



Cirad
Campus de Baillarguet

34 398 MONTPELLIER Cedex 5
France

La reproduction et l'insémination artificielle du cheval

Note bibliographique

Par ***Christian Meyer***

UR18 Systèmes d'élevage et produits animaux, Dep. Environnement et Société, Cirad, TA
C18/A, BP 5035, 34 398 Montpellier Cedex 5, France

Mai 2009

La reproduction et l'insémination artificielle du cheval. Note bibliographique

Resumé

Les principales particularités de l'anatomie des organes génitaux femelle et mâle chez le cheval sont rappelées puis la physiologie de la reproduction des femelles et des mâles et les techniques de maîtrise de la reproduction sont envisagées. Les femelles sont mise à la reproduction généralement vers 2 ou 3 ans et les mâles vers 3 ou 4 ans. Des cycles oestriques de 3 semaines environ (sans fécondation) ont lieu pendant la ou les saisons sexuelles. L'oestrus est très long et de durée variable (6 à 8 jours le plus souvent), et l'ovulation spontanée se produit entre 48 et 24 heures avant la fin.

Le traitement photopériodique peut permettre d'avancer la date de sortie d'anoestrus de juments gardées en box en hiver. La synchronisation des chaleurs est possible en utilisant diverses hormones. Pour pratiquer l'insémination artificielle, le sperme est collecté le plus souvent dans un vagin artificiel. Le volume est important, de l'ordre de 30 à 150 ml en moyenne, une partie étant constituée d'un gel. Le sperme filtré et dilué peut être utilisé soit frais, soit réfrigéré (dans les 10 heures), soit congelé après centrifugation pour éliminer le plasma séminal. En moyenne 200 millions de spermatozoïdes dans 15 à 30 ml sont mis en place par le col utérin dans le corps de l'utérus. Les résultats sont au moins équivalents à ceux de la monte naturelle avec du sperme frais et légèrement inférieurs avec du sperme congelé.

Mots-clés : Reproduction, cheval, insémination artificielle

Domestic horse's reproduction and artificial insemination. Bibliographic note

Abstracts

The main characteristics of female and male genital organs anatomy are mentioned, then the female and male reproduction physiology, and the reproduction control techniques are considered. Females are usually mated at 2 or 3 years of age and males at 3 or 4 years of age. Oestral cycles of about three weeks (without fecundation) occur during sexual seasons. Oestrus is very long and with variable lengths (six to eight days most often), and a spontaneous ovulation occurs 48 to 24 hours before the end.

Photoperiodic treatments may allow to advance the date of the end of anoestrus of mares kept in stalls during winter. Oestrus synchronisation is possible with various hormones. To perform artificial insemination, sperm is usually collected with an artificial vagina. The volume is high, about 30 to 150 ml on average, some being a gel. The semen, filtrated and diluted, can be used fresh, or refrigerated (up to 10 hours), or frozen after centrifugation to eliminate seminal plasma. On average 200 million spermatozoa in 15 to 30 ml are put in the uterine body through the uterine cervix. Results are at least as good as those from natural mating with fresh semen, and slightly lower with frozen semen.

Key-Words : Reproduction, horse, artificial insemination

INTRODUCTION

Le cheval (*Equus caballus* Linné, 1758) est un mammifère euthérien périssodactyle de la famille des équidés (Equidae). Généralement de grande taille, il est plus grand que l'âne, aux formes élégantes, aux oreilles plus petites, à queue garnie de crins depuis la base, et au cou muni d'une crinière. Il semble originaire d'Asie centrale et il a été domestiqué à l'époque magdalénienne vers - 3500 à - 3000 en Ukraine.

Il a longtemps été utilisé pour les transports, surtout les transports rapides, jusqu'à ce qu'il soit détrôné par l'automobile. Il était réservé aux nobles autrefois. C'est encore souvent **une source de prestige** et de fierté. Il reste utilisé pour la traction animale, la culture attelée, les sports équestres, les courses de chevaux (sport) et les randonnées (tourisme). Son utilisation pour la viande est peu importante (Meyer, 1999).

Quelles sont les caractéristiques de la reproduction du cheval domestique et comment se pratique l'insémination artificielle dans cette espèce ?

I. Rappels sur l'anatomie des organes génitaux

A. Femelles

Chacun des 2 **ovaires** pèse 60 g en moyenne (20-170 g), avec une longueur moyenne de 6,5 cm (5-8 cm) et une largeur de 2 à 4 cm. Les ovaires sont ovoïdes, en forme de reins, incurvés autour de la fosse d'ovulation. Les corps jaunes sont en forme de poire d'un diamètre de 1 à 2,5 cm. La bourse ovarique facilite le passage de l'œuf vers l'oviducte (Nicolich, 1989, Tibary *et al.*, 1994a).

