la femelle donneuse suivie d'une insémination artificielle
- Collecte des embryons à 7 jours post IA par lavage utérin et évaluation des embryons
- Transfert des embryons frais ou congelés à des femelles receveuses

1.3. Activité de transfert embryonnaire

Depuis le développement de cette biotechnologie dans les années 1970, la production d'embryons a rapidement augmenté dans les années 1990-2000 et s'est stabilisée depuis 10 ans avec environ 650 000 embryons transférables produits par an mondialement. Les pays qui utilisent le plus cette technique sont les Etats-Unis et le Canada puis l'Europe (Tableau 2).

Tableau 3: Productions d'embryons bovins *in vivo* en 2014 et 2015, d'après l'International Embryo Technology Society (IETS)

Source: (Perry, 2016) 2015 STATISTICS OF EMBRYO COLLECTION AND TRANSFER IN DOMESTIC FARM ANIMALS, proceeding du colloque de l'IETS de 2016

Région	Collectes	Embryons transférables	Nombre d'embryons par collecte	Collectes	Embryons transférables	Nombre total d'embryons par collecte
	2014			2015		
Afrique	794	5 782	7,28	711	5,53	7,78
Asie	0	0	0	14 689	105 685	7,19
Europe	22 408	137 998	6,16	20 497	127 980	6,24
Amérique du Nord	58 934	397 306	6,74	53 536	360 020	6,72
Océanie	1 326	5 224	3,94	2 353	11 187	4,75
Amérique du Sud	11 204	68 154	6,08	8 953	49 815	4,56
Total	94 666	614 464	6,49	100 739	660 221	6,55

En Europe, la France, l'Allemagne et les Pays-Bas sont les pays qui produisent le plus d'embryons *in vivo* (source AETE, Association of embryo technology in Europe), même si cette production reste encore inférieure à celle d'Amérique du Nord. Le nombre moyen d'embryons transférables par collecte en Europe a progressé lentement jusqu'aux années 2000 pour se stabiliser autour de 6,2 (figure 2).

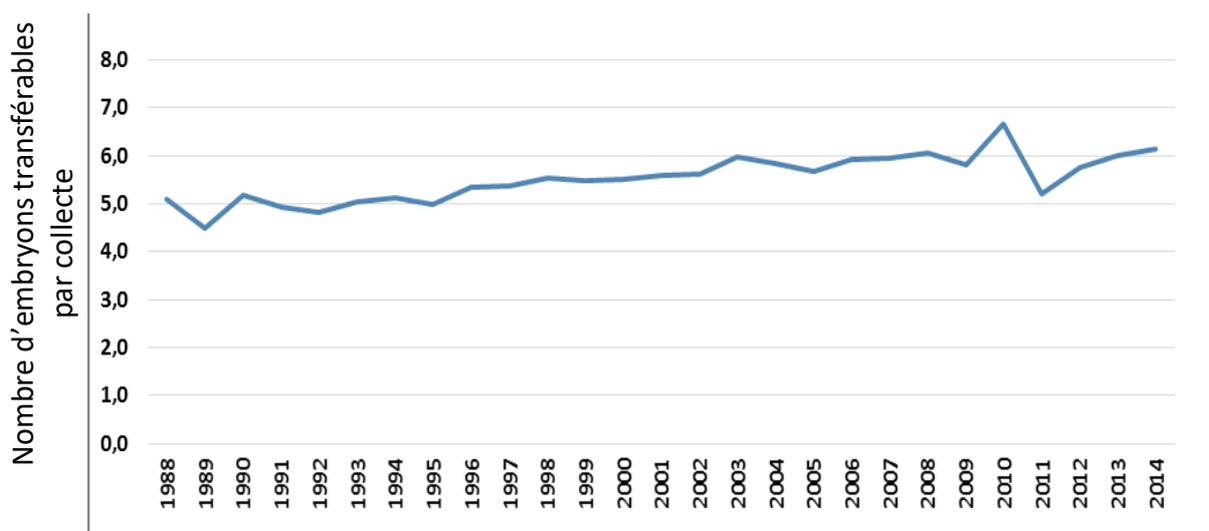


Figure 2: Evolution temporelle du nombre moyen d'embryons transférables par collecte en Europe sur la période de 1988 à 2014.

Source: Mikkola, 2016: Commercial bovine embryo transfer activity in EUROPE in 2015 Proceeding du 32ème colloque de l'AETE, – Barcelona, Spain, 9th – 10th September 2016

La France est le 1^{er} pays producteur européen d'embryons *in vivo* devant l'Allemagne et les Pays Bas. La production fluctue légèrement depuis 2005 entre 50 000 et 66 000 embryons collectés par an.

1.4. Le protocole de superovulation

Le traitement de superovulation vise à stimuler la croissance folliculaire. Il repose sur l'utilisation d'hormones gonadotropes (FSH et LH). Il permet de court-circuiter le phénomène de dominance de façon à amener jusqu'à l'ovulation tous les follicules subordonnés, qui privés de FSH et de LH auraient évolué vers l'atrésie. Historiquement, l'eCG a été utilisé pour induire une superovulation. Cependant, compte tenu de la longue demi-vie de cette molécule, la stimulation est trop longue et induit la formation de follicules persistants, néfastes pour le développement embryonnaire. Ce traitement a été abandonné et seul un traitement à base de FSH, avec ou sans LH, est maintenant utilisé (MAPLETOFT et al., 2002) (BO and MAPLETOFT, 2012). Cette molécule est purifiée à partir d'hypophyses de porc. En fait, la FSH est conditionnée avec de la LH, selon un ratio déterminé (SAUMANDE, 1995). Le traitement est réalisé pendant 4 jours, deux fois par jour, à dose décroissante ou non.

La figure 3 représente le protocole de superovulation :

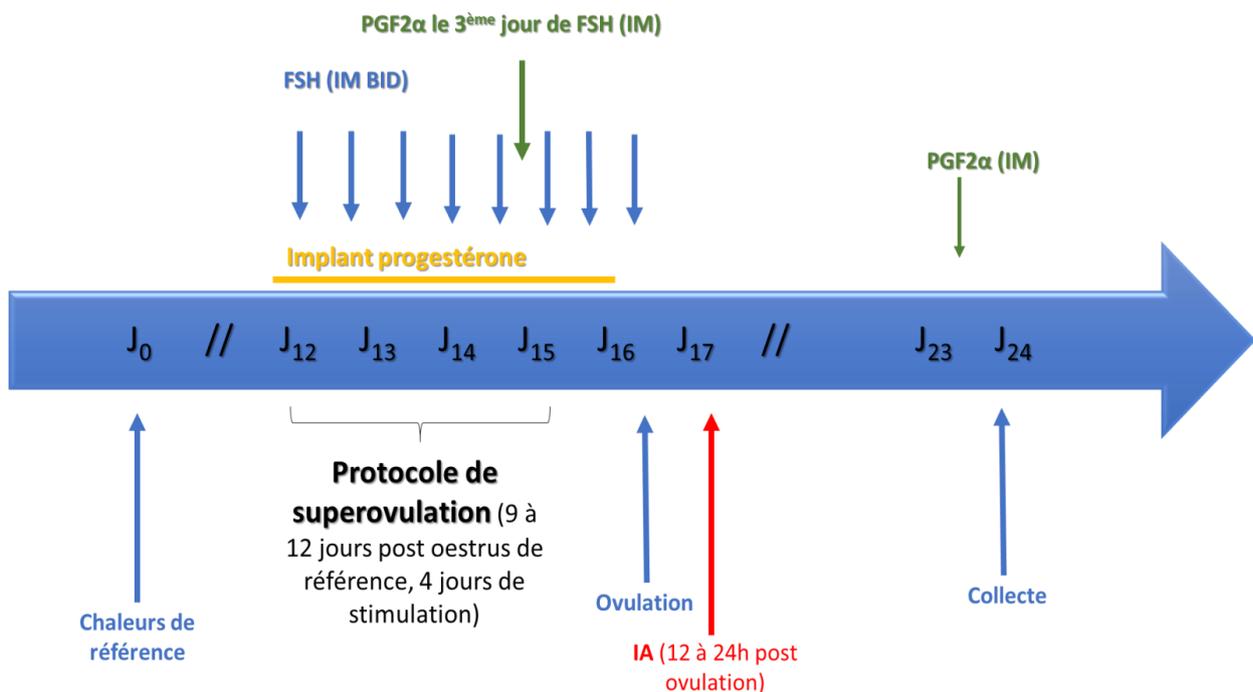


Figure 3 : Protocole de superovulation mis en place à partir des chaleurs de référence et jusqu'à la collecte d'embryons

1.4.1. Nécessité de se baser sur des chaleurs de référence

Le protocole de superovulation doit commencer 9-12 jours après des chaleurs de la femelle donneuse afin d'optimiser la réponse au traitement. En effet, les injections de FSH doivent débuter au moment de l'émergence d'une vague folliculaire (BO and MAPLETOFT, 2012) (MAPLETOFT et al., 2002) (NASSER et al., 1993). Ainsi, pour se conformer au mieux à la dynamique de ces vagues folliculaires, il faut se baser sur les chaleurs des donneuses. Ces chaleurs peuvent être observées (chaleurs naturelles) ou provoquées (chaleurs induites par des protocoles hormonaux).

Un des protocoles hormonaux classiques, le plus utilisé pour l'induction de chaleurs est un traitement progestagènes pendant 9 jours avec une injection de PGF2 alpha au 8^{ème} jour puis d'eCG au 9^{ème} jour (BO and MAPLETOFT, 2012). Ainsi, l'ovulation est contrôlée et apparaît au 11^{ème} jour (MACMILLAN and THATCHER, 1991). Environ 10 jours plus tard, une nouvelle vague folliculaire débute. La stimulation au FSH peut débuter 9 à 12 jours après l'apparition des chaleurs de référence.

La figure 4 représente les différentes étapes, de l'induction des chaleurs de références jusqu'à la collecte et le transfert embryonnaire.

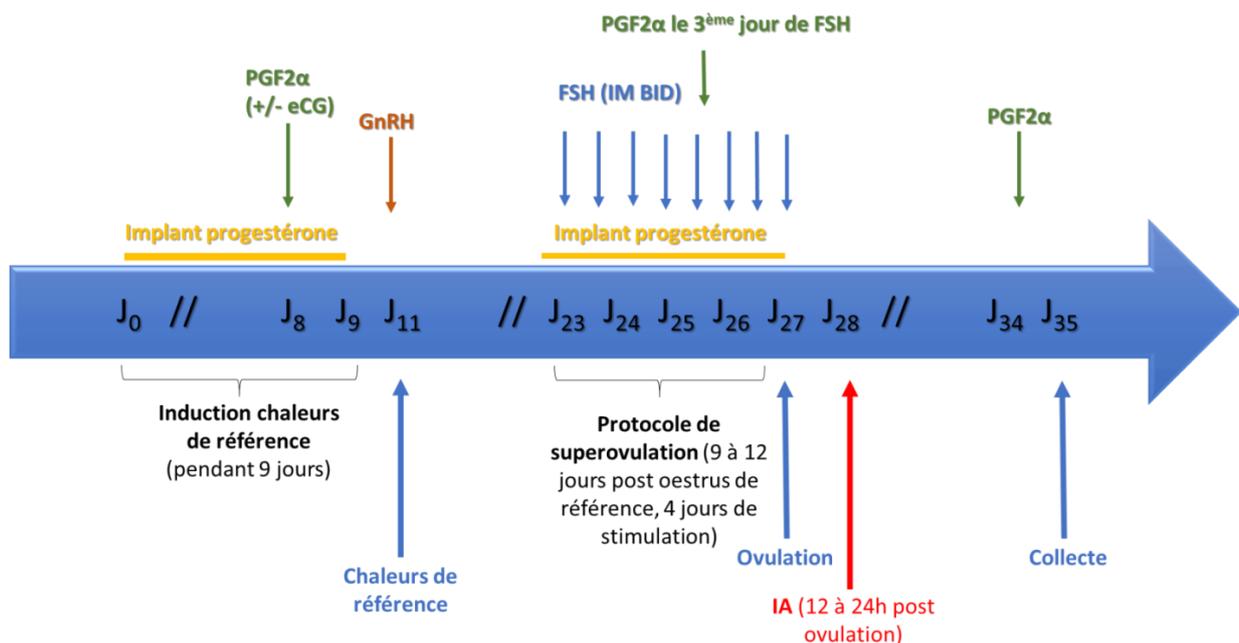


Figure 4 : Protocole complet de super ovulation avec induction des chaleurs

1.4.2. Quels résultats en terme de production d'embryons ?

La production d'embryons *in vivo* reste relativement variable, tant en quantité qu'en qualité. Le nombre d'embryons /ovocytes non fécondés par collecte peut varier entre 0 à 50 (KAFI and MC GOWAN, 1997) (HASLER et al., 1983). En général, le nombre d'embryons récoltés par collecte est d'une dizaine environ. Le nombre moyen

d'embryons transférables par collecte est de 6.74 aux Etats Unis en 2014 (IETS 2014) et de 6.2 en 2015 en Europe (MIKKOLA, 2015).

1.4.3. Quelles sont les limites de cette technique et les pistes d'amélioration ?

Le 1^{er} facteur limitant cette technique est la forte variabilité de réponse au traitement, qui peut s'expliquer par plusieurs facteurs :

- La donneuse : nullipare ou multipare, sa génétique ou sa lignée (MONNIAUX et al., 2010)
- L'environnement : le climat (stress thermique subi dans les zones tropicales) (cf. partie II), un stress (modification de l'environnement, mouvements d'animaux...) (DOBSON, 2003), l'alimentation (KAFI and MC GOWAN, 1997) .
- Le protocole utilisé (BO and MAPLETOFT, 2012) : les hormones gonadotropes utilisées pour la superovulation, sa posologie et voie d'administration, la durée du traitement.
 - Désormais, l'utilisation de la FSH est généralisée. Le protocole standard est une administration par IM deux fois par jour à dose décroissante pendant 4 jours. Ce protocole nécessite de nombreuses manipulations des bovins. Bó et son équipe (BO et al., 1994) ont montré que des injections de FSH par voie sous cutanée permettent de diminuer le nombre d'injections. Cependant, ces résultats semblent inconstants et dépendants de la qualité de l'injection et de l'état corporel du bovin.
 - Des injections mélangeant FSH et des polymères ont été expérimentées (BO et al., 2010) (TRIBULO et al., 2012). Les polymères prolongent le temps de demi-vie de la FSH permettant ainsi de diminuer le nombre d'injections. Les résultats obtenus en termes de réponse à la superovulation étaient similaires à ceux obtenus avec le protocole standard mais cette technique est difficilement réalisable en pratique du fait de la difficulté de préparation de ce mélange. En définitive, la réduction du nombre d'injections de FSH par rapport au protocole standard est possible mais difficilement réalisable en pratique.
 - D'autres variations du protocole de superovulation à base de FSH ont été expérimentées. Ainsi, une étude a montré (GARCIA GUERRA et al., 2012) qu'augmenter la durée de la stimulation FSH (7 jours au lieu de 4) permet d'augmenter le nombre embryons produits et le nombre d'embryons de bonne qualité par rapport au protocole standard.
 - D'autres études tendent à démontrer les bénéfices d'une combinaison entre des injections de FSH et d'eCG. Le protocole modifié consiste (BO and MAPLETOFT, 2012) à remplacer les dernières injections de FSH du protocole standard par des injections d'eCG, ce qui a amélioré selon les études, soit le nombre de follicules ovulatoires, le nombre d'embryons produits (BARROS et al., 2008) ou le nombre d'embryons transférables (MATTOIS et al., 2011).

Le 2^{ème} facteur limitant la réponse à la superovulation est la synchronisation du traitement de superovulation avec le cycle des donneuses. En effet, il a été démontré que le

meilleur moment pour débiter ce traitement correspond à l'émergence d'une vague folliculaire (BO and MAPLETOFT, 2012) (MAPLETOFT et al., 2002) (NASSER et al., 1993). Or la durée des vagues folliculaires et leur nombre est variable en fonction des cycles ou des femelles. Cependant, initier le traitement 9-12 jours après des chaleurs de références, permet dans la plupart des cas, de se trouver au début de la deuxième vague de croissance folliculaire. Toutefois, ce protocole nécessite une bonne détection des chaleurs. Cependant, il est possible de s'affranchir de cette détection de chaleurs grâce à plusieurs techniques. En Europe, l'utilisation de protocoles à base de GnRH, progestagènes et prostaglandine s'est développée (BO and MAPLETOFT, 2012) et permet de maîtriser le cycle des donneuses pour simplifier leur conduite.

Une autre voie d'amélioration de la production d'embryons consiste à supprimer le follicule dominant au moment d'initier le traitement FSH. En effet, le follicule dominant présent lors du traitement FSH, inhibe l'émergence d'autres follicules pré ovulatoires et donc la quantité d'embryons produits (BO and MAPLETOFT, 2012)(KAFI and MC GOWAN, 1997). La suppression des deux plus gros follicules permet d'améliorer la réponse au FSH (BARACALDO M et al., 2000).

1.5. Production et qualité des embryons

1.5.1. Technique de collecte

La collecte des embryons consiste en un lavage des deux cornes utérines (SEIDEL, 1981). Par voie vaginale, une sonde de collecte est placée par voie transcervicale, au tiers supérieur d'une corne. Un ballonnet est gonflé pour étanchéifier la corne. Puis la corne est lavée avec environ 500 ml de tampon phosphate (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) (DUBOIS, 2016). Le taux de récupération est de 65-75% (WOLGAST et al., 2008)(BENDER et al., 2012).

La collecte est réalisée 7 jours après l'IA.

1.5.2. Évaluation de la qualité des embryons

Après la collecte, les ovocytes/ embryons doivent être examinés. Les critères utilisés sont ceux de l'IETS (BO and MAPLETOFT, 2013), (ROBERTSON and NELSON, 2010). Les ovocytes/embryons sont classés dans 9 catégories, correspondant à leur développement : ovocyte non fécondé, développement de l'embryon en fonction du nombre de cellules (de 1 à 32), morula et blastocytes. Pour évaluer leur qualité, 4 classes existent :

- Classe I : Ces embryons sont de bonne ou d'excellente qualité. Ainsi, l'embryon récupéré doit être sphérique, symétrique. Les irrégularités doivent représenter moins de 15% du matériel de l'embryon. La zone pellucide doit être lisse sans aspérité. Les embryons de classe I présentent les meilleures aptitudes pour résister à une congélation. Ils peuvent être soit congelés soit utilisés pour un transfert en frais
- Classe II : qualité acceptable : l'embryon présente des anomalies dans sa structure, sa taille, sa densité ou dans son contenu. 50 % du matériel embryonnaire doit être intact. Leur résistance à la congélation et à la décongélation est moindre par rapport aux embryons de classe I. Il est préférable de les utiliser, avec de bons résultats, lors de transferts embryonnaires dit « frais ».

- Classe III : qualité médiocre. Les irrégularités concernant le contenu, l'aspect, la couleur, la taille sont majeures. Au moins 25% du matériel doit rester intact. Ces embryons ne peuvent pas être congelés/décongelés. Les résultats obtenus après des transferts embryonnaires en frais sont médiocres.
- Classe IV : l'embryon est mort ou dégénéré. Rentrent dans cette catégorie les embryons constitués d'une seule cellule ou les oocytes non fécondés. Ces embryons ne sont pas viables et ne doivent pas être utilisés pour le transfert embryonnaire.

Ainsi, seuls les embryons de classe I peuvent être congelés. Il est préférable d'utiliser les embryons de classe II et III pour des transferts frais.

1.5.3. La conservation des embryons

Après leur collecte et leur examen, les embryons peuvent être transférés directement ou congelés. Pour être directement transférés, le transfert doit se faire dans la journée, d'où la nécessité d'une synchronisation des chaleurs entre les femelles donneuses et les receveuses. Les embryons de 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} classe selon l'IETS peuvent être transférés directement. Plus l'embryon est de bonne qualité, meilleur sera le taux de gestation.

Les embryons peuvent aussi être congelés pour être transférés ultérieurement. L'IETS recommande de ne congeler et commercialiser que des embryons de classe 1 (BO and MAPLETOFT, 2013).

Plusieurs techniques sont utilisées pour congeler les embryons en fonction de la cinétique de descente en température (figure 5) (GUIGNOT, 2005). La congélation lente est traditionnellement utilisée dans les centres de collecte et transfert d'embryons alors que les techniques plus rapides et utilisant le phénomène de vitrification (utilisation de cryoprotecteur à de plus fortes concentrations) sont plutôt réservées au domaine de la recherche.

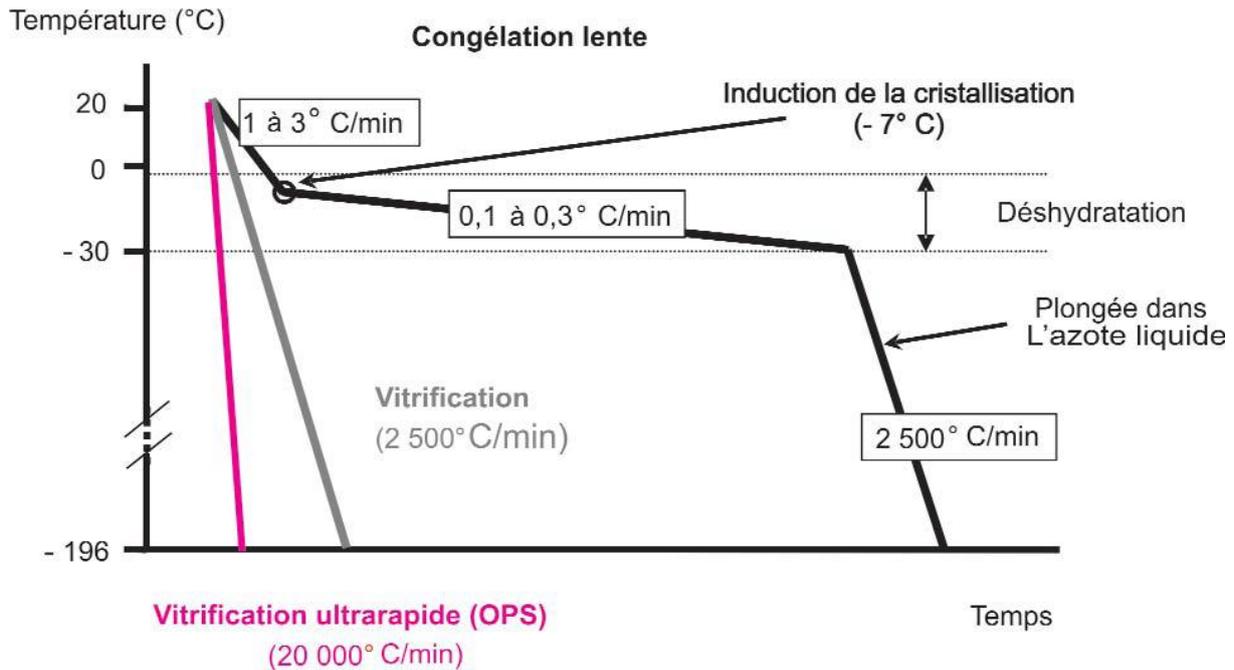


Figure 5: protocole de cryoconservation des embryons selon différentes méthodes : vitrification, vitrification ultra rapide, ou congélation lente

Source : GUIGNOT F., 2005. Cryoconservation des embryons des espèces domestiques. INRA Prod. Anim. 18, 27-35.