Les **oviductes** ou trompes utérines ont une longueur de 20 à 30 cm. Le calibre externe se rétrécit de l'ampoule à l'utérus : de 5-9 mm à 2-3 mm.

L'**utérus** de type bipartite, a 2 cornes, un corps et un col dont les longueurs sont 12 à 25 cm pour les cornes, 14 à 24 cm pour le corps et 5 à 8 cm pour le col. Le col est dur et fermé en période de repos, mou et congestionné pendant l'oestrus. Il se contracte et se relâche en alternance au moment de l'ovulation.

Le **vagin** a une longueur de 20 à 35 cm en moyenne. Latéralement, la glande de Bartholin secrète un liquide visqueux plus abondant au moment de l'oestrus.

B. Mâles

Les 2 **testicules** sont logés dans le scrotum, un ensemble d'enveloppes formant 6 couches : peau, dartos, fascia spermatique externe, crémaster, fascia spermatique interne, et tunique vaginale. D'un poids moyen de 180 g, ils mesurent 9 cm de long pour un diamètre de 6 cm en moyenne.

Les glandes vésiculaires ou **vésicules séminales** sont bien développées : longueur 15 cm, largeur 5 cm en moyenne. La prostate est bilobée.
Le **pénis** a une longueur totale de 50 cm, dont 20 cm libres. Il comporte un processus urétral de 3 cm de long en moyenne (Nicolich, 1989).

II. Physiologie de la reproduction

A. Physiologie de la reproduction des femelles



Figure 1 : Une jument et un poulain (photo Meyer C.)

Puberté

L'âge à la puberté varie de 10 à 24 mois. L'âge à la puberté d'une pouliche bien entretenue dépend de la précocité de sa race : 12 ou 17 mois (Tibary *et al.*, 1994b). Il dépend du mois de naissance en France. Il est de 18 mois pour les juments nées en janvier-février et de 2 ans environ pour celles qui naissent en mai-juin (Badinand, 1985). Une jument née en janvier-février sera pubère l'été suivant, à l'âge de 18 mois. Une jument née en mai-juin sera pubère 2 étés après vers l'âge de 2 ans.

Légalement en France, une jument de race lourde ou une ponnelette peut être mise à la reproduction à l'âge de 2 ans, et une jument de sang à l'âge de 3 ans (Nicolich, 1989).

Saison sexuelle

La jument est une espèce à polyoestrus saisonnier. Elle a une activité sexuelle plutôt saisonnière :

- hémisphère Nord : de février à juin et pour 50 % aussi octobre à novembre,
- hémisphère Sud : août à décembre (Fontaine, 1987) ou décembre, janvier et février (Nicolich, 1989).
- en France : juin, juillet et août ; mais certaines juments présentent des cycles toute l'année de durée plus ou moins longue ; la saison de monte officielle va du 15 février au 15 juillet (Badinand, 1985).

Les 4 phases suivantes composent le cycle sexuel annuel :

- saison sexuelle avec une activité sexuelle régulière et une fertilité maximale,
- transition vers l'anoestrus saisonnier,
- anoestrus saisonnier,
- transition vers la saison sexuelle (Tibary *et al.*, 1994b).

Cycles et chaleurs

La **durée du cycle** normal est de 3 semaines environ. Elle varie avec la durée de l'oestrus (Fontaine, 1987). Elle serait de 3 à 4 semaines : 16 à 30 jours (Kolb, 1975), $21,5 \pm 2,5$ jours (Ginther, 1979 cité par Nicolich, 1989), $18,5 \pm 3,4$ jours (Stabenfeldt *et al.*, 1971 cités par Nicolich, 1989).

Le cycle oestral peut être divisé en 4 phases :

- pro-oestrus (lutéolyse, maturation folliculaire) : 2-5 jours,
- oestrus (rut et ovulation) : 6 (3-10) jours,
- metoestrus = posteoestrus (luteogenèse = formation du corps jaune) : 2 jours,
- dioestrus (lutéotrophie, activité du corps jaune) : 12-13 jours (Gayrard, 2008).

La **durée de l'oestrus** est très variable : de 2 à 10 jours (Fontaine, 1987) 3 à 12 jours (Tibary *et al.*, 1994b) ou même **2 à 13 jours, 6 jours en moyenne** (Kolb, 1975), $6,8 \pm 2,3$ jours (Ginther, 1979 cité par Nicolich, 1989), $7,7 \pm 1,3$ jours (Stabenfeldt *et al.*, 1971 cités par Nicolich, 1989) ou encore :

- en saison de reproduction 6-7 jours en moyenne : de 3 à 12 jours,
- en saison anovulatoire 16 jours en moyenne : de 0 à 43 jours (Badinand, 1985).