Pour la technique de congélation lente (GUIGNOT, 2005), les embryons sont d'abord placés en une ou plusieurs étapes, dans une solution contenant un cryoprotecteur (glycérol, éthylène glycol, DMSO, propane-diol) à une concentration de 10 % environ, soit 1 à 1,5 M. Puis les embryons sont conditionnés dans des paillettes. Ensuite, le protocole de congélation est lent et précis. La température des paillettes est descendue à -7°C progressivement avec une vitesse de 1 à $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Un palier est réalisé à -7°C , la paillette est maintenue à cette température pendant au moins 5 min. Puis les paillettes sont descendues très progressivement entre -25 et -35°C (0.1 à $0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Enfin, une fois cette température atteinte, les paillettes sont placées brutalement dans de l'azote liquide à -196°C , température à laquelle elles peuvent être conservées et commercialisées.

2. Thermorégulation des bovins et rôle du stress thermique sur leur reproduction

2.1. La thermorégulation

La température est un facteur d'ambiance influençant de nombreux paramètres zootechniques (FUQUAY, 1981), notamment la fonction de reproduction. Les mammifères disposent d'un dispositif de régulation de la chaleur leur permettant de maintenir dans des conditions normales leur température centrale dans des limites de variation qui n'excèdent pas ± 2 °C.

La température corporelle des mammifères résulte d'un équilibre entre production de chaleur (ou thermogénèse) et pertes de chaleurs (ou thermolyse) (FUQUAY, 1981).

La thermogénèse est la résultante de l'activité métabolique de l'animal. Elle comprend la thermogénèse de base, correspondant à la production thermique minimale enregistrée chez un animal au repos, à jeun et dans les conditions de neutralité thermique. Elle résulte également de la chaleur produite par le travail musculaire (80 % de la chaleur corporelle est produite par les muscles squelettiques). Chez les ruminants, la rumination apporte également beaucoup d'énergie calorifique. Par ailleurs, plus la production augmente plus la production d'énergie par le bovin augmente. Ainsi, chez une vache forte productrice laitière (BERMAN, 2005) (HANSEN, 2009) (KADZERE et al., 2002), la thermogénèse endogène peut être doublée par rapport à une femelle, faible productrice.

La thermolyse correspond à l'ensemble des déperditions d'énergie calorifique. On les classe en pertes insensibles (absence de sensation de froid) ou sensibles (qui provoquent une sensation de froid). Les pertes insensibles correspondent aux pertes dues à l'évaporation d'eau par le corps. Ces pertes correspondent à la sudation et l'augmentation de la fréquence respiratoire.

Les pertes sensibles peuvent s'effectuer par (KADZERE et al., 2002) (HANSEN, 2009):

- **Radiation** : c'est une perte de chaleur par rayonnements électromagnétiques
- **Conduction** : elle exige un contact entre l'animal et le milieu (air, surface d'un bâtiment, eau etc.). La perte de chaleur par conduction constitue une proportion importante des pertes de chaleurs mais dépendent d'un gradient de température entre la température ambiante et la température de surface corporelle. Ces pertes de chaleur ne peuvent avoir lieu que si la température corporelle est supérieure à la température ambiante. Ainsi, ces pertes de chaleurs ne peuvent plus se faire lors de fortes chaleurs ou de canicules.
- **Convection** : c'est une perte d'énergie calorifique par renouvellement d'air autour de l'animal. Quand l'organisme est exposé au vent, la perte de chaleur par convection est accrue.

La figure 6 résume les différents mécanismes permettant le maintien de la température corporelle grâce à la combinaison de la thermogénèse et de thermolyse.

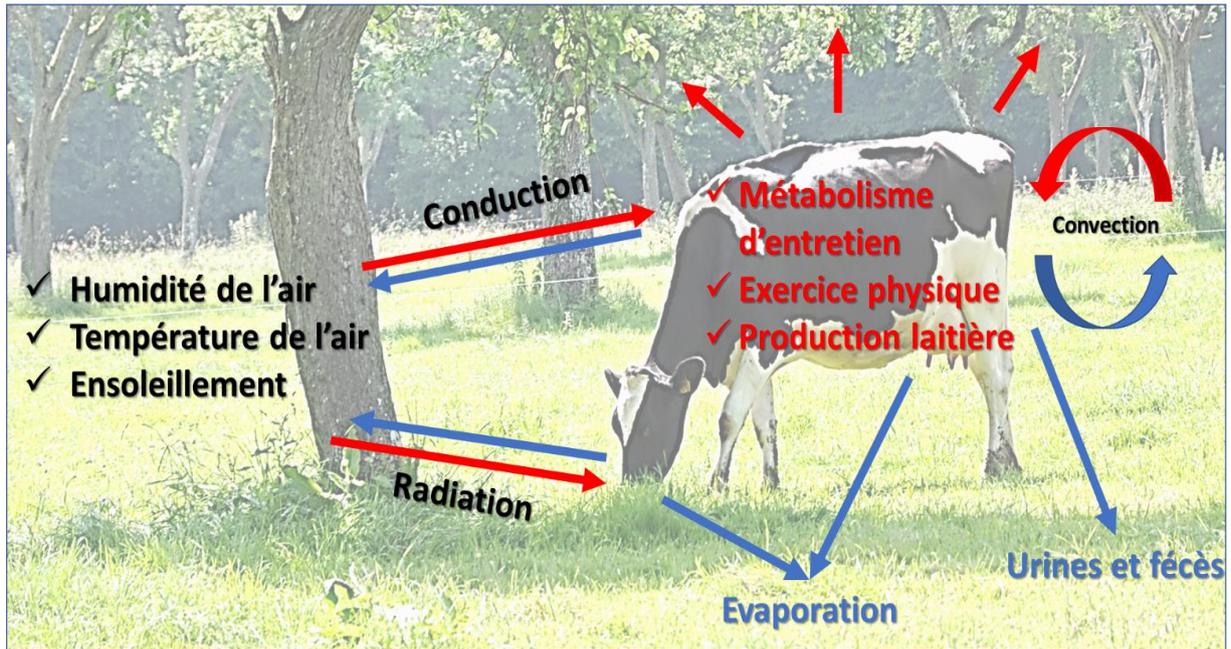


Figure 6: Mécanismes de thermorégulation permettant le maintien d'une température corporelle constante
 Source : d'après Fuquay 1981

Le stress thermique survient lors de dépassement des capacités de thermorégulation, c'est-à-dire de déséquilibre entre la production de chaleur et la perte de chaleur.

2.2. Zone de confort thermique chez les bovins

L'équilibre entre thermolyse et thermogénèse permet le maintien d'une homéothermie et de limiter le temps passé en hypo ou hyperthermie. La balance entre thermolyse et thermogénèse dépend entre autres de la température ambiante.

Dans la zone d'homéothermie (Figure 7), le maintien de la température centrale peut se faire selon trois situations : des périodes passées à lutter contre le froid, à lutter contre la chaleur, ou des périodes de neutralité thermique. Ainsi, dans la zone d'homéothermie, on distingue différentes zones :

- Une zone de neutralité thermique, limitée par la température critique inférieure (TCI) et la température critique supérieure (TCS). La zone de neutralité thermique est définie comme étant l'intervalle des températures ambiantes pour lequel la thermogénèse est à son minimum et pour lequel la thermolyse n'est assurée que par thermolyse sensible (c'est-à-dire ni par la sudation, ni par une augmentation de la fréquence respiratoire).
- Une zone de lutte contre le froid, c'est-à-dire lorsque la température devient inférieure à la TCI, l'animal augmente sa thermogénèse grâce à son métabolisme, jusqu'à un maximum qualifié de métabolisme de sommet. Chez les vaches fortes productrices laitières la thermogénèse endogène peut être doublée par rapport à une vache produisant peu de lait (BERMAN, 2005) (KADZERE et al., 2002) (HANSEN, 2009). Si les températures sont trop froides (qualifiées de températures léthales inférieures), la thermolyse est supérieure à la thermogénèse et la thermorégulation n'est plus maintenue conduisant à de l'hypothermie.

- Une zone de lutte contre la chaleur (température supérieure à la TCS). Cette zone est un peu plus complexe puisque la thermolyse est la résultante de la thermolyse sensible (radiation, conduction et convection) et insensible (sudation et augmentation de la fréquence respiratoire). Les contributions de ces deux types de thermolyses varient avec l'augmentation de la température ambiante. Quand la température ambiante augmente, le gradient de température entre la température de la surface corporelle et la température ambiante diminue. Ainsi la thermolyse sensible (convection et conduction) diminue. Un autre mécanisme est alors nécessaire pour augmenter cette thermolyse, c'est la thermolyse insensible, c'est-à-dire l'augmentation d'évaporation d'eau, soit par sudation, soit par augmentation de la fréquence respiratoire.

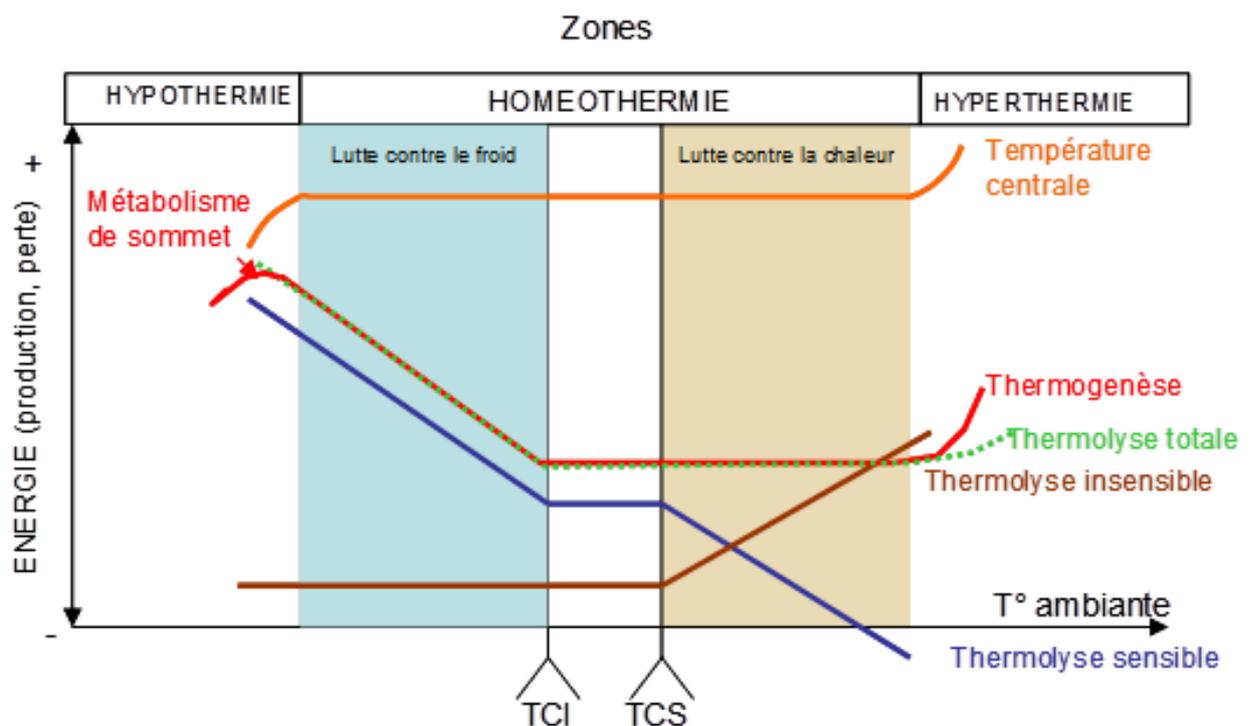


Figure 7: Représentation schématique des relations entre thermogénèse, thermolyse et température ambiante. TCI : température critique inférieure, TCS : température critique supérieure, MS : métabolisme de sommet. Source : (DASH et al., 2016)

Dans les élevages laitiers, il n'y a en général peu de problème lié à la lutte contre le froid chez les femelles productrices. Le problème majeur est la lutte contre la chaleur.

Les valeurs absolues de ces températures dépendent de leur durée d'application mais globalement, pour les bovins adultes on peut établir les fourchettes de températures ci-dessous (Figure 8).

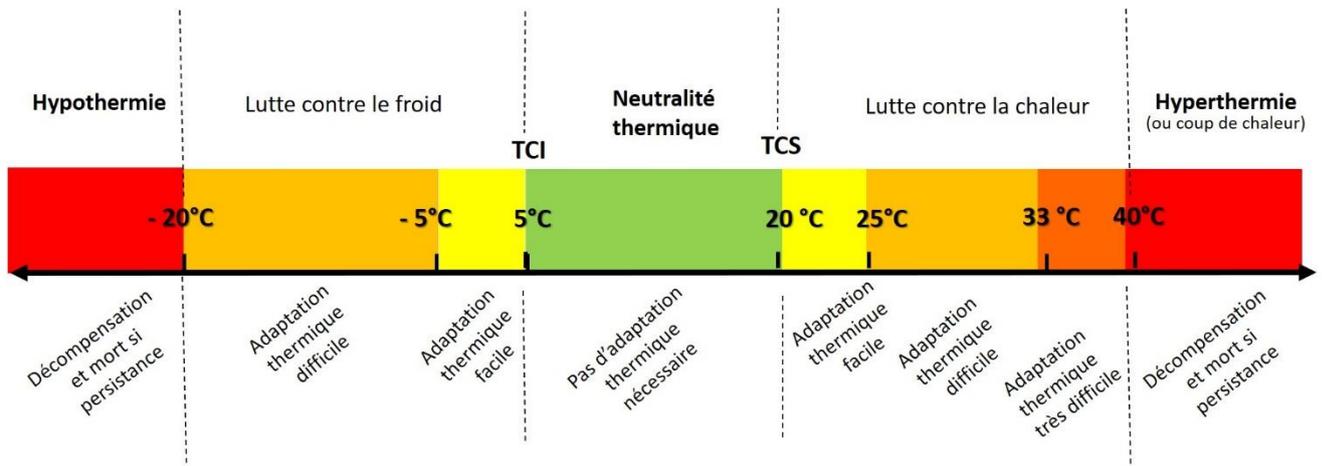


Figure 8: Figure : Adaptation des bovins en fonction des températures ambiantes

Source : d'après (BERMAN, 2005) (LENSINK and LERUSTE, 2012): Observation du troupeau bovin. France Agricole Editions, 2012

2.3. Évaluation du stress thermique

Même si plusieurs paramètres climatiques (ensoleillement, vitesse de l'air, température, humidité) influencent la thermorégulation, le stress thermique est évalué au travers la température ambiante et l'humidité relative, l'Index Température Humidité (THI).

Le THI est calculé ainsi (ARMSTRONG, 1994):

$$\text{THI} = (1,8 T + 32) - ((0,55 - 0,0055H) \times (1,8T - 26))$$

Plus le THI augmente, plus les bovins ont besoin de lutter contre la chaleur (tableau 3). Sous le seuil de 72, le THI n'induit pas de stress thermique chez les bovins (ARMSTRONG, 1994). Au-dessus de 72, le THI a des conséquences sur le métabolisme des vaches (ZIMBELMAN et al., 2009) (ARMSTRONG, 1994), qui vont d'une augmentation de la fréquence respiratoire, une recherche d'ombre, une baisse d'appétit, une diminution des performances laitières et de reproduction jusqu'à la mort de l'animal par hyperthermie. Un abaque des THI en fonction de ses effets délétères sur la physiologie et la santé des vaches laitières a été établi (figure 9).

Tableau 4.: Evaluation du stress subi par vaches laitières en fonction du THI
 Source : (ZIMBELMAN et al., 2009) (DASH et al., 2016)

THI	Niveau de stress	Impact sur les vaches
< 72	Absent	L'appétit et les performances (reproduction, production laitière) ne sont pas modifiés
72 – 80	Léger	Recherche d'ombre. Augmentation de la fréquence respiratoire, vasodilatation périphérique
80 – 90	Moyen	Recherche d'ombre. L'appétit est diminué. Augmentation de la fréquence respiratoire et de la salivation, vasodilatation périphérique, augmentation de la température corporelle ⇒ Baisse des performances de reproduction
90 – 98	Sévère	⇒ Baisse prononcée des performances de reproduction ⇒ Baisse de la production laitière de 20%
>98	Mortel	Mort si le stress thermique persiste

Humidité (%) T(C)	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
	22	65,6	66,0	66,4	66,7	67,1	67,5	67,9	68,2	68,6	69,0	69,4	69,7	70,1	70,5	70,9	71,2
23	66,6	67,0	67,5	67,9	68,3	68,7	69,2	69,6	70,0	70,4	70,9	71,3	71,7	72,1	72,6	73,0	73,4
24	67,6	68,1	68,6	69,1	69,5	70,0	70,5	70,9	71,4	71,9	72,4	72,8	73,3	73,8	74,3	74,7	75,2
25	68,6	69,2	69,7	70,2	70,7	71,3	71,8	72,3	72,8	73,3	73,9	74,4	74,9	75,4	76,0	76,5	77,0
26	69,6	70,2	70,8	71,4	71,9	72,5	73,1	73,7	74,2	74,8	75,4	75,9	76,5	77,1	77,7	78,2	78,8
27	70,7	71,3	71,9	72,5	73,1	73,8	74,4	75,0	75,6	76,2	76,9	77,5	78,1	78,7	79,4	80,0	80,6
28	71,7	72,3	73,0	73,7	74,3	75,0	75,7	76,4	77,0	77,7	78,4	79,0	79,7	80,4	81,1	81,7	82,4
29	72,7	73,4	74,1	74,8	75,6	76,3	77,0	77,7	78,4	79,2	79,9	80,6	81,3	82,0	82,8	83,5	84,2
30	73,7	74,5	75,2	76,0	76,8	77,5	78,3	79,1	79,8	80,6	81,4	82,2	82,9	83,7	84,5	85,2	86,0
31	74,7	75,5	76,3	77,1	78,0	78,8	79,6	80,4	81,2	82,1	82,9	83,7	84,5	85,3	86,2	87,0	87,8
32	75,7	76,6	77,4	78,3	79,2	80,0	80,9	81,8	82,6	83,5	84,4	85,3	86,1	87,0	87,9	88,7	89,6
33	76,7	77,6	78,5	79,5	80,4	81,3	82,2	83,1	84,1	85,0	85,9	86,8	87,7	88,6	89,6	90,5	91,4
34	77,7	78,7	79,6	80,6	81,6	82,6	83,5	84,5	85,5	86,4	87,4	88,4	89,3	90,3	91,3	92,2	93,2
35	78,7	79,7	80,8	81,8	82,8	83,8	84,8	85,8	86,9	87,9	88,9	89,9	90,9	91,9	93,0	94,0	95,0
36	79,7	80,8	81,9	82,9	84,0	85,1	86,1	87,2	88,3	89,3	90,4	91,5	92,5	93,6	94,7	95,7	96,8
37	80,7	81,9	83,0	84,1	85,2	86,3	87,4	88,6	89,7	90,8	91,9	93,0	94,1	95,3	96,4	97,5	98,6
38	81,7	82,9	84,1	85,2	86,4	87,6	88,7	89,9	91,1	92,2	93,4	94,6	95,7	96,9	98,1	99,2	100,4
39	82,8	84,0	85,2	86,4	87,6	88,8	90,0	91,3	92,5	93,7	94,9	96,1	97,3	98,6	99,8	101,0	102,2
40	83,8	85,0	86,3	87,6	88,8	90,1	91,4	92,6	93,9	95,1	96,4	97,7	98,9	100,2	101,5	102,7	104,0
41	84,8	86,1	87,4	88,7	90,0	91,3	92,7	94,0	95,3	96,6	97,9	99,2	100,5	101,9	103,2	104,5	105,8

Légende: Absence de stress Stress léger Stress moyen Stress sévère Stress mortel

Figure 9: Abaque des THI en fonction de leur effet sur la physiologie des vaches laitières
 Source : d'après Zimelman et al,2009; Dash et al, 2016; Armstrong et al, 1994

2.4. Impact du stress thermique sur le métabolisme et la production de lait

Le stress thermique modifie de nombreux paramètres physiologiques (KADZERE et al., 2002). Les pertes d'eau augmentent en raison de l'évapotranspiration et de l'augmentation de la fréquence respiratoire (MEYERHOEFFER et al., 1985). Ses effets sur la physiologie digestive sont une diminution de la prise alimentaire (BERNABUCCI et al., 2010) (KADZERE et al., 2002), et des fèces. La température corporelle est plus élevée (de 38,2 à 38,7 °C chez des bœufs Angus) et la consommation d'eau augmentée (de 17 à 27 l/j chez des bœufs Angus) (MEYERHOEFFER et al., 1985). Le stress thermique a donc des répercussions les paramètres zootechniques comme la production de lait pour des valeurs de THI supérieures à 68 (figure 10) (WEST, 2003) (BERNABUCCI et al., 2010) ou à 72 en France (PEZON, J, 2015).

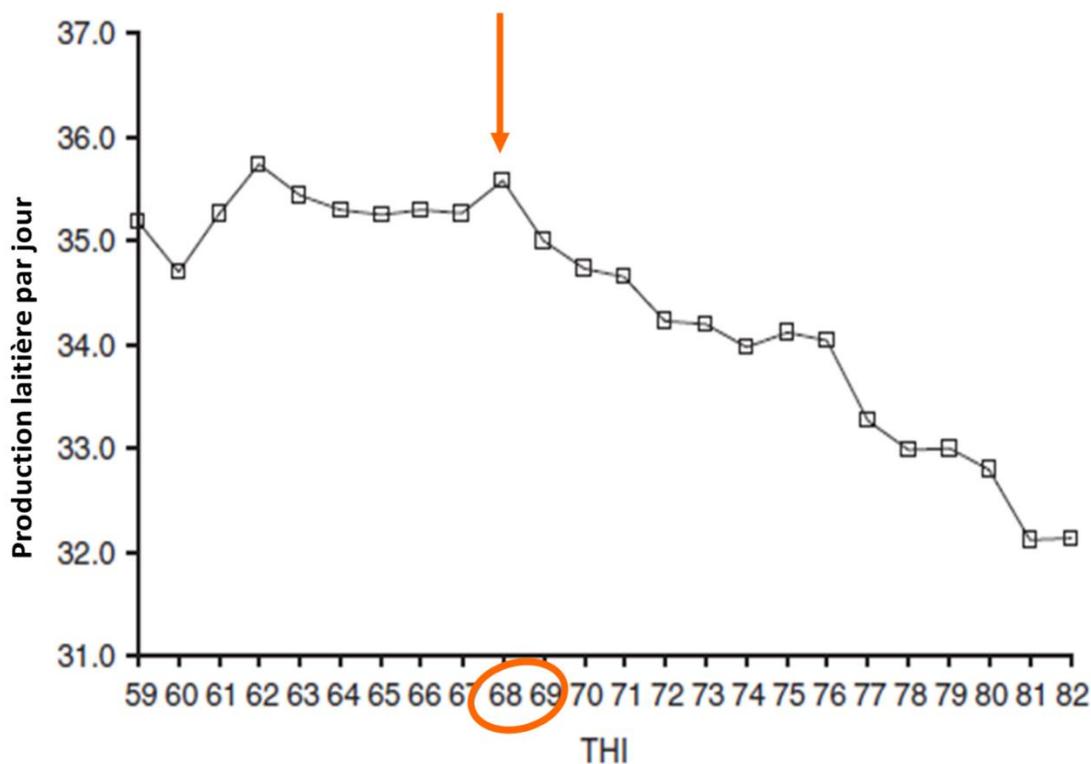


Figure 10: Production de lait e fonction du THI sur une population de 1 million de vaches laitières en Italie. Le seuil de THI au-delà duquel une répercussion sur la production laitière est observée est de 68-69.
Source : (BERNABUCCI et al., 2010)

2.5. Impact du stress thermique sur la reproduction femelle

2.5.1. Impact du stress thermique sur l'expression des chaleurs

L'impact du stress thermique sur l'expression des chaleurs a été retrouvé dans de nombreuses études (DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003). Ainsi, lors de fortes chaleurs, la durée et l'intensité des chaleurs sont réduites (YOUNAS et al., 1993) (GWAZDAUSKAS et al., 1981) (NEBEL et al., 1997) (ROTH et al., 2000) (BERNABUCCI et al., 2010). Ce phénomène

s'expliquerait par une baisse de la concentration en œstradiol 17- β qui favorise l'expression de l'œstrus (HANSEN et al., 2001). Par ailleurs, l'activité physique des vaches lors de fortes chaleurs est diminuée (HANSEN, 1997) ce qui diminue le nombre de chevauchements, marqueurs visuels des chaleurs. Ces deux facteurs contribuent à diminuer l'expression des chaleurs pendant les périodes chaudes, ce qui rend la détection des chaleurs plus difficile.

2.5.2. Impact du stress thermique sur l'activité ovarienne

Le stress thermique entraîne une altération de l'activité ovarienne, notamment de la folliculogénèse (ROTH et al., 2000). Chaque cycle se compose généralement de 3 vagues folliculaires successives. Tous les 7 à 9 jours environ, des follicules de taille supérieure à 5 mm se développent selon 3 étapes (DRION et al., 1996), recrutement, sélection puis dominance folliculaire. Ces 3 étapes sont modifiées par le stress thermique :

- Lors du recrutement, les follicules se développent en réponse à l'augmentation de la concentration en FSH. Le stress thermique augmente le nombre de follicules de taille supérieure à 10 mm lors de la 1^{ère} vague folliculaire (WOLFENSON et al., 1995) et diminue le nombre de petits follicules de 2 à 5 mm (ROTH et al., 2000). Durant la 2^{ème} vague folliculaire, ces mêmes auteurs ont constaté que le nombre de follicules de taille moyenne (6 à 9mm) augmente. Lors du cycle suivant, ils ont constaté que cette 1^{ère} vague folliculaire dure plus longtemps, et que la taille des follicules est plutôt de taille moyenne (6 à 9mm) et non supérieur à 10mm.
- Au cours de la sélection plusieurs follicules pré ovulatoires peuvent se développer (WOLFENSON et al., 1995) (DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003). De plus ces follicules pré ovulatoires émergent de manière plus précoce (ROTH et al., 2000) lors de la 2^{ème} vague folliculaire lors de stress thermique.
- La sécrétion de LH est diminuée, induisant ainsi une augmentation de la durée de la phase de dominance (WOLFENSON et al., 2000) (ROTH et al., 2000) (DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003) (ROTH et al., 2000).

Ainsi, le stress thermique ne bloquerait pas les vagues folliculaires mais en modifieraient le déroulement (ROTH et al., 2000). En conséquence, la fertilité serait diminuée puisque la dominance du follicule sélectionné est plus longue.

Par ailleurs, il a été constaté que la croissance folliculaire est perturbée en automne (BADINGA et al., 1993), si un stress thermique estival a été subi au préalable. Compte tenu de la durée de la folliculogénèse (40 à 50 jours), le stress thermique peut avoir des répercussions des mois plus tard.

2.5.3. Impact sur la sécrétion d'hormones sexuelles

De nombreuses modifications hormonales apparaissent lors de stress thermique. L'activité ovarienne est dépendante des concentrations en gonadotropines, en œstrogènes, progestérone et inhibine (MONTMEAS, 2013) (ROTH et al., 2000). Or le stress thermique induit une diminution des concentrations de progestérone (WOLFENSON et al., 1993),

d'œstrogènes (ROTH et al., 2000) (BADINGA et al., 1993) (BERNABUCCI et al., 2010), d'inhibine (WOLFENSON et al., 1995) (ROTH et al., 2000) (ROTH, 2017), et de GnRH. Concernant les concentrations de gonadotropines, les effets du stress thermique ne sont pas constants, (DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003) même une augmentation de FSH (WOLFENSON et al., 2000) (ROTH, 2017) (ROTH et al., 2000) et une diminution de LH (WOLFENSON et al., 2000) sont la plupart du temps retrouvées.

2.5.4. Impact du stress thermique sur la physiologie utérine

Le stress thermique altère l'environnement utérin. Une redistribution du flux sanguin (ROMAN-PONCE et al., 1987) est observée au dépend de l'utérus, associée à une augmentation de la température utérine. Ces modifications induisent une augmentation de la mortalité embryonnaire précoce et une altération du développement embryonnaire (RIVERA and HANSEN, 2001) ainsi qu'une production d'embryons moindre lors de stress thermique (PUTNEY et al., 1988a).

2.5.5. Impact du stress thermique sur la production d'embryons *in vivo*

Dans la plupart des études, le stress thermique a un impact négatif sur la production d'embryons produits par superovulation, tant en qualité (CORTEZ et al., 2015) (PUTNEY et al., 1988a) (PUTNEY et al., 1989b) qu'en quantité (GORDON et al., 1987) (ALFURAIJI et al., 1996) (HANSEN et al., 2001). Toutefois, dans certaines études, le nombre total d'ovocytes ou d'embryons récoltés ne diffère pas en fonction des conditions climatiques (MONTY and RACOWSKY, 1987) (PUTNEY et al., 1988b).

Par ailleurs, le stress thermique altère le développement précoce des embryons entre le 1^{er} et 7^{ème} jour et ainsi leur qualité (PUTNEY et al., 1988a). Toutefois, il semble que la résistance de l'embryon à des températures élevées augmente avec le temps (EALY et al., 1993). Les effets néfastes du stress thermique sont plus importants le 1^{er} jour post IA et sont mieux supportés par les embryons à partir du 3^{ème} jour post IA.

Ainsi, le stress thermique joue sur plusieurs paramètres conditionnant la réussite de la production *in vivo* d'embryons, de la détection des chaleurs jusqu'au développement à 7 jours post IA des embryons.

2.5.6. Conclusion sur le stress thermique et ses impact sur la fonction de reproduction femelle

Le stress thermique altère différents mécanismes physiologiques, conduisant à une hyperthermie et une baisse d'appétit (DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003) (WOLFENSON et al., 2000). Les différents modes d'action du stress thermique sont résumés sur les Figures 11 et 12. In fine, le stress thermique diminue la fertilité des vaches (figure 11).

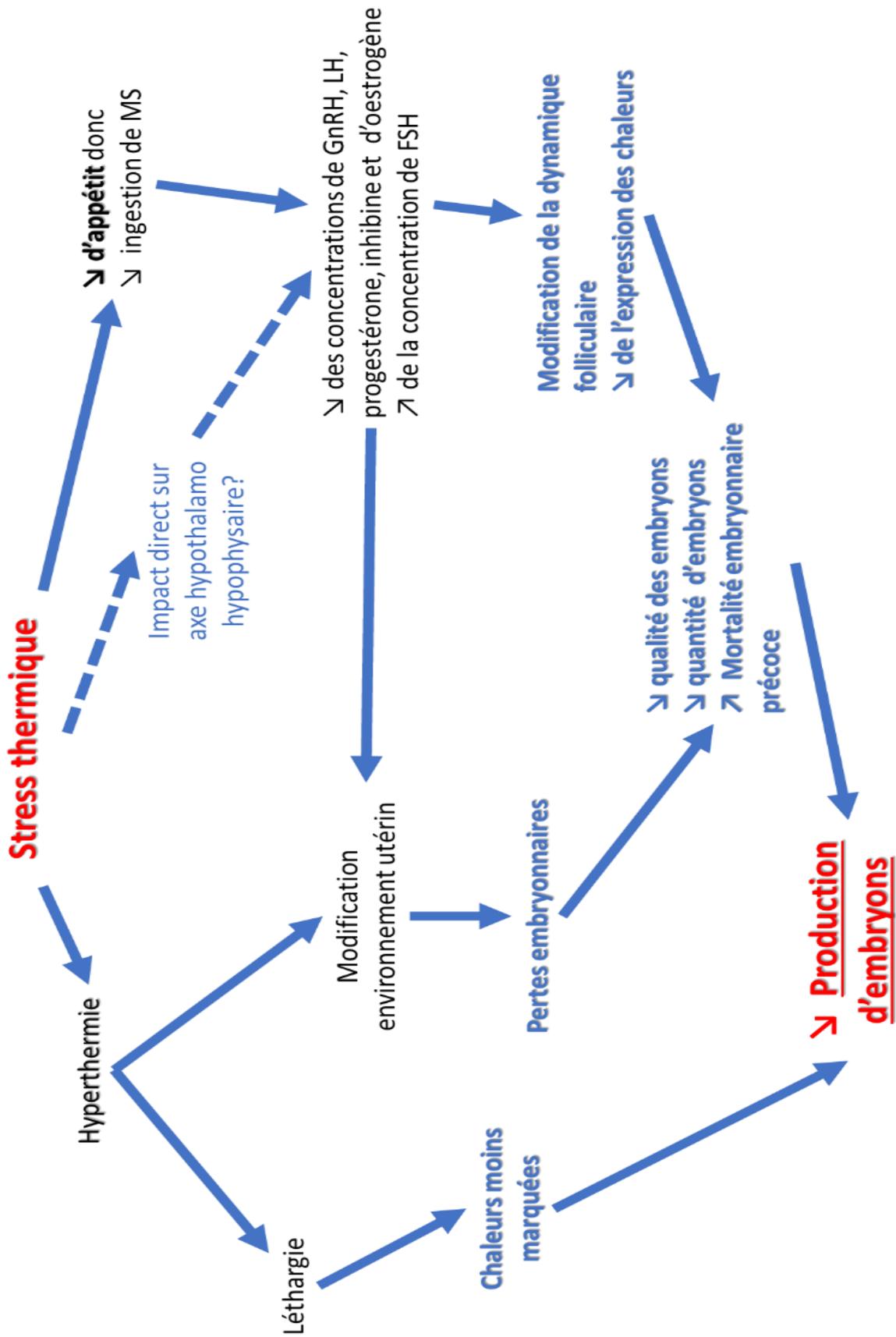


Figure 11: Effet du stress thermique sur la production d'embryons des bovins femelles
 Source : d'après (WOLFENSON et al., 2000)

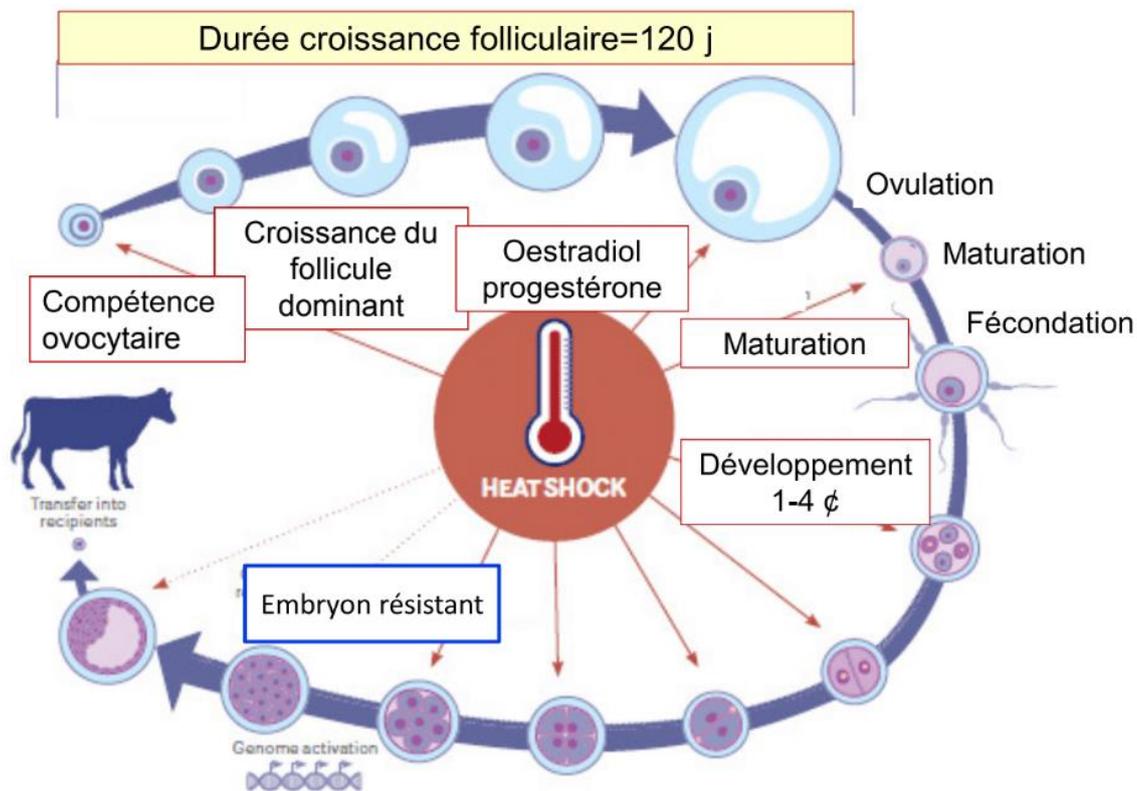


Figure 12: Impact du stress thermique de la croissance folliculaire à l'implantation embryonnaire
 Source : (HANSEN, 2013)

ETUDE EXPERIMENTALE

3. Objectifs de l'étude

Le but de cette étude est d'évaluer, dans des conditions climatiques tempérées, l'effet du stress thermique sur le nombre et la qualité des embryons produits *in vivo* par des génisses Prim'Holstein hébergées à la station d'élevage d'Auriva, à Denguin, dans le Sud-Ouest de la France.

4. Matériels et méthodes

4.1. Situations géographique et climatique de la station de donneuses d'embryons de Denguin

La station se situe sur la commune de Denguin dans les Pyrénées Atlantiques (64), dans le Sud-Ouest de la France (figure 13).



Figure 13: Situation géographique de la station de donneuses d'embryons d'AURIVA (Denguin, Pyrénées Atlantiques, France)

Source : Google Map

Le climat dans cette région est tempéré. La température moyenne était d'environ 13.4°C durant notre période d'étude de 2005 à 2015 (figure 14), avec des températures minimales et maximales mensuelles de 8.8°C et 18.6°C (figure 14).

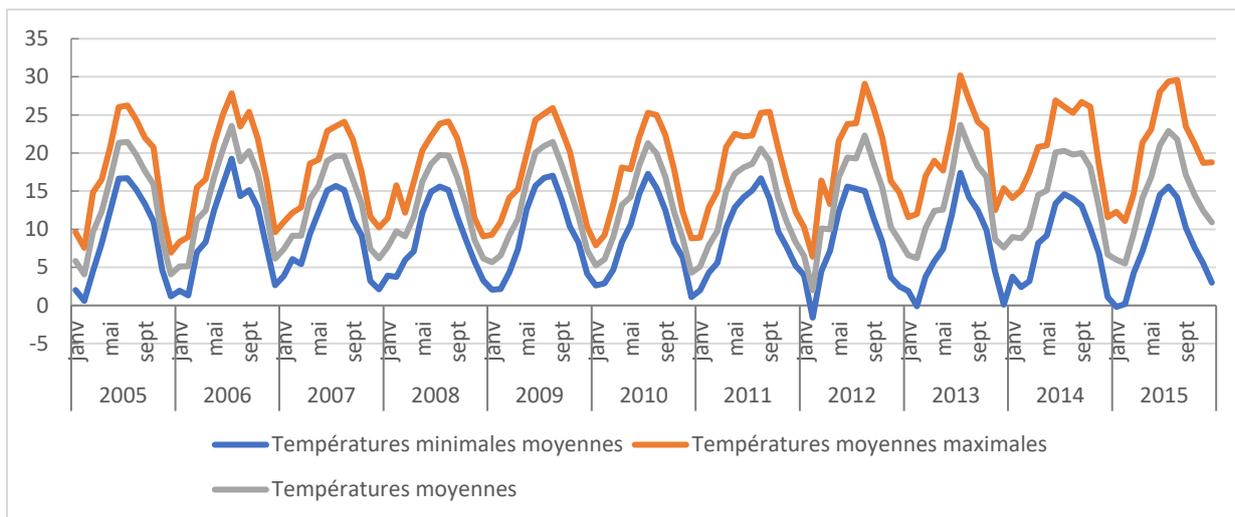


Figure 14: Evolution des températures moyennes, et des températures moyennes minimales et maximales mensuelles à Denguin de 2005 à décembre 2015, d'après les données météorologiques de la station de Denguin (2005 à 2012) et de Pau, située à 15 km de Denguin (2013 à 2015)

Les épisodes de fortes chaleurs ont été ponctuels les étés 2012, 2013 et 2015.

Le climat était relativement humide avec des précipitations moyennes de presque 900 mm/an durant notre période d'étude. L'humidité relative annuelle est en moyenne de 79.7% (figure 15).

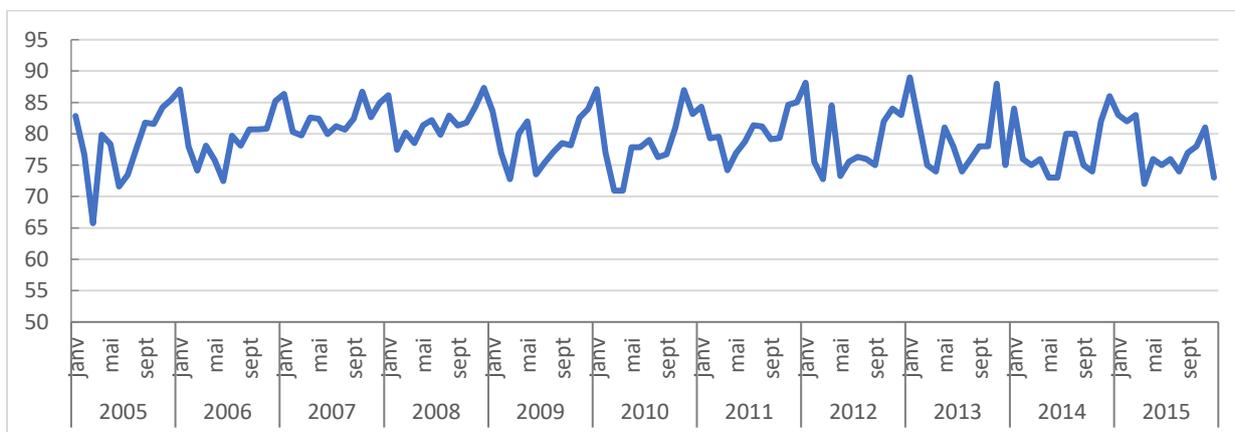


Figure 15: Evolution de l'humidité relative à Denguin de 2005 à décembre 2015, d'après les données météorologiques de la station de Denguin (2005 à 2012) et de Pau, situé à 15 km de Denguin (2013 à 2015)

4.2. Base de données

La station héberge un cheptel de génisses Prim Holstein, Blondes d'Aquitaine et Inra 95, utilisées pour la production *in vivo* et *in vitro* d'embryons. Notre base de données regroupe uniquement les génisses Prim Holstein utilisées pour la production d'embryons *in vivo*, soit 195 génisses (et 646 collectes) sur la période de 2005 à 2015.

4.3. Les génisses incluses dans notre étude

Compte tenu de la variabilité individuelle importante de la production d'embryons *in vivo*, nous avons sélectionné les donneuses et les collectes selon les critères suivants :

- Les collectes réalisées de 2005 à 2015. Durant cette période, les conditions d'élevage (ration à base de foin et concentrés) et de collectes sur la station étaient relativement standardisées. Les génisses entrées en stations sont toutes des femelles élites, dont le statut génétique a été déterminé au préalable grâce à la SAM2.
- Les génisses prélevées plus d'une fois sur la période de 2005 à 2015. En effet, les génisses donneuses d'embryons sont introduites sur la station afin pour produire des embryons, avec différents taureaux, avec un objectif de 4 collectes par génisse. Ainsi, nous avons exclu les génisses collectées une seule fois, car l'arrêt de production d'embryons après une seule collecte pourrait être dû à un problème (pathologie, accident etc.).
- Les rangs de collecte de 1 à 4 inclus

Ainsi, nous avons pris en compte 606 collectes, du 1^{er} au 4^{ème} rang de collecte, effectuées sur 195 génisses Prim Holstein collectées plus d'une fois, de 2005 à 2015 sur la station de Denguin (figure 16).