Deux vagues de **croissance folliculaire** se produisent pendant le cycle oestral : une de 5-6 jours, une autre qui commence un peu avant l'oestrus. Le follicule grandit pendant une dizaine de jours jusqu'à une taille de 3 à 8 cm de diamètre (Badinand, 1985).

L'**ovulation** est spontanée. Elle a lieu 24 à 48 heures avant la fin des chaleurs. Elle n'est donc pas prévisible à partir du début de l'oestrus (Fontaine, 1987 ; Nicolich,

1989). Elle se produit dans les 48 heures avant la fin des chaleurs chez 80 % des juments (Valon, 1987).

La maturation du ou des follicules de De Graaf peut être appréciée par palpation transrectale par un vétérinaire pour estimer le moment de l'ovulation. Peu avant l'ovulation, un gros follicule (de 3 à 6 cm de diamètre) se rapproche du hile de l'ovaire. Après l'ovulation, il se forme un corps rouge (*corpora hemorrhagica*) qui peut être senti par palpation transrectale : il donne l'impression que l'on presse un fruit mûr (Valon, 1987).

Signes d'oestrus : La jument en oestrus urine souvent, relève la queue, marche les membres postérieurs écartés. Elle approche les étalons en hennissant. Mais parfois, les chaleurs sont très discrètes. Aussi, il convient d'utiliser un étalon boute-en-train pour repérer le début des chaleurs. Les organes génitaux présentent des modifications au cours de l'oestrus (Fontaine, 1987) tels des contractions du clitoris (« clignements » de la vulve).

Le **passage à la barre** (Tableaux I et II) consiste à observer le comportement de la jument en présence d'un étalon ou d'un hongre « souffleur » et celui du mâle (Nicolich, 1989).

Tableau I : Comportement de la jument en chaleur ou non lors du passage à la barre (en % d'apparition) (d'après Graullier, 1973 cité par Nicolich, 1989).

	Jument en oestrus	Jument non en oestrus	Différence
Réactions positives			
« Clignements » de vulve	60	11	49
Queue levée	52	5	47
Jets d'urine	47	9	38
Se campe	34	0	34
Réactions négatives			
Coups de botte	27	64	37
Couine	37	74	37
Fouaille de la queue	20	45	25

Tableau II : Comportement de l'étalon « souffleur » en présence d'une jument en chaleurs ou non (d'après Ginther, 1979, cité par Nicolich, 1989).

	Oestrus (en %)	Interoestrus (en %)	Différence
Flehmen	71	17	54
Chevauchement	96	50	46
Morsure	91	82	9

Pour obtenir une saillie fécondante, une saillie toutes les 48 heures est faite à partir du 3^e ou 4^e jour de l'oestrus (Fontaine, 1987). En pratique, on ne dispose que de 2 ou 3 oestrus par an pour faire saillir une jument et les chances de fécondation sont de l'ordre de 25 % à chaque oestrus ! (Nicolich, 1989).

Le taux de **progesterone** augmente régulièrement après l'ovulation pendant 5 jours et diminue à partir de 13-15^{eme} jour du cycle oestral (Badinand, 1985).

Il existe un **pic de LH**, assez long, 12 à 24 heures avant l'ovulation (Nicolich, 1989).

Le cycle oestral peut présenter des **variations physiologiques** :

- ovulations multiples, en général doubles, donnant des jumeaux et une mortalité embryonnaire ou un avortement ; l'intervalle entre les 2 ovulations est variable, jusqu'à 5 jours.
- ovulation au cours de la phase lutéale (dioestrus), sans signe de chaleurs, pouvant allonger la durée du cycle.
- corps jaunes persistants et anoestrus, avec allongement de la durée du cycle : phase lutéale de 35 à 90 jours (Tibary *et al.*, 1994b).

Gestation

La **durée de gestation** normale est proche de **11 mois** en moyenne, 330 ± 10 jours (Tibary *et al.*, 1994) (Tableau III).

Tableau III : Durée de gestation de la jument

Race ou pays	Durée de gestation (jours)	Référence
Europe	310-340	Fontaine, 1987
Europe	336 (320-355)	Kolb, 1975
Monde	336-337	Payne, Wilson, 1999
Monde	330	Gayrard, 2008

La fécondation a lieu dans le tiers supérieur de l'oviducte (J0). L'embryon entre dans l'utérus 5-6 jours après au stade morula. La placentation a lieu à J45 – J120. Elle est chorio-allantoïdienne de type épithélio-chorial diffus (Chaffaux, 1985).