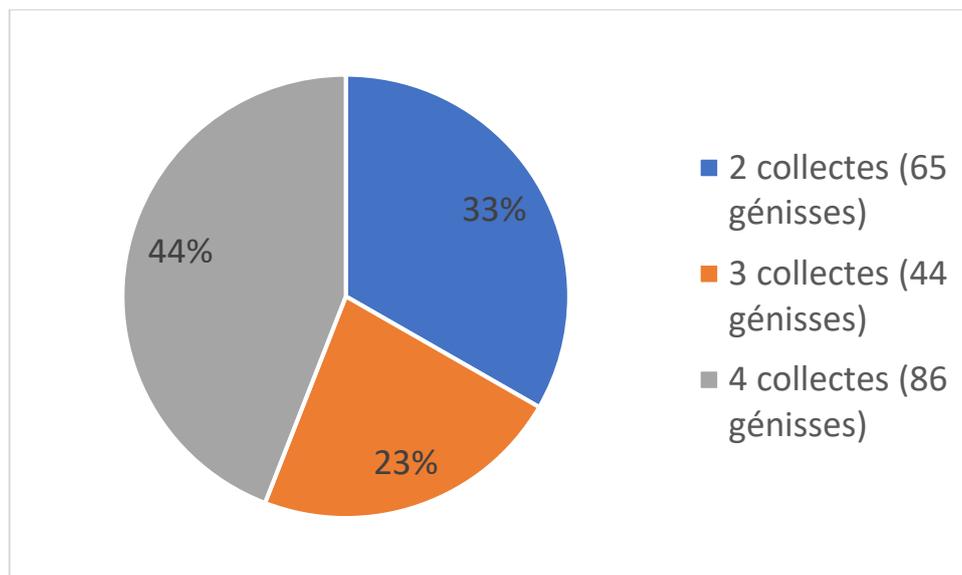


Figure 16: Répartition des 195 génisses en fonction du nombre de collectes sur la station de Denguin, sur la période de 2005 à 2015

Les génisses Prim Holstein étaient âgées de 11 à 30 mois au moment de la collecte pour une moyenne d'âge de 16.9 mois (\pm 2.4 mois) (figure 17).

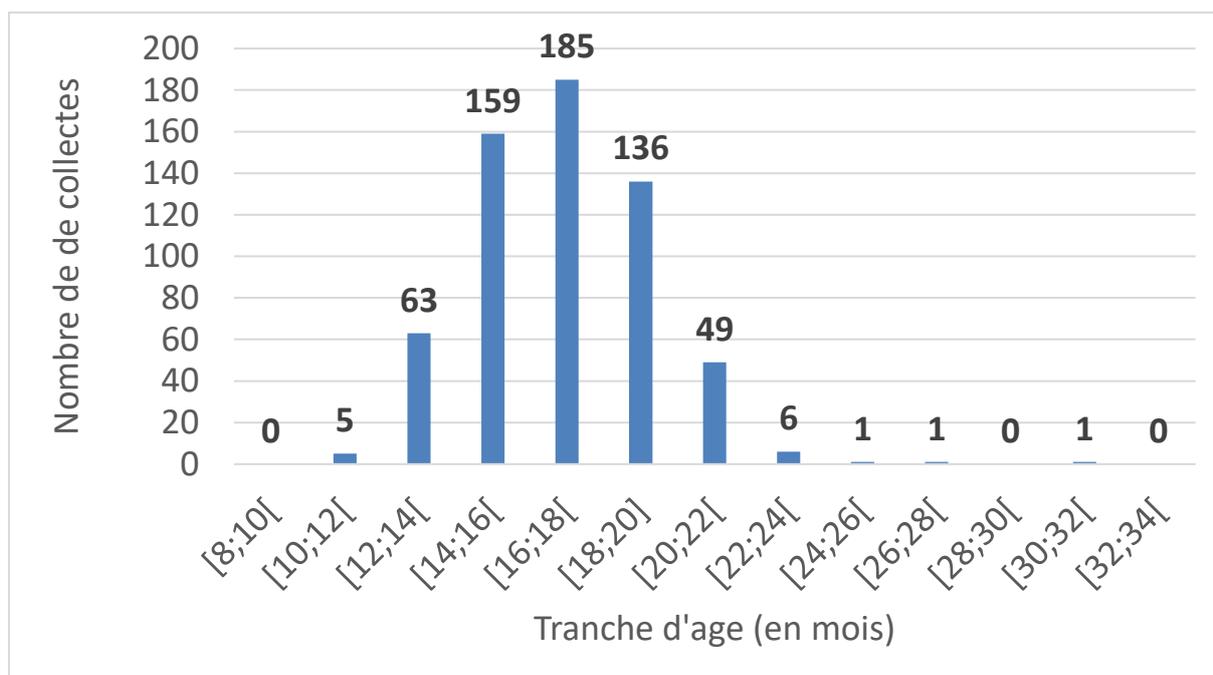


Figure 17: Répartition des 606 collectes des 195 génisses Prim'Holstein collectées à la station de Denguin en fonction de l'âge des génisses collectées sur la période de 2005 à 2015

L'âge moyen par rang de collecte est résumé dans le tableau 4 :

Tableau 5 : Age moyen [11.3 ; 30.6] selon le rang de collecte des 195 génisses Prim Holstein à la station de Denguin de 2005 à 2015

	1 ^{ère} collecte	2 ^{ème} collecte	3 ^{ème} collecte	4 ^{ème} collecte
Age moyen (en mois) [min ;max]	14.8 ± 1.62 [11.3 ; 24.3]	16.8 ± 1.77 [13.0 ; 26.7]	18.1 ± 1.44 [14.6 ; 22.0]	19.9 ± 1.75 [16.4 ; 30.6]
Age moyen global : (16.9 ± 2.1) [11.3 ; 30.6]				

L'intervalle moyen entre chaque collecte pour l'ensemble des génisses est de 60.3 jours (60.3 ± 34.6 jours).

4.4. Protocoles de superovulation sur les génisses de la station

Pour 52% des collectes, les chaleurs de référence des génisses ont été naturelles. Pour 48% des collectes, les chaleurs ont été induites avec des protocoles hormonaux (figure 18) utilisant :

- Des prostaglandines F2 α (7%)
- Un progestagène (CRESTAR ND) associé ou non à l'eCG (40%)
- Une progestérone (CIDR ND) associée ou non à l'eCG (<1%)

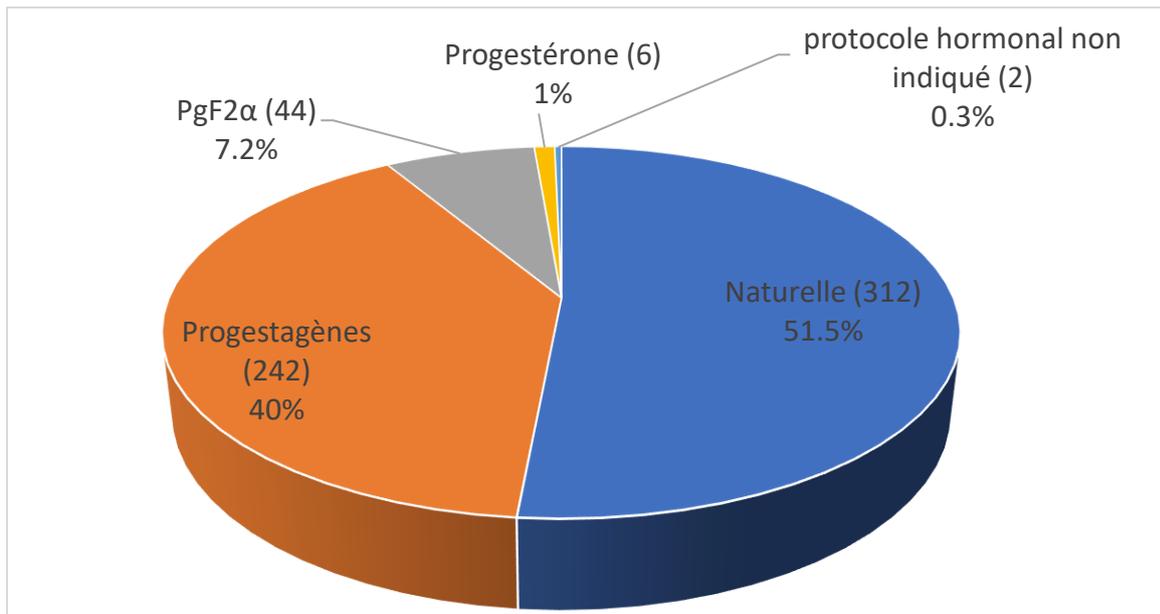


Figure 18 : Répartition des 606 collectes des 195 génisses Prim'Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015 en fonction du type de chaleurs, naturelles ou induites par différentes catégories de protocoles hormonaux

Nous n'avons pas pu prendre en compte ces différents protocoles dans notre analyse statistique. Nous avons évalué uniquement l'effet du type de chaleurs induites *versus* naturelles sur la production d'embryons des génisses superovulées.

Le protocole de superovulation a été réalisé 9 à 13 jours après les chaleurs de référence. Trois spécialités d'hormones gonadotropes ont été utilisées :

- Folltopin ND contenant uniquement de la FSH (20mg/ml).
- Deux produits combinant FSH et LH, Pluset ND (50 UI/ml de chaque) et Stimufol ND (0.05mg/ml de FSH et 0.01 mg/ml de LH).

A la fin du traitement de superovulation, la majorité des génisses (94%) a été inséminée deux fois et 6% ont été inséminées une seule fois. La 1^{ère} insémination a été réalisée 12 heures après le début d'acceptation d'un chevauchement. La 2^{ème} insémination a été réalisée 10 à 15h après la 1^{ère} IA.

Les embryons ont été collectés 7 jours après l'insémination artificielle.

4.5. Evaluation de la qualité des embryons

Les embryons récoltés ont été classés selon leur qualité, d'après les critères définis par l'IETS (ROBERTSON and NELSON, 2010) :

- Classe I : embryons de bonne ou d'excellente qualité.
- Classe II : qualité acceptable.
- Classe III : qualité médiocre.
- Classe IV : Embryon non transférable (embryon mort ou dégénéré).

Les embryons de classe I peuvent être congelés ou transférés en frais sur des receveuses. Les embryons de classe II sont transférés en frais.

4.6. Evaluation du stress thermique

Les données météorologiques ont été obtenues à partir de la station météorologique de Denguin de 2005 jusqu'à juillet 2012, et de Pau pour la période de 2012 à 2015. Le stress thermique a été évalué grâce à l'Index Température-Humidité (THI) (ARMSTRONG, 1994).

Le THI mensuel a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{THI} = (1,8t_{\text{moy}} + 32) - [(0,55 - 0,0055Hr) \times (1,8t_{\text{moy}} - 26)]$$

Avec t_{moy} : la température moyenne mensuelle, Hr : l'humidité relative mensuelle

5. Analyse statistique

L'effet de différents facteurs sur la production et la qualité des embryons obtenus sur 606 collectes de 195 génisses sur la période de 2005 à 2015 a été évalué. Les facteurs de variation sont :

- L'année
- La saison ou le THI
- Le rang de collecte
- Le type de chaleur
- Les génisses

Une analyse de variance a été utilisée pour étudier les variables d'intérêt suivantes :

- La production d'embryons par collecte
- La production de bons embryons (classe I et II selon l'IETS) par collecte
- Le taux de bons embryons par collecte

Les facteurs étudiés sont le THI (ou la saison dans un second modèle), le rang de collecte, le type de chaleurs (naturelles ou induites), ainsi que leurs interactions double et triple, et le facteur génisse. Le modèle ANOVA est décrit par l'équation suivante :

$$X_{ijkl} = \mu + I_i + R_j + T_k + C_l + (I \cdot R)_{ij} + (I \cdot T)_{ik} + (R \cdot T)_{jk} + (I \cdot R \cdot T)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

X = facteur étudié

μ = moyenne

I = THI (4 classes) ou saison (i=1...4) : hiver, printemps, été, automne dans le second modèle.

R = rang de collecte (j=1...4)

T = type de chaleurs (k=1,2) : chaleurs naturelles ou induites

C = génisse (l=1 195)

ε = erreur résiduelle

Pour ces deux modèles, les variables d'intérêt ont été transformées comme suit :

- embryons totaux récoltés par collecte par la racine :
 $\sqrt{\text{Nombre d'embryons totaux récoltés par collecte}}$
- nombre de bons embryons récoltés par collecte par la racine :
 $\sqrt{\text{Nombre de bons embryons récoltés par collecte}}$
- Taux de bons embryons récoltés par collecte :
 $\sin^{-1}(\sqrt{\text{taux de bons embryons récoltés par collecte}})$

Certains facteurs, comme l'année ou l'âge des génisses, n'ont pas pu être pris en compte dans notre modèle ANOVA. La description graphique des données (cf ci-dessous) a montré pas ou peu d'effet de ces facteurs sur la production et la qualité embryonnaire.

L'effet du THI (classes) sur le taux de non réponse en termes de pourcentage de collectes avec zéro embryon au total ou zéro embryon transférable a été analysé par un test de chi-2.

Les répétabilités intra individuelle et interindividuelle de la production d'embryons totaux et de bons embryons ont été évaluées sur les 87 génisses collectées quatre fois.

6. Résultats et discussion

Le tableau 5 présente la répartition des collectes en fonction de différents facteurs de variations (rang de collecte, type de chaleur, nombre d'IA...).

6.1. Effets de différents facteurs sur la production d'embryons et leur viabilité

L'influence de ces différents facteurs est décrite graphiquement dans les chapitres suivants.

Le tableau 6 décrit la production d'embryons et leur viabilité pour tous les facteurs testés. Ce tableau montre une forte variabilité de la production d'embryons, de 0 à 44 pour les embryons totaux, et de 0 à 33 pour les bons embryons, avec des viabilités qui s'étalent de 0 à 100%. Des analyses de variance ont permis d'évaluer les effets de la saison (ou du THI), du rang de collecte, du type de chaleurs, de l'individu sur la production et la viabilité d'embryons obtenus sur 606 collectes des 195 génisses à la station de Denguin de 2005 à 2015. Le facteur individu a un effet très significatif sur la production d'embryons totaux, de bons embryons par collecte ou sur le taux de bons embryons. Aucun des autres facteurs étudiés n'a eu d'effet significatif sur la production d'embryons ou leur viabilité, même si le rang de collecte tend à avoir un effet sur la viabilité embryonnaire ($p=0.063$, modèle avec le THI) ou sur le nombre total d'embryons ($p=0.058$, modèle avec la saison).

Tableau 6: Répartition des collectes selon le rang de collecte et le type de chaleur.

Rang collecte	Type chaleur	Type chaleur 2	Nombre de collectes
Rang de collecte 1	INDUITE	autre	3
		PGF2alpha	21
		Progestagènes progestagènes + eCG	30 52
Total collectes avec chaleur INDUITE			106
Total collectes avec chaleur NATURELLE			89
Total Rang de collecte 1			195
Rang de collecte 2	INDUITE	autre	4
		PGF2alpha	10
		Progestagènes progestagènes + eCG	64 5
Total collectes avec chaleur INDUITE			83
Total collectes avec chaleur NATURELLE			109
Total Rang de collecte 2			192
Rang de collecte 3	INDUITE	autre	1
		PGF2alpha	10
		Progestagènes progestagènes + eCG	52 1
Total collectes avec chaleur INDUITE			64
Total collectes avec chaleur NATURELLE			68
Total Rang de collecte 3			132
Rang de collecte 4	INDUITE	PGF2alpha	3
		Progestagènes progestagènes + eCG	37 1
		Total collectes avec chaleur INDUITE	
Total collectes avec chaleur NATURELLE			46
Total Rang de collecte 4			87
Total général de collecte			606

Tableau 7: Production d'embryons par collecte et qualité des embryons (moyenne \pm ET) en fonction de différents facteurs (rang de collecte, type de chaleurs, saison ou THI)

		Nombre de collectes	Nombre moyen d'embryons collectés totaux (Min ;Max)	Nombre moyen de bons embryons collectés (Min ;Max)	Pourcentage moyen de bons embryons par collecte (Min ;Max)
Type de chaleur	Induite	294	8,4 \pm 5,3 (0-30)	5,6 \pm 4,3 (0-26)	67,3 \pm 28,9 (0-100)
	Naturelle	312	8,6 \pm 6,5 (0-44)	6,0 \pm 4,9 (0-33)	70,4 \pm 29,1 (0-100)
Rang de collecte	1	195	8,9 \pm 6 (0-30)	5,8 \pm 4,6 (0-26)	65,4 \pm 29,6 (0-100)
	2	192	8,3 \pm 5,6 (0-38)	5,9 \pm 4,2 (0-21)	72,4 \pm 26,2 (0-100)
	3	132	8,4 \pm 6,1 (0-44)	5,9 \pm 4,9 (0-33)	68,3 \pm 29,8 (0-100)
	4	87	8,3 \pm 6,4 (0-36)	5,7 \pm 5,0 (0-20)	69,8 \pm 31,8 (0-100)
Saison	Hiver	155	8,9 \pm 6,2 (0-36)	5,9 \pm 4,6 (0-21)	66,1 \pm 28,4 (0-100)
	Printemps	180	9,2 \pm 6,8 (0-44)	6,4 \pm 5,1 (0-33)	70,5 \pm 28,9 (0-100)
	Été	145	8,0 \pm 5 (0-25)	5,5 \pm 4 (0-20)	69,4 \pm 29,7 (0-100)
	Automne	126	7,6 \pm 5,3 (0-22)	5,2 \pm 4,3 (0-19)	69,3 \pm 29,3 (0-100)
Classe THI	[35;45]	86	8,7 \pm 6,2 (0-36)	5,9 \pm 4,5 (0-21)	68,4 \pm 27 (0-100)
	[45;55]	192	8,8 \pm 6,1 (0-38)	5,8 \pm 4,5 (0-23)	66,3 \pm 28,9 (0-100)
	[55;65]	205	8,5 \pm 5,8 (0-30)	6 \pm 4,6 (0-26)	72,1 \pm 28,9 (0-100)
	≥ 65	123	8 \pm 6 (0-44)	5,6 \pm 4,8 (0-33)	68,1 \pm 30,5 (0-100)
TOTAL		606	8,5 \pm 6,0 (0;44)	5,8 \pm 4,6 (0;33)	68,9 \pm 29,0 (0;100)

6.1.1. Production d'embryons en fonction des années

Le nombre de collectes par an a augmenté, d'une vingtaine de collectes en 2005 à plus de cent en 2012 et 2014. La moyenne est de 83 \pm 25 collectes par an sur la station (figure 19).

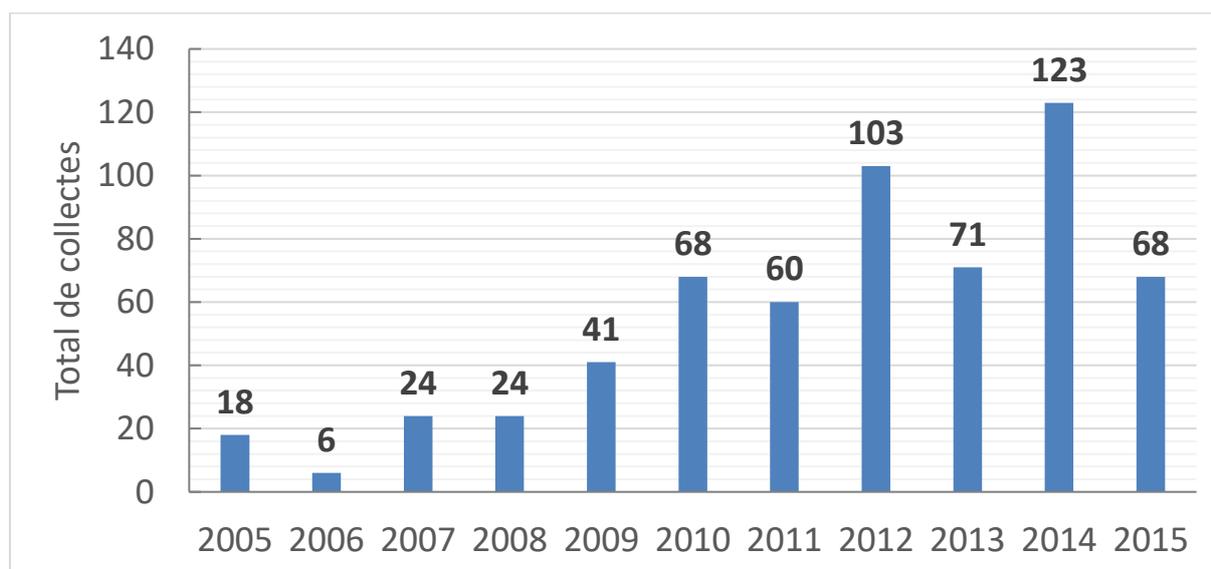


Figure 19: Evolution temporelle du nombre de collectes effectuées sur les 195 génisses Prim Holstein hébergées à la station de Denguin de 2005 à 2015.

Le nombre d'embryons collectés par an sur la station a augmenté continuellement depuis 2010. Depuis 2010, la moyenne est de 700 (± 225) embryons collectés par an.

Le nombre d'embryons par collecte est très variable puisqu'il s'étend de 0 à 44. Le nombre moyen d'embryons totaux par collecte est de 8.5 ± 1.3 embryons depuis 2005 et est relativement constant depuis 2010 (figure 20). Le nombre moyen de bons embryons obtenus par collecte est de $5.8 (\pm 0.77)$ (figure 20).

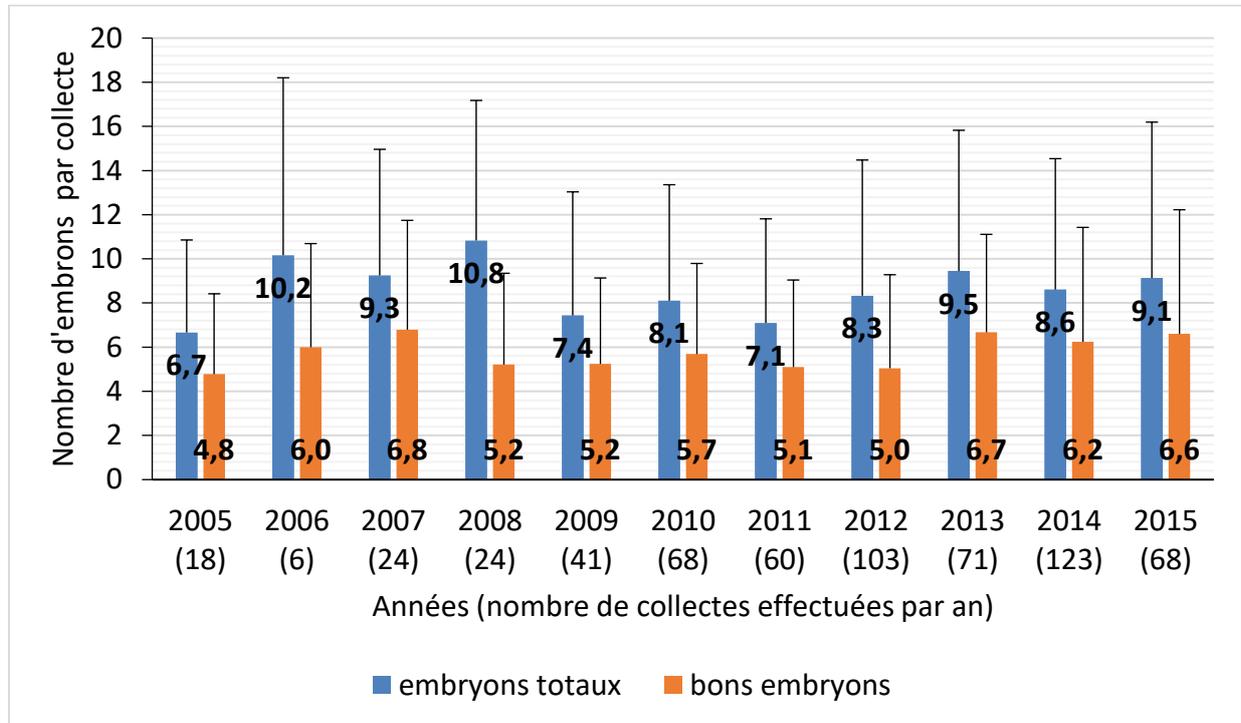


Figure 20: Evolution temporelle du nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte sur les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015

La moyenne des pourcentages de bons embryons est de $68.8 \pm 7,1$ % sur la période de 2005 à 2015. Ce pourcentage a varié de 50.5% à 73.8% selon les années (figure 21).

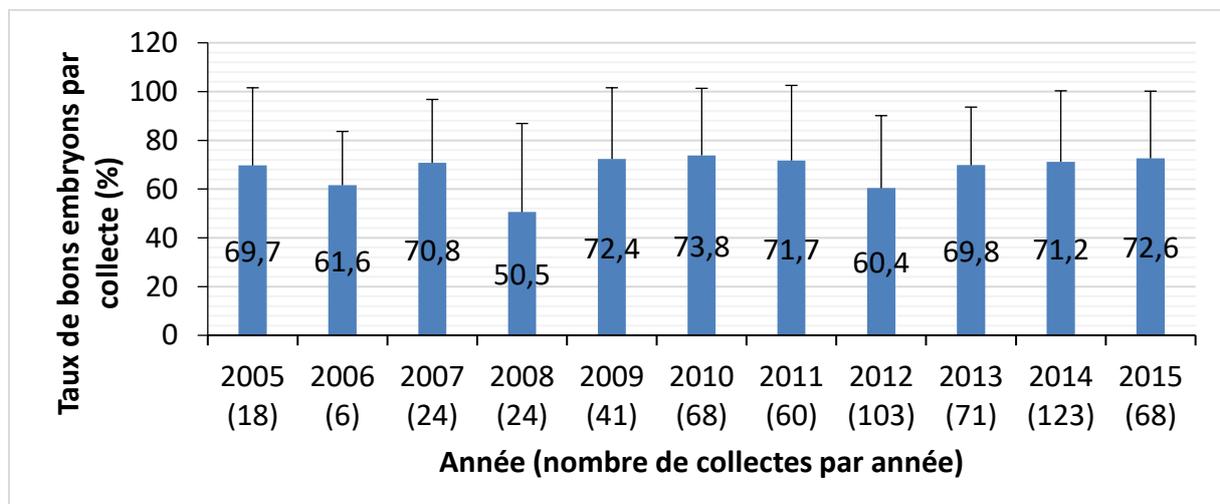


Figure 21: Evolution annuelle du pourcentage de bons embryons obtenus sur les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015

6.1.2. Production d'embryons en fonction de l'âge des génisses

L'âge ne semble pas influencer la production totale, le nombre de bons embryons et le taux de bons embryons des génisses de la station (figures 22 et 23).

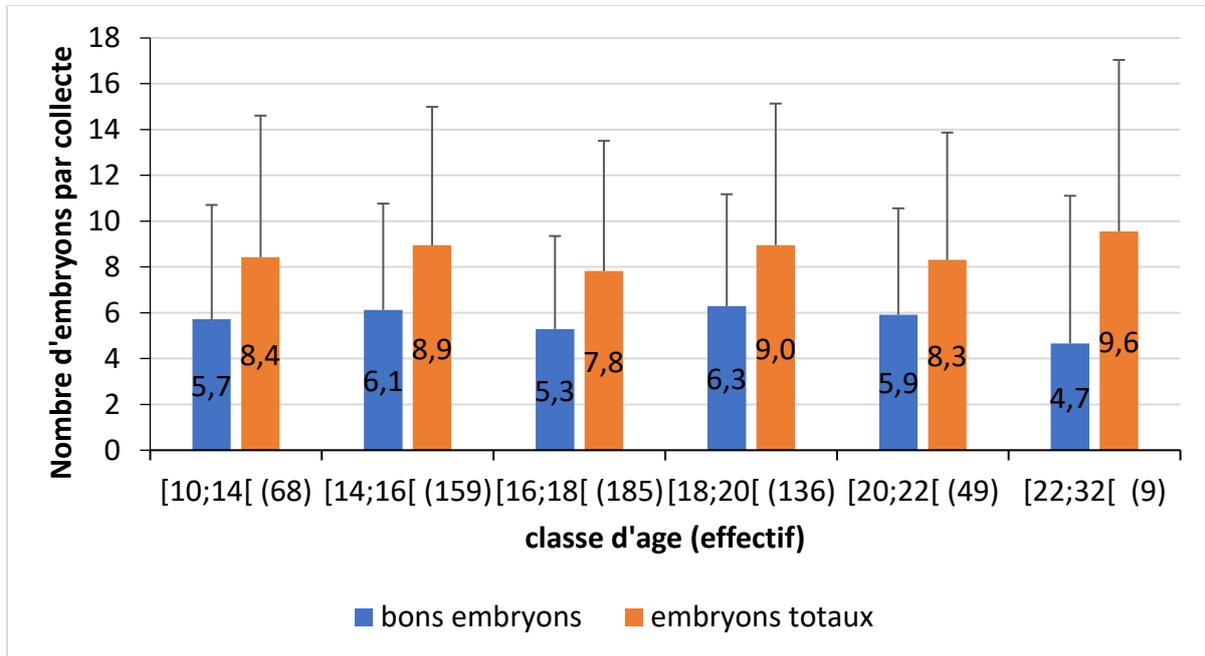


Figure 22: Evolution du nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte en fonction de l'âge des 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin de 2005 à 2015

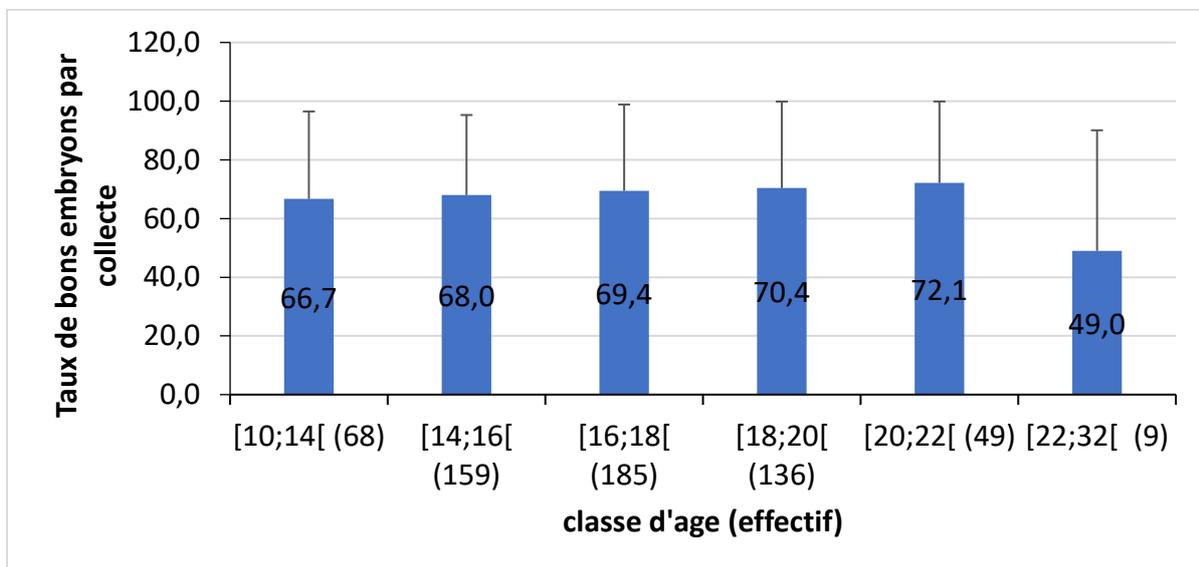


Figure 23: Evolution du taux moyen de bons embryons par collecte en fonction de l'âge des 195 génisses Prim'Holstein de la station de Denguin de 2005 à 2015

6.1.3. Production d'embryons selon le protocole d'induction des chaleurs

La production d'embryons par collecte et leur qualité en fonction du protocole d'induction des chaleurs de référence avant la stimulation gonadotrope sont décrites sur les figures 24 et 25. La production d'embryons totaux et de bons embryons par collecte a varié respectivement, de 7.4 ± 5.4 et de 4.6 ± 4.0 pour le protocole utilisant des progestagènes et de l'eCG, versus 8.6 ± 6.0 et 5.9 ± 4.7 pour les autres protocoles.

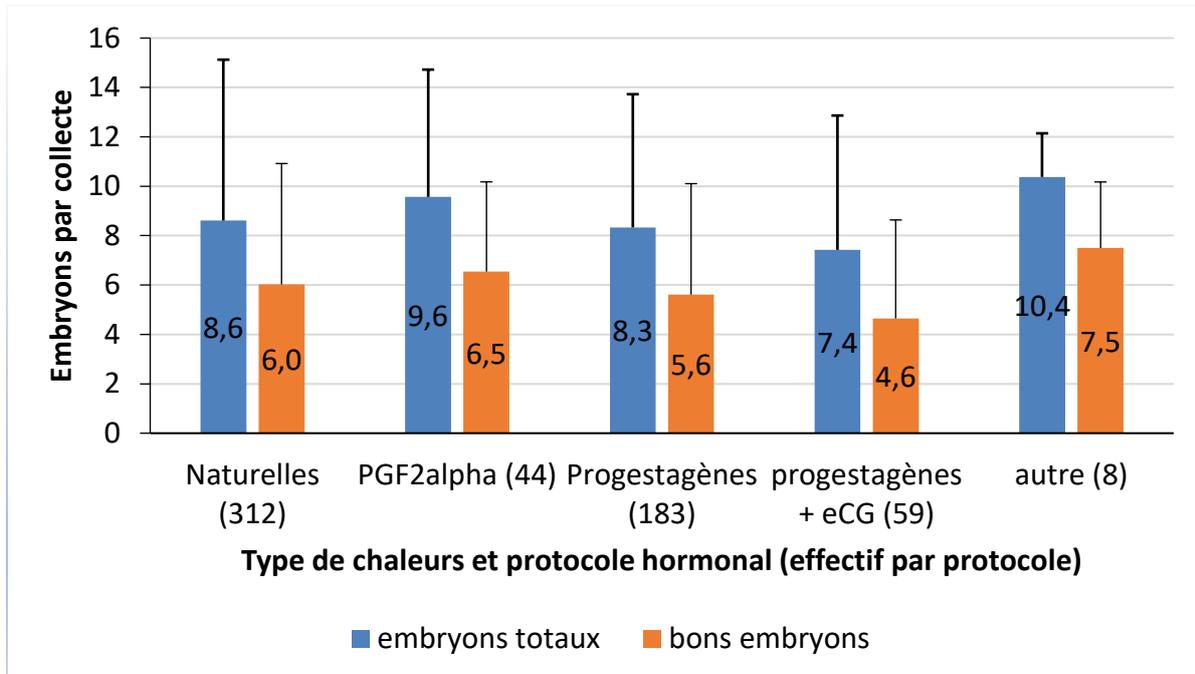


Figure 24: Nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité par collecte en fonction du type de chaleurs et du protocole d'induction des chaleurs, réalisées sur les 195 génisses Prim'Holstein de la station de Denguin de 2005 à 2015

Le taux moyen de bons embryons a varié de 66 % avec le traitement progestagènes associé ou non à l'eCG à 75 % avec le traitement prostaglandines (figure 25).

Compte tenu de la multiplicité des facteurs étudiés et du faible effectif, nous n'avons pris en compte que deux groupes (chaleurs naturelles/chaleurs induites) dans le modèle ANOVA et nous n'avons pas observé d'effet du type de chaleurs sur la production et la qualité des embryons. Cependant, d'une façon générale, la réponse au traitement de superovulation semble moins bonne avec le traitement progestagènes + eCG. Cette différence pourrait être liée au fait que ce traitement a été utilisé sur des femelles non cyclées ou dont les chaleurs étaient frustes, donc potentiellement moins fertiles.

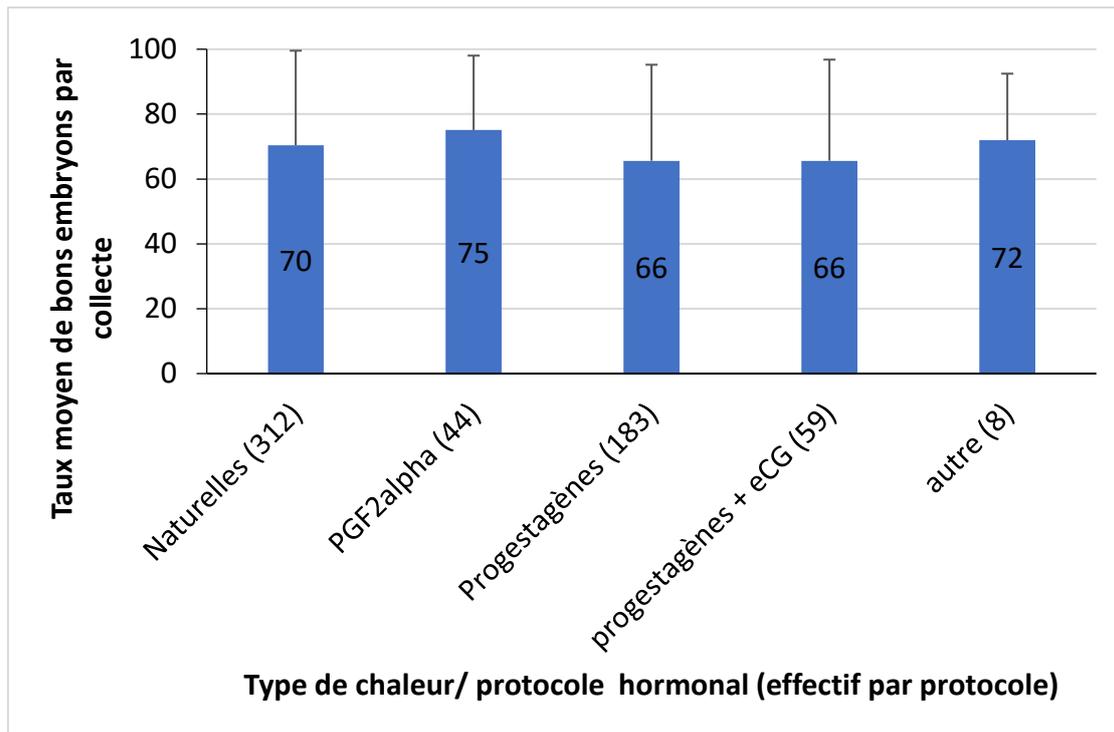


Figure 25: Taux moyens de bons embryons par collecte en fonction du type de chaleurs ou du protocole d'induction des chaleurs, sur les 195 génisses Prim'Holstein collectées sur la station de Denguin de 2005 à 2015

6.1.4. Production d'embryons en fonction de la saison

Le nombre total de collectes par mois est de 51 ± 11 . Le nombre de collectes est plus faible en été, en raison notamment de période de congé estival (figure 26).

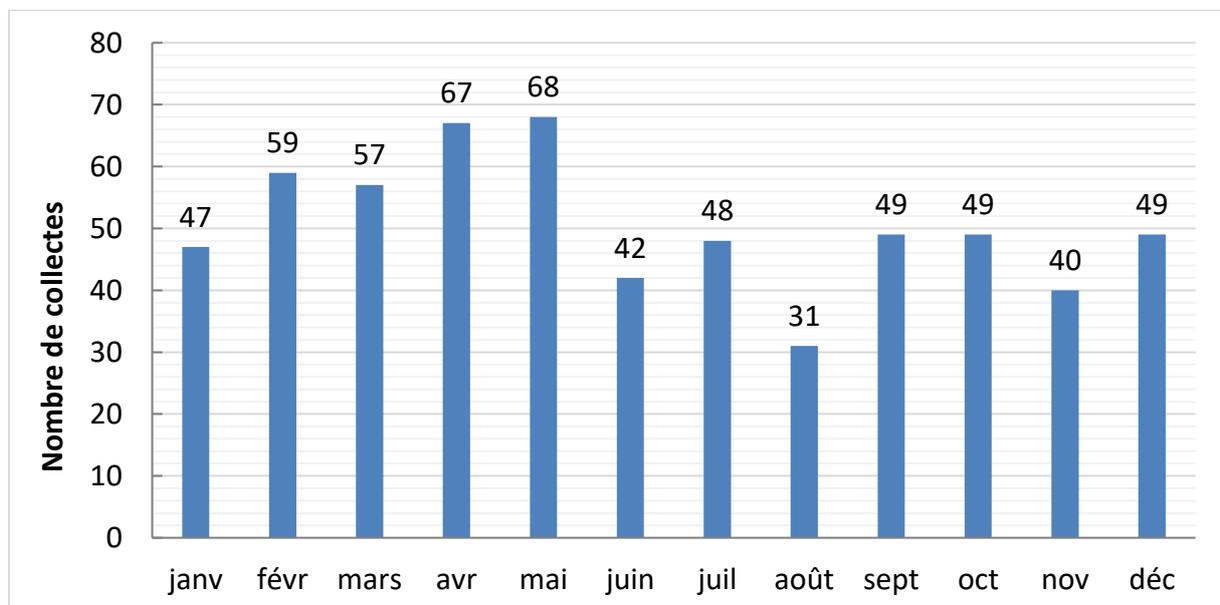


Figure 26: Nombre mensuel de collectes effectuées sur les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015

Le nombre moyen d'embryons totaux par collecte est plus faible en été et automne (7.8 ± 5.1), comparativement à l'hiver ou au printemps (9.0 ± 6.5 , figure 27). On retrouve cette même tendance pour les bons embryons.

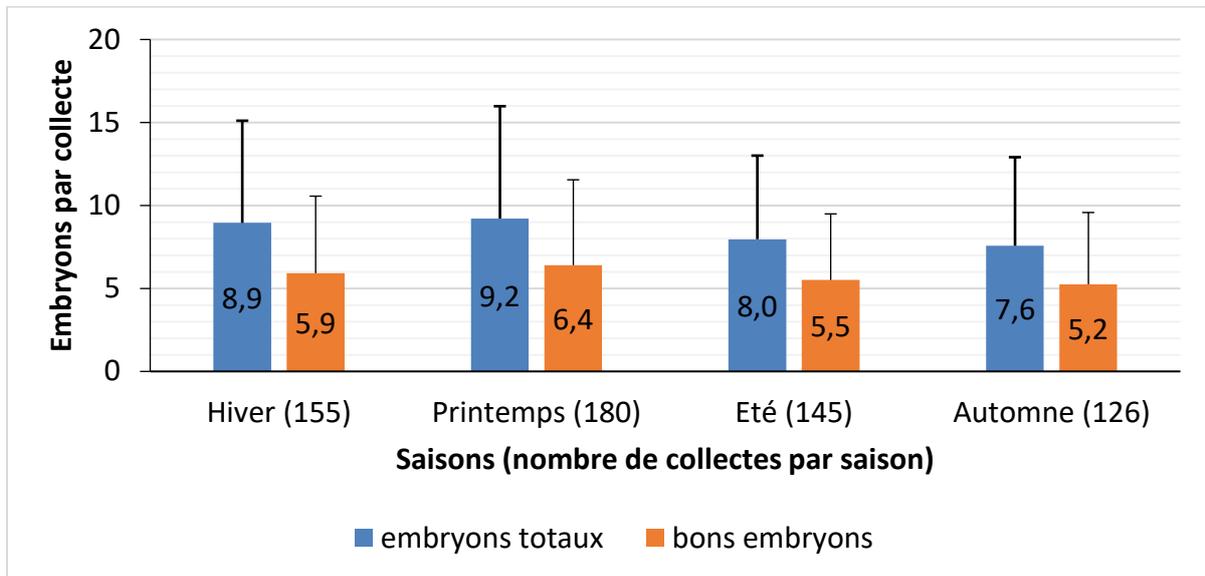


Figure 27: Nombre moyen d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte en fonction de la saison sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin sur la période de 2005 à 2015

Le taux moyen de bons embryons par collecte (68.8 ± 1.9 %) varie de 66.1 % en hiver à 70.5 % au printemps (figure 28).

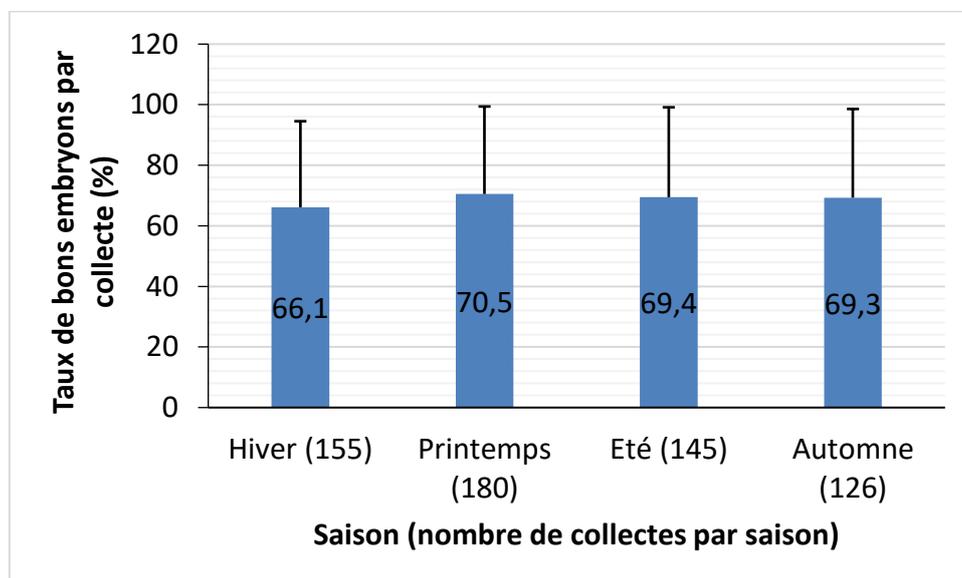


Figure 28: Taux moyen de bons embryons par collecte pour chaque saison et pour les 195 génisses Prim Holstein collectées à la station de Denguin de 2005 à 2015

6.1.5. Production d'embryons selon le rang de collecte

Les figures 29 à 31 décrivent la production d'embryons et la qualité des embryons en fonction du rang de collecte.

L'analyse de variance avec les facteurs saison, rang de collecte, type de chaleurs, et individu sur la production d'embryons totaux a montré une tendance à un effet du rang de collecte sur le nombre total d'embryons ($p=0.058$). Ainsi la production moyenne d'embryons par collecte est de 8.9 ± 6 embryons lors de la 1^{ère} collecte contre 8.3 ± 5.9 pour les autres collectes (figure 29). Ce modèle indique également une tendance ($p = 0.081$) à un effet de l'interaction de la saison et du rang de collecte. Cette interaction, représentée graphiquement (Figure 30), n'a pas de signification biologique.

Par ailleurs, le rang de collecte n'influence pas la qualité des embryons produits (figure 29).

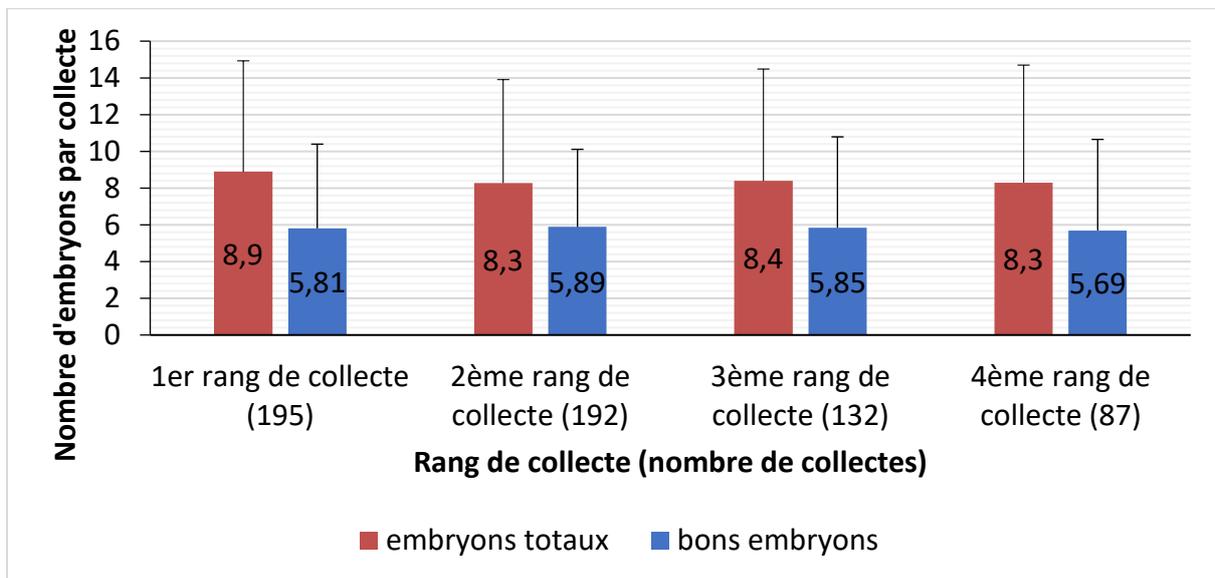


Figure 29: Nombre moyen d'embryons totaux et de bonne qualité, par collecte en fonction du rang de collecte, sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin, de 2005 à 2015

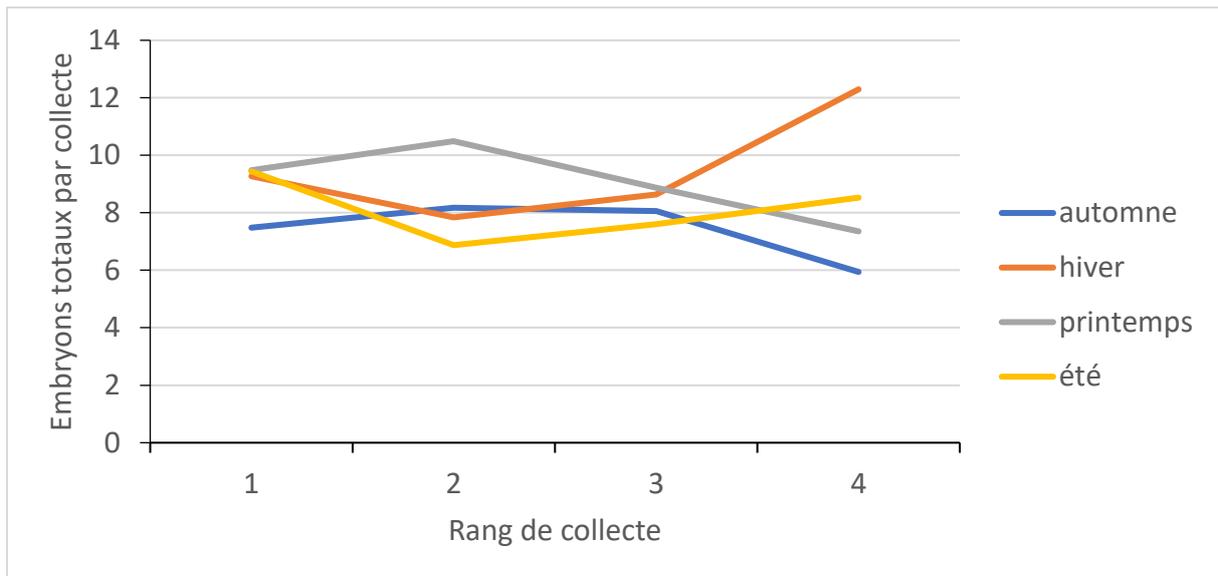


Figure 30 : Nombre moyen d'embryons par collecte en fonction du rang de collecte et de la saison, sur les 195 génisses de la station de Denguin de 2005 à 2015

L'analyse de variance avec les facteurs THI, rang de collecte, type de chaleurs, et individu a montré une tendance à un effet du rang de collecte sur le taux de bons embryons par collecte ($p=0.063$), mais cette tendance ne semble pas avoir de signification biologique (figure 31).

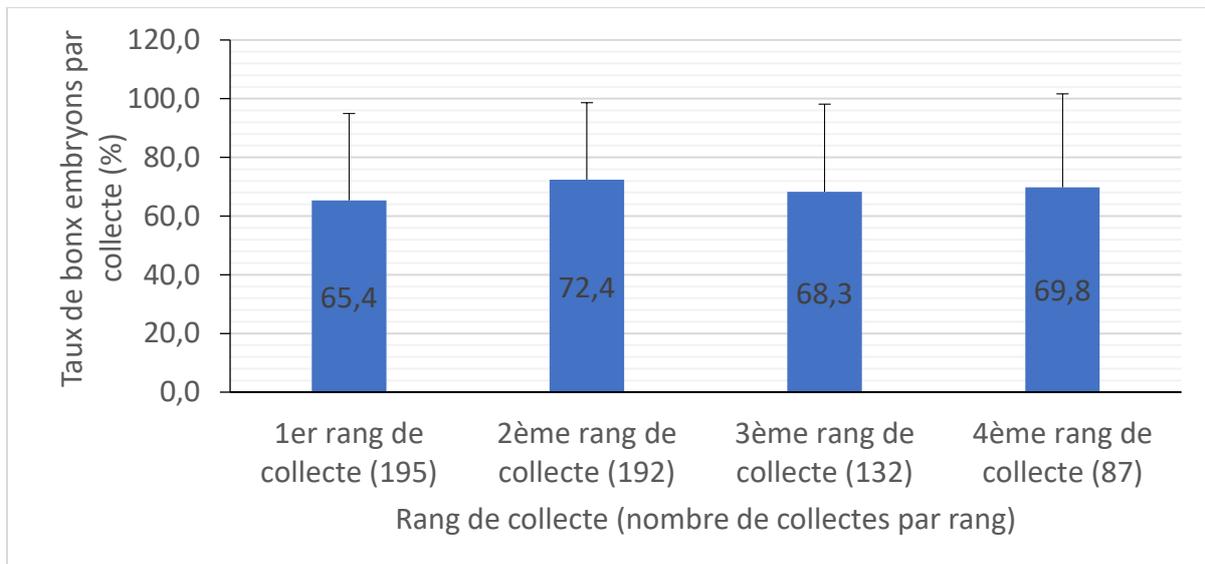


Figure 31: Taux de bons embryons collectés par rang collecte sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin, de 2005 à 2015

L'effet du rang de collecte est variable selon les études. Certaines études observent une diminution du nombre d'embryons collectés en fonction du rang de collecte (LAURTERE et al., 2001). D'autres ne mettent pas en évidence d'influence du rang de collecte sur la réponse à la superovulation (PEIXOTO et al., 2006).

6.1.6. Production d'embryons en fonction du THI

A Denguin, la saisonnalité est marquée avec des pics de THI en été (Figure 32). Les THI mensuels varient entre 38,6 et 72,6. La moyenne des THI en période estivale, de juin à septembre, est de 66.4 ± 2.64 . Les THI moyens mensuels n'ont dépassé le seuil de 72 que durant 2 mois, en juillet 2006 et 2013.

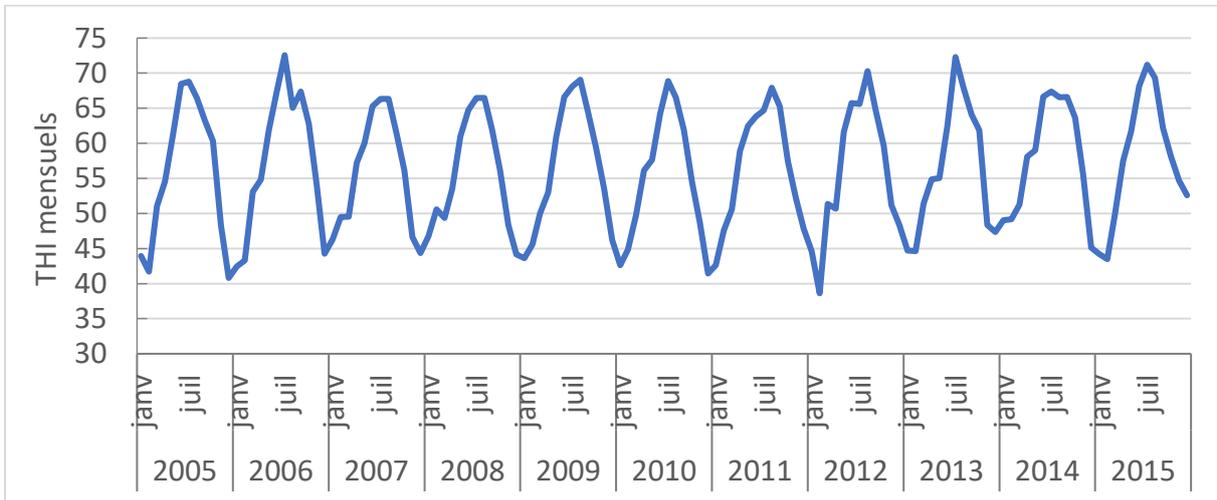


Figure 32: Evolution des THI mensuels de 2005 à décembre 2015, d'après les données météorologiques de la station de Denguin (2005 à 2012) et de Pau, située à 15 km de Denguin (2013 à 2015)

Les figures 33 et 34 représentent les valeurs individuelles du nombre d'embryons totaux et de bons embryons par collecte en fonction des THI et montrent une forte variation de la production d'embryons, pour une même classe de THI.

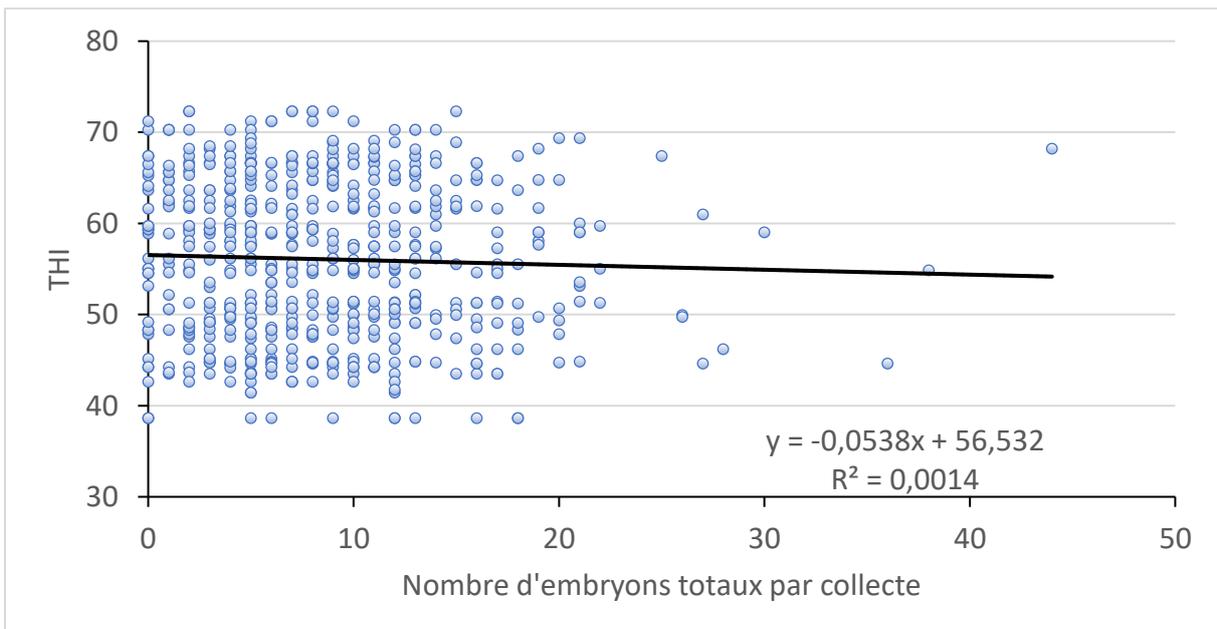


Figure 33: Nombre d'embryons totaux par collecte en fonction du THI de 2005 à 2015 sur les 606 collectes réalisées sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin

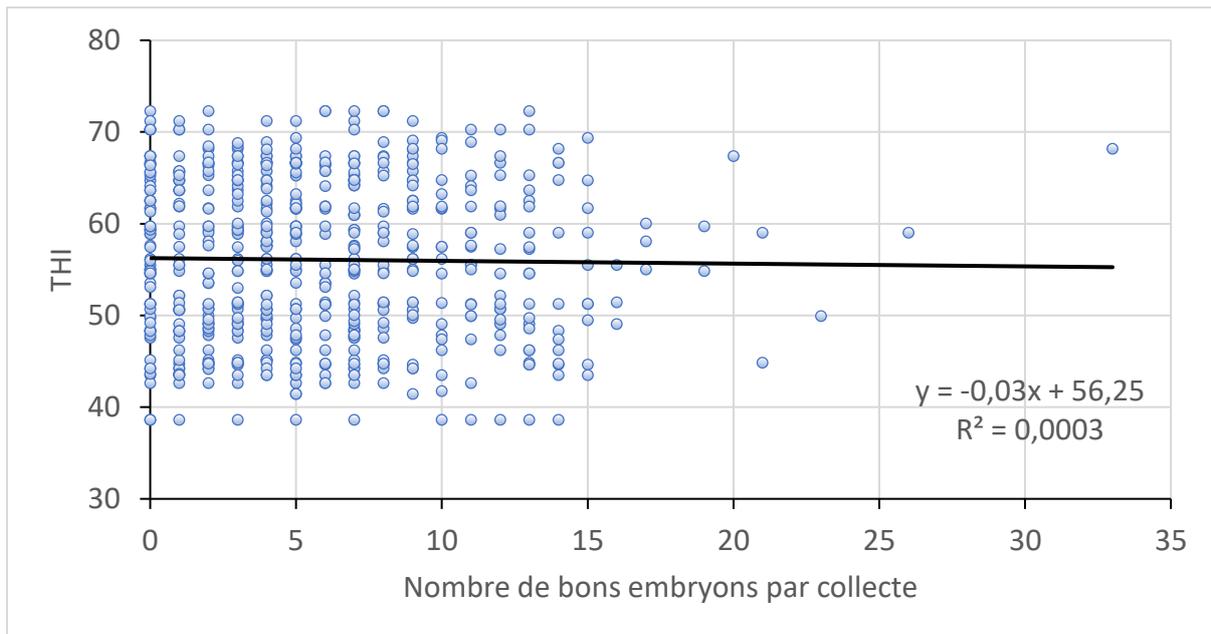


Figure 34: Nombre de bons embryons par collecte en fonction du THI de 2005 à 2015 sur les 606 collectes réalisées sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin

Les nombres d'embryons totaux, de bons embryons par collecte et le taux de bons embryons ne sont pas significativement influencés par le THI (figures 35 et 36).

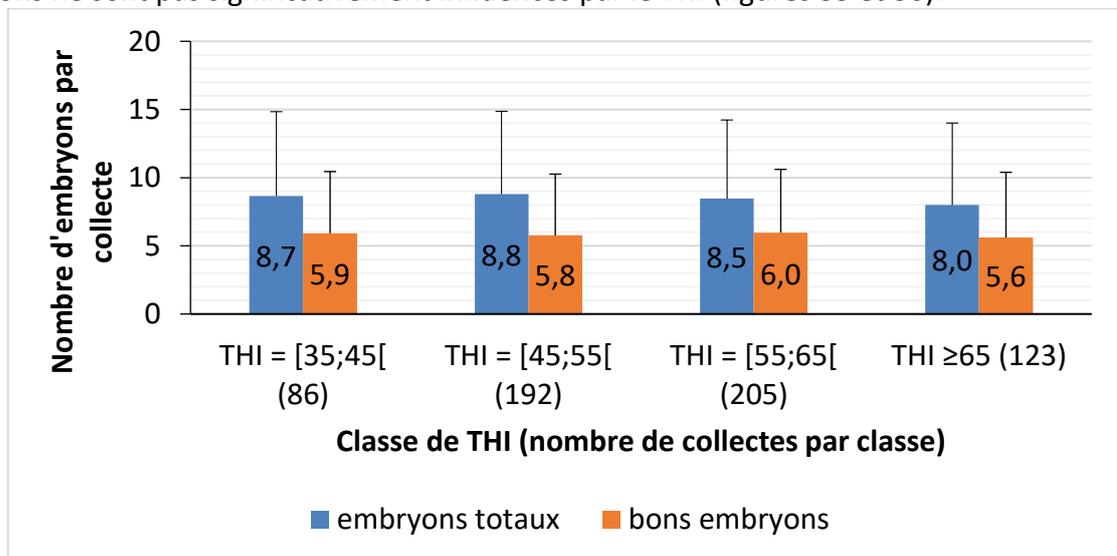


Figure 35: Nombre d'embryons, totaux et de bonne qualité, par collecte pour les différentes classes de THI sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin, collectées de 2005 à 2015

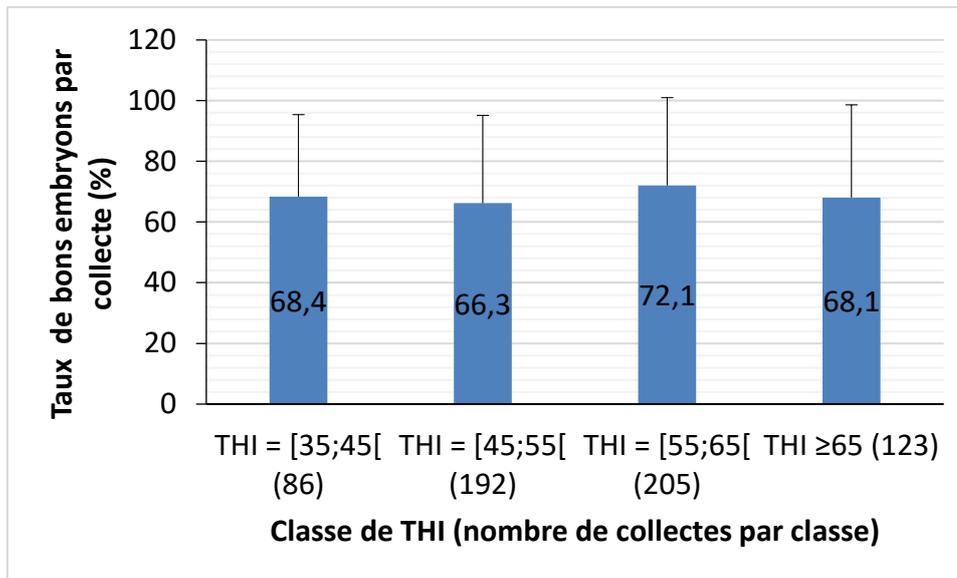


Figure 36: Taux de bons embryons par collecte en fonction du THI de 2005 à 2015 sur les 195 génisses Prim Holstein de la station de Denguin

Le THI n'a pas eu d'effet sur le taux de non réponse à la superovulation (aucun embryon collecté ou aucun bon embryon) (tableaux 7 et 8).

Tableau 8: Taux de non réponse au traitement de superovulation, en termes de nombre d'embryons collectés, en fonction de la classe de THI, sur les 195 génisses de la station de Denguin, et 606 collectes de 2005 à 2015

	Non réponse	Production d'au moins 1 embryon	Nombre de collectes
THI [35;45[5	81	86
THI [45;55[8	184	192
THI [55;65[11	194	205
THI ≥ 65	7	116	123
	31	575	606

p Chi2= 0,968143431

Tableau 9: Taux de non réponse au traitement de superovulation, en termes de nombre de bons embryons, en fonction de la classe de THI, sur les 195 génisses de la station de Denguin, et 606 collectes de 2005 à 2015

	Non réponse	Production d'au moins 1 bon embryon	Nombre de collectes
THI [35;45[7	79	86
THI [45;55[20	172	192
THI [55;65[24	181	205
THI ≥ 65	16	107	123
	67	539	606

p Chi2 =	0,846146202
----------	-------------

6.2. Etude de la répétabilité intra et inter-individuelle de la production d'embryons

La répétabilité intra-individuelle et inter-individuelle de la production d'embryons par collecte a été évaluée pour les collectes 1 et 2 (n=195 génisses) et pour les génisses collectées 4 fois (n=87 génisses) (Tableau 9).

Tableau 10: Répétabilité intra-individuelle et inter-individuelle de la production d'embryons totaux et de bonne qualité, par collecte évaluée pour les collectes 1 et 2 (n=195 génisses) et pour les génisses collectées 4 fois (n=87)

Production d'embryons par collecte pour les collectes 1 et 2 (n=195 génisses)		
Collectes	variabilité intra-individuelle	variabilité inter-individuelle
Embryons totaux par collecte	48.54%	67.6%
Bons embryons par collecte	59.44%	75.1%
Production d'embryons par collecte pour les 4 collectes 1 et 2 (n= 87 génisses)		
Embryons totaux par collecte	55.16%	66.82%
Bons embryons par collecte	68.12%	77.43%

Les répétabilités intra-individuelle et inter-individuelle du nombre d'embryons totaux et du nombre de bons embryons par collecte sont faibles (coefficients de variation très élevés). Les Figures 37 et 38 illustrent, pour les 195 génisses, l'absence de relation entre le nombre d'embryons totaux /de bons embryons produits à la première collecte et ceux obtenus à la deuxième collecte.

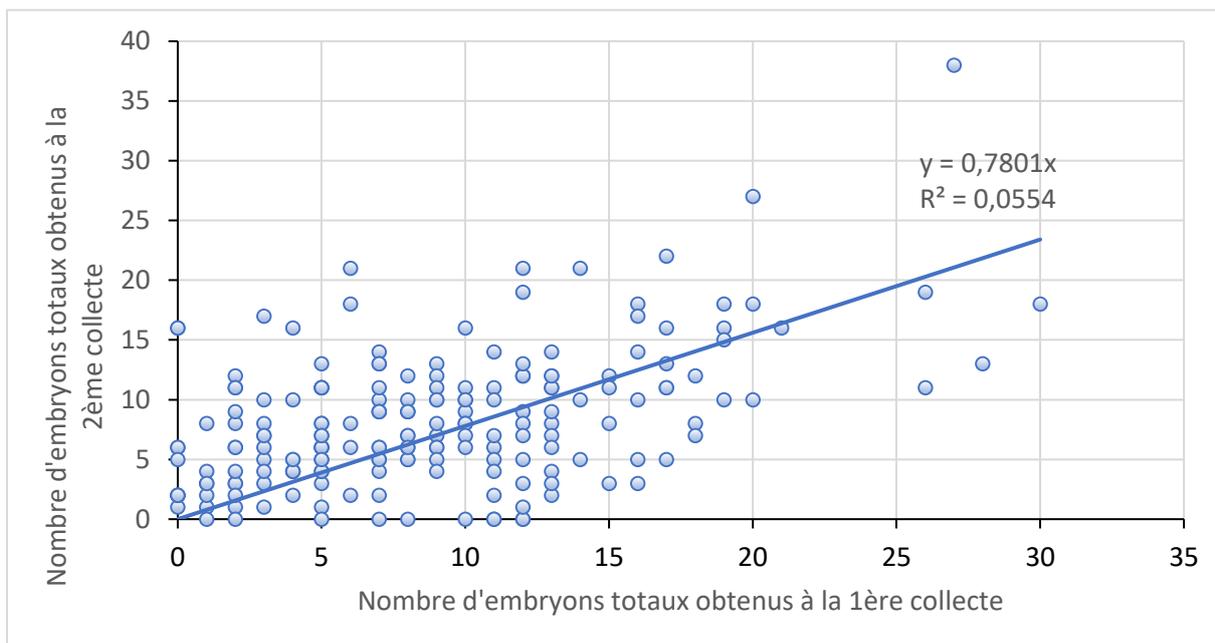


Figure 37: Relation entre le nombre d'embryons totaux produits à la première et à la deuxième collecte pour les 195 génisses collectées à la station de Denquin de 2005 à 2015

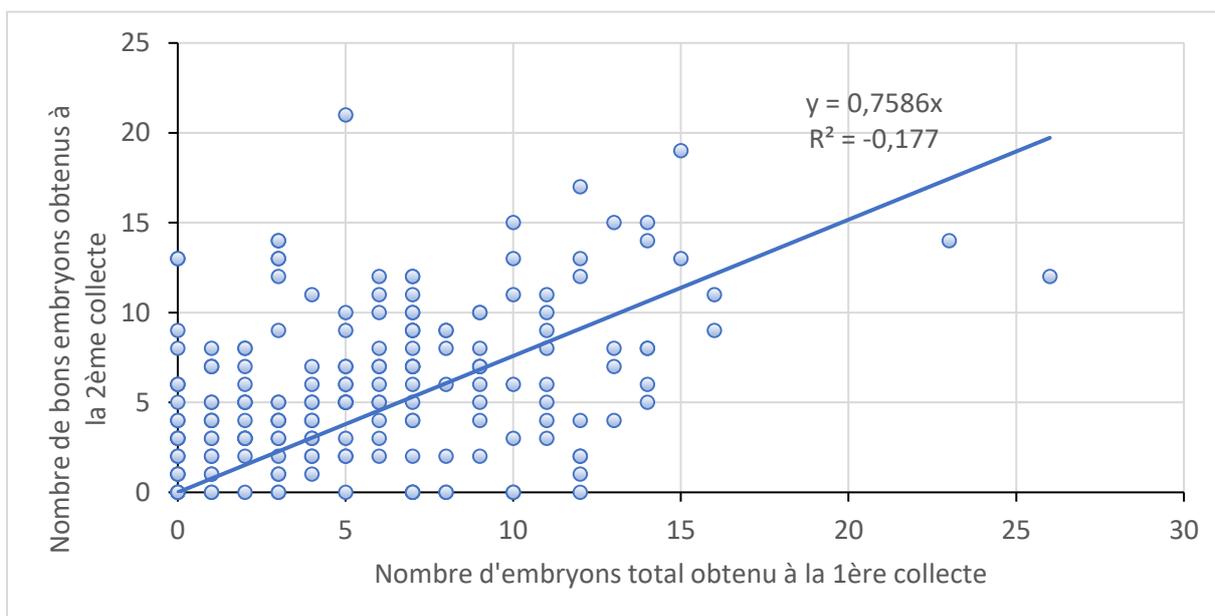


Figure 38: Relation entre le nombre de bons embryons produits à la première et à la deuxième collecte pour les 195 génisses collectées à la station de Denquin de 2005 à 2015

7. Discussion générale

Notre étude rétrospective avait pour objectif d'évaluer l'effet du THI sur la production et la qualité des embryons de génisses Prim'Holstein. Ces données ont été obtenues sur une population homogène de 195 génisses, collectées 606 fois au total. Ces femelles ont été hébergées à la station de Denguin. Les conditions de vie des femelles (alimentation, logement...), les conditions de collecte (équipe de techniciens, traitements de superovulation) ont été relativement constantes sur la période de 2005 à 2015.

Globalement, la station présente de bons résultats en termes de production d'embryons sur la période considérée. Le nombre d'embryons totaux récoltés par collecte est de 8.5 depuis 2005. Le nombre d'embryons de bonne qualité, c'est-à-dire classés en catégorie I ou II, est de 5,8 par collecte depuis 2005. En Europe, le nombre moyen d'embryons transférables par collecte, incluant les embryons classés en catégorie III, a été de 6.2 en 2015 (MIKKOLA, 2016). Cette production concerne une population à la fois de vaches pour lesquelles la production d'embryons est généralement plus importante, et de génisses (LAURTERE et al., 2001). Ces données signifient que les conditions à la station d'AURIVA sont bien maîtrisées et sont optimales pour la production d'embryons des génisses et pour étudier l'influence de différents facteurs.

Le stress thermique altère la fonction de reproduction femelle (sécrétions hormonales, folliculogénèse, qualité de l'ovocyte, développement embryonnaire précoce...)(DE RENSIS and SCARAMUZZI, 2003)(WOLFENSON et al., 2000). C'est la raison pour laquelle, nous avons évalué l'effet du THI sur la production et la qualité des embryons collectés dans les conditions homogènes de la station d'AURIVA.

Cependant, nous n'avons pas observé d'effet du stress thermique sur la production et la qualité des embryons produits *in vivo*. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce résultat :

- 1) Le stress thermique est relativement modéré dans cette région du Sud-Ouest de la France (Denguin, 64), caractérisée par un climat tempéré et plutôt de type océanique. En été, les périodes de stress thermique ne sont pas fréquentes (figure 39). De 2005 à 2015, le THI mensuel n'a dépassé 72 qu'à deux reprises (juillet 2006 et 2013) (Figure 39). Or le seuil de THI journalier généralement retenu pour mettre en évidence un stress thermique léger chez les vaches laitières est de 72 (ARMSTRONG, 1994) (DASH et al., 2016). Cependant, il est fort probable que le seuil soit plus élevé pour des femelles non productrices, comme les génisses de notre étude. Ainsi, l'impact du stress thermique dans notre étude semble peu problématique.

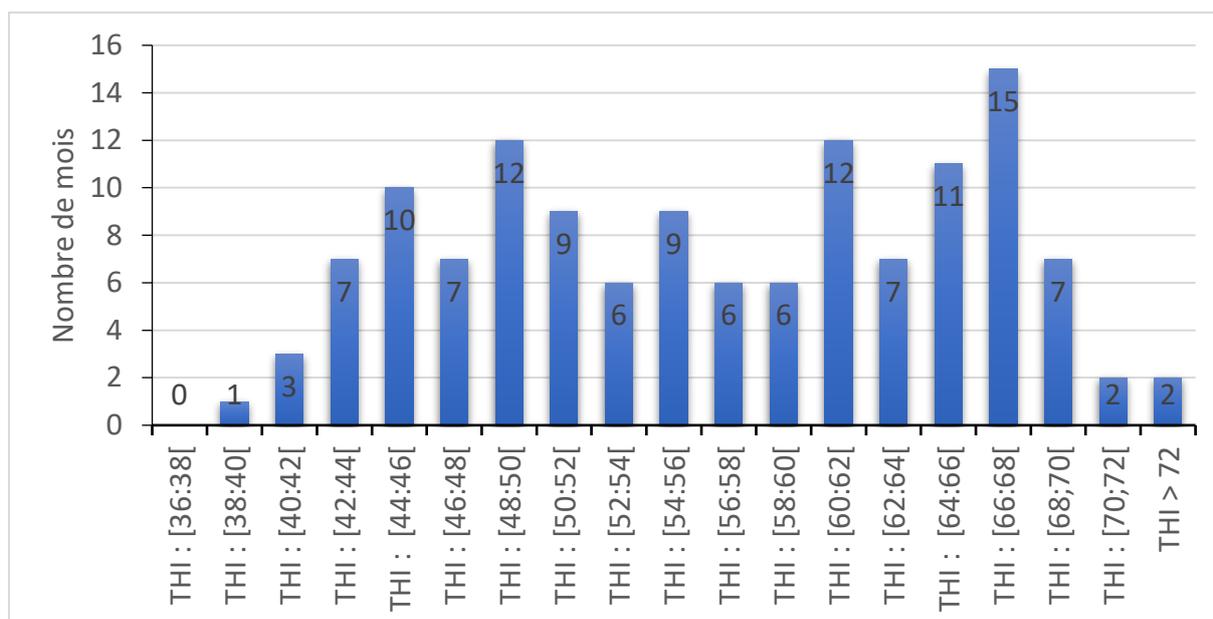


Figure 39: Répartition des THI mensuels relevés de 2005 à 2015 sur les stations météorologiques de Denguin et de Pau selon leurs valeurs

Toutefois, les humidités relatives relevées à Denguin sont relativement élevées et comprises entre 65% et 95% (moyenne de 79.7%). Dans cet intervalle d'humidité, des THI >72 peuvent être rencontrés avec des températures modérées, supérieures à 23°C. Le stress thermique peut même atteindre un niveau modéré à partir d'une température de 28°C, et sévère dès 33°C (figure 40 et tableau 41). Ainsi, avec ce taux d'humidité relativement élevé, les températures seuil sont relativement basses et pourraient être plus facilement atteintes dans le futur avec le réchauffement climatique.

Tableau 11: Evaluation du stress subi par les vaches laitières en fonction du THI.
Source : (DASH et al., 2016) (ZIMBELMAN et al., 2009)

THI	Niveau de stress	Impact sur les vaches
< 72	Absent	L'appétit et les performances (reproduction, production laitière) ne sont pas altérés
72 – 80	Léger	Recherche d'ombre. Augmentation de la fréquence respiratoire, vasodilatation périphérique
80 – 90	Moyen	Recherche d'ombre. L'appétit est diminué. Augmentation de la fréquence respiratoire et de la salivation, vasodilatation périphérique, augmentation de la température corporelle ⇒ Baisse des performances de reproduction
90 – 98	Sévère	⇒ Baisse prononcée des performances de reproduction ⇒ Baisse de la production laitière de 20%
>98	Mortel	Mort si persistance

Humidité (%) T(C)	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
	22	65,6	66,0	66,4	66,7	67,1	67,5	67,9	68,2	68,6	69,0	69,4	69,7	70,1	70,5	70,9	71,2
23	66,6	67,0	67,5	67,9	68,3	68,7	69,2	69,6	70,0	70,4	70,9	71,3	71,7	72,1	72,6	73,0	73,4
24	67,6	68,1	68,6	69,1	69,5	70,0	70,5	70,9	71,4	71,9	72,4	72,8	73,3	73,8	74,3	74,7	75,2
25	68,6	69,2	69,7	70,2	70,7	71,3	71,8	72,3	72,8	73,3	73,9	74,4	74,9	75,4	76,0	76,5	77,0
26	69,6	70,2	70,8	71,4	71,9	72,5	73,1	73,7	74,2	74,8	75,4	75,9	76,5	77,1	77,7	78,2	78,8
27	70,7	71,3	71,9	72,5	73,1	73,8	74,4	75,0	75,6	76,2	76,9	77,5	78,1	78,7	79,4	80,0	80,6
28	71,7	72,3	73,0	73,7	74,3	75,0	75,7	76,4	77,0	77,7	78,4	79,0	79,7	80,4	81,1	81,7	82,4
29	72,7	73,4	74,1	74,8	75,6	76,3	77,0	77,7	78,4	79,2	79,9	80,6	81,3	82,0	82,8	83,5	84,2
30	73,7	74,5	75,2	76,0	76,8	77,5	78,3	79,1	79,8	80,6	81,4	82,2	82,9	83,7	84,5	85,2	86,0
31	74,7	75,5	76,3	77,1	78,0	78,8	79,6	80,4	81,2	82,1	82,9	83,7	84,5	85,3	86,2	87,0	87,8
32	75,7	76,6	77,4	78,3	79,2	80,0	80,9	81,8	82,6	83,5	84,4	85,3	86,1	87,0	87,9	88,7	89,6
33	76,7	77,6	78,5	79,5	80,4	81,3	82,2	83,1	84,1	85,0	85,9	86,8	87,7	88,6	89,6	90,5	91,4
34	77,7	78,7	79,6	80,6	81,6	82,6	83,5	84,5	85,5	86,4	87,4	88,4	89,3	90,3	91,3	92,2	93,2
35	78,7	79,7	80,8	81,8	82,8	83,8	84,8	85,8	86,9	87,9	88,9	89,9	90,9	91,9	93,0	94,0	95,0
36	79,7	80,8	81,9	82,9	84,0	85,1	86,1	87,2	88,3	89,3	90,4	91,5	92,5	93,6	94,7	95,7	96,8
37	80,7	81,9	83,0	84,1	85,2	86,3	87,4	88,6	89,7	90,8	91,9	93,0	94,1	95,3	96,4	97,5	98,6
38	81,7	82,9	84,1	85,2	86,4	87,6	88,7	89,9	91,1	92,2	93,4	94,6	95,7	96,9	98,1	99,2	100,4
39	82,8	84,0	85,2	86,4	87,6	88,8	90,0	91,3	92,5	93,7	94,9	96,1	97,3	98,6	99,8	101,0	102,2
40	83,8	85,0	86,3	87,6	88,8	90,1	91,4	92,6	93,9	95,1	96,4	97,7	98,9	100,2	101,5	102,7	104,0
41	84,8	86,1	87,4	88,7	90,0	91,3	92,7	94,0	95,3	96,6	97,9	99,2	100,5	101,9	103,2	104,5	105,8

Légende: Absence de stress Stress léger Stress moyen Stress sévère Stress mortel

Figure 40: Niveau de stress thermique ressenti par des vaches laitières en fonction du THI
 Source : d'après Zimbelman et al, 2009 ; Dash et al, 2016 ; Armstrong et al, 1994

(2) Les THI pris en compte pour l'étude sont des données mensuelles et non journalières. Ainsi, avec des THI journaliers, les valeurs de THI auraient probablement été plus élevées et moins lissées. En outre, ces données ne nous permettent pas d'évaluer l'effet du THI sur une fenêtre temporelle ciblée autour de la superovulation ou du développement embryonnaire.

(3) Les vaches en lactation sont plus sensibles au stress thermique que des génisses. Le métabolisme de ces vaches est augmenté à cause de la production de lait, ce qui augmente la production d'extra chaleur. Ainsi, chez une vache laitière forte productrice (BERMAN, 2005) (HANSEN, 2009) (KADZERE et al., 2002), la thermogenèse endogène peut être doublée par rapport à une faible productrice laitière. Ainsi, lors de stress thermique, les capacités de thermorégulation de ces femelles peuvent être dépassées, ce qui peut conduire à des effets délétères sur leur production, leur reproduction, leur bien-être et leur santé. Ainsi, les génisses Prim'Holstein, dont le métabolisme est plus réduit, semblent peu sensibles au stress thermique, du moins dans les conditions des étés chauds du sud-ouest de la France.

(4) De fortes variations inter (66 %) et intra-individuelle (55%) de la production d'embryons ont été observées sur notre population de 195 génisses. Cette forte variabilité pourrait masquer un effet potentiel du THI sur la production ou la qualité des embryons. Cette variabilité interindividuelle de la réponse à la superovulation, qui constitue le principal frein au développement de cette biotechnologie, a déjà été rapportée, notamment chez les bovins (MONNIAUX et al., 2010). Elle est en grande partie liée à la population folliculaire au moment de l'instauration du traitement de superovulation, qui dépend elle-même des concentrations d'hormone anti-mullérienne de l'individu. C'est pourquoi, la variabilité intra-individuelle est généralement peu élevée (MONNIAUX et al., 2010), ce qui signifie que la production d'embryons pour un individu est relativement constante au cours du temps. Dans notre étude, la répétabilité intra-individuelle (55%), quoique plus faible que la variabilité interindividuelle (66%) est très élevée. Elle pourrait être liée au jeune âge de nos génisses, majoritairement entre 12 et 22 mois lors des collectes d'embryons.

Les effets du stress thermique sur la fonction de reproduction femelle chez les bovins ont été étudiés dans de nombreuses études et sur différents paramètres (folliculogenèse, stéroïdogénèse, production d'embryons et taux de gestation) (tableau 11). Huit études montrent un effet du stress thermique sur la production ou la qualité embryonnaire. Trois d'entre elles ont été réalisées sur des vaches multipares Holstein et trois d'entre autres sur des génisses Holstein, soumises à des conditions de stress thermique importantes (conditions de température contrôlées à 42 °C ou climat subtropical en Floride). Ces conditions expérimentales plus drastiques expliquent sans doute la différence d'effet du stress thermique sur la production ou la qualité des embryons par rapport à notre étude.

Tableau 12: Synthèse bibliographique des effets du stress thermique sur la fonction de reproduction femelle chez les bovins
Effets sur : ● les concentrations hormonales ; ● la production d'embryons ; ● sur la croissance folliculaire ; ● le taux de gestation

Auteurs	Conditions	Influence du stress thermique sur les paramètres de reproduction
(ALFURAJI et al., 1996)	- Arabie Saoudite (Climat semi-aride) - 20 Prim Holstein superovulées multipares	- Diminution de la quantité et de la qualité des embryons obtenus - Pas de modification des concentrations en œstradiol et progestérone
(BADINGA et al., 1993)	- Environnement subtropical (Moyenne maximale de température de 32.5°C) - 23 Prim Holstein multipares	- Pas d'effet sur la 1ere vague folliculaire (1er au 7eme jour) - Augmentation de la taille des follicules dominants → Modifie la sélection folliculaire et la dominance, et diminue la qualité des follicules - Augmentation de la concentration en œstradiol
(BENYEI et al., 2003)	- Brésil - 100 vaches Prim Holstein multipares superovulées - THI de 70.74 à 79.74 en moyenne	- Diminution de la quantité d'embryons produits et de bons embryons
(BIGGERS et al., 1987)	- Chambre expérimentale - Hereford et Hereford x Angus - 22°C et 35% humidité ou 37°C à 33°C avec soit 38% ou 27% d'humidité	- Pas de modification du taux de gestation
(DROST et al., 1999)	- Etats Unis (Floride, sur 3 ans) - 150 Prim Holstein multipares	- Diminution du taux de gestation
(EALY et al., 1993)	- Floride (juin à septembre) - enclos avec ou sans ombre - 20 Prim Holstein multipares superovulées	- Diminution de la qualité des embryons - Résistance au stress thermique à partir du 3ème jour post IA
(GARCÍA-ISPIERTO et al., 2007)	- Nord-est de l'Espagne - 1735 vaches prim Holstein	- Diminution du taux de gestation
(GWAZDAUSKAS et al., 1981)	- Chambre expérimentale - 10 Prim Holstein - 32°C à 67.2% d'humidité	- Raccourcissement de la durée de l'oestrus - Diminution de la concentration en œstradiol - Pas de modification des concentrations en LH
(MONTY and RACOWSKY, 1987)	- Etats Unis (Arizona) - 120 Prim Holstein superovulées - Enclos avec ombre de juin à septembre et d'octobre à mai	- Augmentation du nombre d'ovocytes non fécondés - Diminution de la qualité des embryons
(PAGE et al., 1989)	- Etats Unis (Georgia) - Moyenne de 26°C durant l'été avec une Température minimale moyenne de 19.8°C	- Comparaison de deux protocoles de super ovulation (Folltropin et FSH-P)
(PUTNEY et al., 1988a)	- Chambre expérimentale - 29 génisses - Chambre expérimentale du 1er au 7ème jour post IA à 20°C ou 30°C pendant 16h par jour, ou 8h à 42°C par jour	- Diminution de la qualité des embryons
(PUTNEY et al., 1989a)	- Floride - 55 génisses Prim Holstein superovulées avec FSH	- Pas d'incidence sur la quantité d'embryons produits par superovulation - Diminution de la qualité des embryons produits par super ovulation
(PUTNEY et al., 1988b)	- Etats Unis (Texas, Mississipi, Oklahoma) - Etude rétrospective sur la station de	- Aucun effet du stress thermique

	donneuses allaitantes et laitières, multipares ou génisses	
(PUTNEY et al., 1989b)	- Chambre expérimentale - 16 génisses superovulées dont 6 en conditions de stress thermique : 10h à 42°C et hum : 75%	- Diminution de la qualité des embryons produits
(RIVERA and HANSEN, 2001)	- Cultures d'oocyte et d'embryons - À 38.5°C, 40°C ou 41°C	- Altération du développement embryonnaire jusqu'à 8 jours
(ROMAN-PONCE et al., 1987)	- Floride - 3 vaches multipares avec accès ou non à un abri	- Diminution du flux sanguin vers utérus
(ROTH et al., 2000)	- Israël - 13 Prim Holstein multipares 90 jours PP à 35kg/j - Entre 19 et 30.5°C - Entre 89 et 51% d'humidité	- Modification de la dynamique folliculaire
		- Augmentation de la concentration en FSH - Diminution de la concentration en inhibine
(SARTORI et al., 2002)	- Etats Unis (Wisconsin) - 50 vaches (génisses ou multipares, en lactation ou tarées)	- Les génisses sont plus fertiles que les multipares - Les embryons produits par les génisses sont de meilleure qualité que ceux des multipares - Baisse de la fertilité en été
(SCHULLER et al., 2014)	- Allemagne - 1 150 vaches Prim holstein - De mai 2010 et octobre 2012.	- Baisse du taux de gestation à 31 jours suite à un stress thermique e jour de l'IA
(WILSON et al., 1998)	- Chambre expérimentale - 11 vaches multipares à 29°C et 60% humidité ou 19°C et 60% humidité pendant un cycle ovarien	- Retard de la lutéolyse - Non ovulation des follicules dominants de la 2ème vague folliculaire → Fonction ovarienne modifiée
		- Diminution de la concentration en œstradiol
(WOLFENSON et al., 1997)	- Cultures cellulaires - 19 Prim Holstein	- Diminution de la concentration en œstradiol
(WOLFENSON et al., 1995)	- 12 vaches multipares - Pas d'accès à l'article	- Augmentation du nombre de gros follicule (>10mm) et de follicule moyen (6 à 9 mm) - Augmentation du temps de dominance du follicule dominant

Peu d'études ont analysé les effets du stress thermique sur la fonction de reproduction femelle en Europe (tableau 1), avec des conditions environnementales similaires à celles de notre étude, ce qui ne nous a pas permis de conforter nos résultats sur des populations d'animaux plus importantes.

CONCLUSION

Notre étude rétrospective n'a pas mis en évidence d'effet du stress thermique sur la production et la qualité des embryons produits par les génisses de la station d'Auriva à Denguin (64), dans le sud-ouest de la France.

Cette absence d'effet pourrait être due : (1) à un stress thermique modéré sur la station, (2) à la population de génisses, moins sensibles au stress thermique que les vaches ; (3) à la forte variabilité intra et interindividuelle de la production d'embryons, qui pourrait masquer un éventuel effet potentiel du stress thermique.

Cependant, de nombreuses études, réalisées dans des conditions de stress thermique sévère, ont montré des effets du stress thermique sur différents mécanismes de la fonction de reproduction, tels que les sécrétions hormonales, l'intégrité utérine, l'expression des chaleurs, la croissance folliculaire et la qualité de l'ovocyte et le développement embryonnaire précoce.

Désormais, le réchauffement climatique est global. Il entraîne de plus en plus fréquemment des situations de stress thermique, même dans des pays avec des climats tempérés, comme la France. Des mesures permettant de diminuer ce stress thermique sont nécessaires afin de limiter ses effets néfastes dans les élevages de bovins. Ainsi, grâce à ces mesures, le bien-être et les performances des animaux (production laitière ou de viande, performance de reproduction) seront améliorés, notamment chez les vaches laitières hautes productrices.

AGREMENT SCIENTIFIQUE



AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, Nicole HAGEN, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de Alice GUINGAL intitulée « **Impact du stress thermique sur la production et la qualité d'embryons de génisses Holstein** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 4 juin 2018
Professeur Nicole HAGEN
Professeure
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jean PARINAUD

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALFURAJI, M., EL-NOUTY, F., ALIBRAHIM, R.M., 1996. Seasonal variations in superovulatory responses of Holstein cows treated with pregnant mare serum gonadotrophin under semi-arid environment. *J. Arid Environ.* 34, 371–378.
- ARMSTRONG, D., 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77, 2044–2050.
- BADINGA, L., THATCHER, W.W., DIAZ, T., DROST, M., WOLFENSON, D., 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 39, 797–810.
- BARACALDO M, MARTINEZ M, ADAMS G, MAPLETOFT R, 2000. Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in cattle. *Theriogenology* 53, 1239–1250.
- BARROS, C.M., BARCELOS, A.C.Z., GOUVEA, L.M., MENEGHEL, M., BARCELOS, D.S., TRINCA, L.A., 2008. Improvement of a superstimulatory protocol in Nelore cows: replacing the last two doses of pFSH by eCG. *Reprod. Fertil. Dev.* 20, 152–152.
- BENDER, R.W., CARVALHO, P.D., SANDOVAL, G.B., SOUZA, DRESH, A.R., 2012. Use of double-flush technique to improve embryo recovery results in superovulated high producing dairy cows., in: *Proceeding Du 28ème Colloque de l’AETE. Saint-Malo (France)*, p. 106.
- BENYEI, B., GASPARDY, A., CSEH, S., 2003. Effect of the El Niño phenomenon on the ovarian responsiveness and embryo production of donor cows. *Acta Vet. Hung.* 51, 209–218. <https://doi.org/10.1556/AVet.51.2003.2.9>
- BERMAN, A., 2005. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 83, 1377–1384. <https://doi.org/10.2527/2005.8361377x>
- BERNABUCCI, U., LACETERA, N., BAUMGARD, L.H., RHOADS, R.P., RONCHI, B., NARDONE, A., 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal* 4, 1167–1183.
- BIGGERS, B.G., GEISERT, R.D., WETTEMAN, R.P., BUCHANAN, D.S., 1987. Effect of heat stress on early embryonic development in the beef cow. *J. Anim. Sci.* 64, 1512–1518.
- BO, G.A., CARBALLO GUERRERO, D., TRIBULO, H., TRIBULO, R., ROGAN, D., MAPLETOFT, R.J., 2010. New approaches to superovulation in the cow. *Reprod Fertil Dev* 22, 106–112.
- BO, G.A., HOCKLEY, D., NASSER, L.F., 1994. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Follitropin-V in beef cattle. *Theriogenology* 42, 963–975.
- BO, G.A., MAPLETOFT, R.J., 2013. Evaluation and classification of bovine embryos. *Anim Reprod* 10, 344–348.
- BO, G.A., MAPLETOFT, R.J., 2012. Recent advances in the control of follicular development and superovulation protocols in cattle., in: *Proceeding Du 28ème Colloque de l’AETE.*, Presented at the *Proceeding du 28ème colloque de l’AETE, Saint-Malo (France)*, pp. 57–68.
- BONI, R., PERRONE, L.L., CECCHINI, S., 2014. Heat stress affects reproductive performance of high producing dairy cows bred in an area of southern Apennines. *Livest. Prod. Sci.* 160, 172–177.
- CARTHY, T.R., RYAN, D.P., FITZGERALD, A.M., EVANS, R.D., BERRY, D.P., 2016. Genetic relationships between detailed reproductive traits and performance traits in Holstein-Friesian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 99, 1286–1297. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9825>
- CORTEZ, L.C., COSTA, L.L.M., BERTEVELLO, P.S., FONTENELE, I.P., CORDEIRO, L.A.V., 2015. Hormonal and blood gas levels of Holstein cows under heat stress during superovulation treatment. Presented at the 31st Annual Meeting A.E.T.E. - Ghent, Belgium, Ghent, Belgium.
- DASH, S., CHAKRAVARTY, A.K., SINGH, A., UPADHYAY, A., SINGH, M., YOUSUF, S., 2016. Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review. *Vet. World* 9, 235–244. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.235-244>
- DE RENSIS, F., SCARAMUZZI, R.J., 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. *Theriogenology* 60, 1139–1151.
- DOBSON, H., 2003. Stress and reproduction., in: *Proceeding Du 19ème Colloque de l’AETE.* Presented at the *Proceeding du 19ème colloque de l’AETE, Rostock (Allemagne)*, pp. 105–113.

- DRION, P.V., BECKERS, J.F., ECTORS, F.J., HANZEN, C., HOUTAIN, J.Y., LONERGAN, P., 1996. Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : 1. Folliculogenèse et atresie. *Point Vét* 881–891.
- DROST, M., AMBROSE, J.D., THATCHER, M.-J., CANTRELL, C.K., WOLFSDORF, K.E., HASLER, J.F., THATCHER, W.W., 1999. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in florida. *Theriogenology* 52, 1161–1167. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00208-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00208-3)
- DUBOIS, S., 2016. LE TRANSFERT EMBRYONNAIRE CHEZ LES BOVINS. Lyon.
- EALY, A.D., DROST, M., HANSEN, P.J., 1993. Developmental Changes in Embryonic Resistance to Adverse Effects of Maternal Heat Stress in Cows1. *J. Dairy Sci.* 76, 2899–2905. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77629-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77629-8)
- FUQUAY, J.W., 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.* 52, 164–174.
- GARCIA GUERRA, A., TRIBULO, A., YAPURA, J., MAPLETOFT, R.J., 2012. Lengthening the superstimulatory treatment protocol increases ovarian response and number of transferable embryos in beef cows. *Theriogenology* 78, 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.010>
- GARCÍA-ISPIERTO, I., LÓPEZ-GATIUS, F., BECH-SABAT, G., 2007. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology* 67, 1379–1385.
- GORDON, I., BOLAND, M.P., MC GOVERN, H., 1987. Effect of season on superovulatory responses and embryo quality in Holstein cattle in Saudi Arabia. *Theriogenology* 27, 231.
- GUIGNOT, F., 2005. Cryoconservation des embryons des espèces domestiques. *INRA Prod Anim* 18, 27–35.
- GWAZDAUSKAS, F.C., THATCHER, W.W., PAAPE, M.J., P, WILCOX, C.J., 1981. Hormonal patterns during heat stress following PGF₂α-tham salt induced luteal regression in heifers. *Theriogenology* 16, 271–285.
- HANSEN, P.J., 2013. Cellular and molecular basis of therapies to ameliorate effects of heat stress on embryonic development in cattle. *Anim Reprod* 10, 322–333.
- HANSEN, P.J., 2009. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 364, 3341–3350. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0131>
- HANSEN, P.J., 1997. Strategies for enhancing reproduction of lactating dairy cows exposed to heat stress., in: *Proceedings of the 16th Annual Convention American Embryo Transfer Association, Madison. Madison*, pp. 62–72.
- HANSEN, P.J., DROST, M., RIVERA, R.M., PAULA LOPES, F.F., AL KATANANI, Y.M., 2001. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology* 55, 91–103.
- HASLER, J.F., MC CAULEY, A.D., SCHERMERHORN, E.C., FOOTE, R.H., 1983. SUPEROVULATORY RESPONSES OF HOLSTEIN COWS. *Theriogenology* 19, 83–99.
- HOEKSTRA, J., VAN DER LUGT, A.W., VAN DER WERF, J.H.J., OUWELTJES, W., 1994. Genetic and phenotypic parameters for milk production and fertility traits in upgraded dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 40, 225–232. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(94\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90090-6)
- HOWELL, J.L., FUQUAY, J.W., SMITH, A., 1994. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *J. Dairy Sci.* 77, 735–739.
- JOUZEL, J., OUZEAU, G., DEQUE, M., JOUINI, M., PLANTON, S., 2014. Le climat de la France au XXI e siècle, , Volume 4 - Scénarios régionalisés (No. Volume 4), *Rapports de la Direction générale de l'Énergie et du Climat. Rapports de la Direction générale de l'Énergie et du Climat.*
- KADZERE, C.T., MURPHY, M.R., SILANIKOVE, N., MALTZ, E., 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77, 59–91.
- KAFI, M., MC GOWAN, M.R., 1997. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 48, 137–157. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00033-X)
- LAURTERE, P., MANIERE, J., CHASTANT, S., 2001. Facteurs de variation de la production d'embryons chez des vaches Charolaises superovulées en région Bourgogne. *Renc.Rech.Rum* 8, 361–364.
- LENSINK, J., LERUSTE, H., 2012. Adaptation des bovins aux conditions d'ambiance, in: *Observation Du Troupeau Bovin*. pp. 97–112.

- LUSSIER, J., MATTON, P., DUFOUR, J.J., 1987. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *J. Reprod. Fertil.* 81, 301–307.
- MACMILLAN, K.L., THATCHER, W.W., 1991. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 45, 883–889.
- MAPLETOFT, R.J., BENNETT STEWARD, K., ADAMS, G.P., 2002. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.* 42, 601–611. <https://doi.org/10.1051/rnd:2002046>
- MATTOS, M.C.C., BASTOS, M.R., GUARDIERO, M.M., CARVLHO, J.O., FRANCO, M.M., MOURAO, G.B., BARROS, C.M., SARTORI, R., 2011. Improvement of embryo production by the replacement of the last two doses of porcine follicle-stimulating hormone with equine chorionic gonadotropin in Sindhi donors. *Anim Reprod Sci* 125, 119–123.
- MEYERHOEFFER, D.C., WETTEMAN, R.P., COLEMANS, S.W., 1985. Reproductive criteria of beef bulls during and after exposure to increased ambient temperature. *J. Anim. Sci.* 60, 352–357.
- MIKKOLA, M., 2016. Commercial bovine embryo transfer activity in EUROPE in 2015 Mikkola M, – Barcelona, Spain, 9th – 10th September 2016, in: *Proceeding Du 32ème Colloque de l’AETE*. Presented at the *Proceeding du 32ème colloque de l’AETE*, Barcelona, Spain, pp. 19–26.
- MIKKOLA, M., 2015. Statistics of European Embryo Transfer Activity in 2015. *AETE Stat.* 2015.
- MONNIAUX, D., RICO, C., LARROQUE, H., DALBIES-TRAN, R., MEDIGUE, C., CLEMENT, F., 2010. L’hormone antimüllérienne, prédicteur endocrinien de la réponse à une stimulation ovarienne chez les bovins. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 38, 465–470.
- MONTMEAS, L., 2013. Les hormones de la reproduction, in: *Reproduction Des Animaux D’élevage.*, Educagri Editions. pp. 34–53.
- MONTY, D.E., RACOWSKY, C., 1987. In vitro evaluation of early embryo viability and development in summer heat-stressed, superovulated dairy cows. *Theriogenology* 28, 451–465.
- NASSER, L.F., ADAMS, G.P., BO, G.A., MAPLETOFT, R.J., 1993. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40, 713–724.
- NEBEL, R.L., JOBST, S.M., DRANSFIELD, M.B., PANDOLFI, S.M., BAILEY, T.L., 1997. Use of radio frequency data communication system, HeatWatch®, to describe behavioral estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 80, 179.
- PAGE, R.D., JORDAN, J.E., JOHNSON, S.K., 1989. Superovulation of Holstein heifers under heat stress with FSH-P or Follitropin. *Theriogenology* 31, 236. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(89\)90644-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(89)90644-4)
- PEIXOTO, M., BERGMANN, J., FONSECA, C., PENNA, V., 2006. Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors. *Arq Bras Med Vet Zootec* 58.
- PEZON, J., 2015. Ne sous-estimez pas le stress thermique en période estivale. *L’éleveur Lait.* 68.
- PUTNEY, D.J., DROST, M., THATCHER, W.W., 1989a. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. *Theriogenology* 31, 765–778. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(89\)90022-8](https://doi.org/10.1016/0093-691X(89)90022-8)
- PUTNEY, D.J., DROST, M., THATCHER, W.W., 1988a. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between Days 1 to 7 post insemination. *Theriogenology* 30, 195–209. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90169-0](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90169-0)
- PUTNEY, D.J., MULLINS, S., THATCHER, W.W., 1989b. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 19, 37–51.
- PUTNEY, D.J., THATCHER, W.W., DROST, M., 1988b. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology* 30, 905–922.
- RIVERA, R.M., HANSEN, P.J., 2001. Development of cultured bovine embryos after exposure to high temperatures in the physiological range. *Reproduction* 121, 107–115.
- ROBERTSON, I., NELSON, R.E., 2010. Certification and identification of embryos, in: *Manual of the International Embryo Transfer Society*. pp. 86–105.
- ROMAN-PONCE, H., THATCHER, W.W., CATON, D., 1987. Thermal stress effects on uterine blood flow in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 46, 175–180.

- RON, M., BAR-ANAN, R., WIGGANS, G.R., 1984. Factors Affecting Conception Rate of Israeli Holstein Cattle. *J. Dairy Sci.* 67, 854–860.
- ROTH, Z., 2017. Effect of Heat Stress on Reproduction in Dairy Cows: Insights into the Cellular and Molecular Responses of the Oocyte. *Annu. Rev. Od Anim. Biosci.* 5, 151–170.
- ROTH, Z., MEIDAN, R., BRAW TAL, R., WOLFENSON, D., 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J. Reprod. Fertil.* 120, 83–90. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1200083>
- SARTORI, R., SARTOR - BERGELT, R., MERTENS, S.A., 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85, 2803–2812.
- SAUMANDE, J., 1995. La production d'embryons chez les bovins : Quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation ? *INRA Prod Anim* 8, 275–283.
- SCHULLER, L.K., BURFEIND, O., HEUWIESER, W., 2014. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology* 81, 1050–1057.
- SEIDEL, G.E., 1981. Superovulation and Embryo Transfer in Cattle. *Science* 211, 351–358.
- TRIBULO, A., ROGAN, D., TRIBULO, H., TRIBULO, R., MAPLETOFT, R.J., BO, G.A., 2012. Superovulation of beef cattle with a split-single intramuscular administration of Follitropin-V in two different concentrations of hyaluronan. *Theriogenology* 77, 1679–1685.
- WEST, J.W., 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 2131–2144.
- WILSON, S.J., MARION, R.S., SPAIN, J.N., SPIERS, D.E., KEISLER, D.H., LUCY, M.C., 1998. Effects of Controlled Heat Stress on Ovarian Function of Dairy Cattle. 1. Lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 81, 2124–2131.
- WOLFENSON, D., LEW, B. J., THATCHER, W.W., MEIDAN, R., 1997. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim Reprod Sci* 47, 9–19.
- WOLFENSON, D., LUFT, O., BERMAN, A., MEIDAN, R., 1993. Effects of season, incubation temperature and cell age on progesterone and prostaglandin F2a production in bovine luteal cells. *Anim Reprod Sci* 32, 27–40.
- WOLFENSON, D., ROTH, Z., MEIDAN, R., 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61, 535–547. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00102-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00102-0)
- WOLFENSON, D., THATCHER, W.W., BADINGA, L., SAVIO, J.D., MEIDAN, R., LEW, B. J., BERMAN, A., 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52, 1106–1113.
- WOLGAST, T, W., DETTERER, J, REUSS, W, SCHMIDT, T, MEINECKE-TILLMANN, S, 2008. Improvement of embryo recovery rates by modified flushing techniques in Holstein cattle at a commercial embryo transfer station, in: *Proceeding Du 24ème Colloque de l'AETE, Pau (France)*. Pau (France), p. 240.
- YOUNAS, M., FUQUAY, J.W., SMITH, A., MOORE, A.B., 1993. Estrous and Endocrine Responses of Lactating Holsteins to Forced Ventilation During Summer. *J. Dairy Sci.* 76, 430–436.
- ZIMBELMAN, R.B., RHOADS, R.P., RHOADS, G. C., DUFF, L., BAUMGARD, L.H., COLLIER, R., 2009. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe temperature humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows., in: *Proceedings of the 24th Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, Arizona, USA*. Tempe, Arizona, USA, pp. 158–168.

NOM : GUINGAL

PRENOM : Alice

TITRE : IMPACT DU STRESS THERMIQUE SUR LA PRODUCTION ET LA QUALITE DES EMBRYONS DE GENISSES PRIM'HOLSTEIN

RESUME :

Le stress thermique altère les performances de reproduction des vaches laitières. Les objectifs de cette étude sont de déterminer l'impact du stress thermique sur la production et la qualité des embryons produits par des génisses Holstein collectées au moins deux fois, à la station de Denguin (64).

Le stress thermique a été évalué au travers l'Index Température Humidité relative (THI). Cette étude rétrospective a été réalisée sur 606 collectes de 195 génisses, sur la période de 2005 à 2015. Une analyse de variance a permis de tester l'effet des facteurs suivants, rang de collecte, saison ou THI et type de chaleurs avant le traitement de superovulation, ainsi que leurs interactions, et le facteur individu, sur la production et la qualité des embryons. La variabilité individuelle de la production d'embryons est élevée. Le stress thermique n'a pas eu d'impact sur la production d'embryons, vraisemblablement en raison de la faible sensibilité des génisses au stress thermique et du THI modéré dans cette région tempérée.

MOTS CLES : stress thermique, bovin, génisse, THI ; production d'embryons, superovulation

ENGLISH TITLE: EFFECT OF HEAT STRESS ON THE QUALITY AND THE EMBRYO PRODUCTION OF PRIM HOLSTEIN HEIFERS

ABSTRACT:

Heat stress decreases reproduction performances in dairy cattle. The aim of this study was to assess the effect of heat stress on the production and quality of embryos produced *in vivo* by Holstein heifers collected at least two times in the station in Denguin (64) in Southwest of France.

The Temperature Humidity Index was used to estimate the heat stress. This retrospective study included 606 embryos collections of 195 heifers from 2005 to 2015. The effect of the following factors, THI or season, embryo collection range, reference heat before superovulation treatment, and their interactions, and of the individual factor was tested by an analysis of variance. The individual variability of the embryos production and quality was high. We did not evidence any impact of heat stress on embryos production, likely because heifers were submitted to a moderate heat stress in this area of France, and because of low sensibility of heifers to heat stress.

KEY WORD: heat stress; cattle, heifer; THI; embryos production; superovulation