La **progestérone** est sécrétée par le corps jaune puis par des corps jaunes secondaires, enfin par le placenta (rôle des cupules) qui prend le relais des ovaires. Ainsi, en cas d'ovariectomie de juments gravides :

- avant 45 jours de gestation, toutes avortent,
- entre 50 et 70 jours, 45 % des juments avortent,
- après 140 jours de gestation, toutes mènent la gestation jusqu'au terme (Chaffaux, 1985).

Le **diagnostic de gestation** est très important chez la jument : une jument pleine peut valoir 10 fois le prix d'une jument vide, une jument peut être abattue alors qu'elle porte un foetus, une jument pleine peut être moins bien nourrie qu'il ne faudrait si son état est ignoré, etc. Les méthodes de diagnostic de gestation sont :

- la méthode clinique, manuelle et visuelle,
- des méthodes instrumentales : l'échographie (du 14^e au 65-70^e jours) et l'électrocardiographie (après le 150^e jour),
- des méthodes de laboratoire :
 - a. mesure de la progestéronémie (18-20 jours après l'ovulation),
 - b. détection du eCG (ou PMSG) dans le sang (entre 37-40 et 110-120 jours) par dosage ou par méthode biologique ou par méthode immunologique,

c. détection d'oestrogènes dans les urines par méthode biologique ou par méthode chimique (Esling, 1985 ; Badinand *et al.*, 1985 ; Tibary *et al.*, 1994c).

Mise bas (poulinage)

Préparation au poulinage

Il y a agitation et des signes de coliques. La durée est de quelques heures à quelques jours.

Expulsion du fœtus

Elle est rapide : 20-30 minutes (de 10 minutes à 1 heure).

La jument se lève et le cordon ombilical se rompt. Elle lèche le poulain qui essaye de se lever.

Expulsion des membranes fœtales

Elle se fait normalement dans les 3 heures (Tibary *et al.*, 1994b).

Postpartum

Les premières tétées sont vitales. Le poulain doit consommer suffisamment de colostrum en quantité et suffisamment vite. Le **colostrum** apporte des anticorps, des nutriments et permet de chasser le méconium de l'intestin. Les anticorps ne traversent la barrière intestinale que pendant les premières heures de la vie (Meyer, 2009b).

L'oestrus réapparaît 5 à 12 jours après la mise bas (chaleur postpartum ou chaleur de lait), mais souvent le 1^{er} et le 2^e oestrus sont peu visibles (Fontaine, 1987). L'intervalle poulinage-1^{re} ovulation est en moyenne de $10,2 \pm 2,4$ jours (Tibary *et al.*, 1994b).

La saillie peut être effectuée après le poulinage si :

- le poulinage est tardif dans la saison sexuelle,
- la mise bas a été normale,
- le post-partum a été normal,
- la jument est connue pour présenter des cycles erratiques après le poulinage (Tibary *et al.*, 1994b).

L'involution utérine est très rapide (Tibary *et al.*, 1994b).

Longévité

La production utile peut dépasser l'âge de 20 ans (Payne, Wilson, 1999).

B. Physiologie de la reproduction des mâles

Puberté

En France, la puberté apparaît vers 2,5 ans. Les étalons effectuent la monte à partir de 3 (poneys et chevaux lourds) ou 4 ans (Badinand, 1985). La production de spz par les testicules commence entre 13 et 20 mois (Nicolich, 1989).

Ejaculation

L'étalon est sensible à des stimulations visuelles, olfactives (odeur de l'urine de jument en chaleur) et tactile entraînant le **flehmen** ou rictus sardonique : la lèvre supérieure est retroussée et la tête levée (Chevalier, 1980).

Sperme

La spermatogenèse dure 55 jours environ (Nicolich, 1989) ou 35 à 42 jours (Chevalier, 1980). L'éjaculat est composé de 6 à 9 jets. L'éjaculation dure 6 à 7 secondes (Nicolich, 1989).

Il est possible de distinguer :

- le pré-sperme, une sécrétion visqueuse qui coule pendant l'excitation sexuelle, avant le vrai sperme (rôle lubrifiant),
- la fraction riche des premiers jets, un mucus blanchâtre ou incolore, de 30 à 75 ml,
- le post-sperme, un gel trouble et visqueux, de 8 à 85 ml (rôle antimicrobien),
- la fraction post-coïtale, incolore, peu visqueuse et avec peu de gel (Nicolich, 1989).

Voir aussi ci-dessous le chap. C4.

Sex ratio

Etant donné la longueur de l'oestrus et que l'étalon saillit chaque femelle en oestrus de nombreuses fois, il ne peut servir qu'un nombre limité de juments : de 15 à 30 juments (Valon, 1985).

III. Maîtrise de la reproduction

A. Maîtrise de l'anoestrus par traitement photopériodique

Il est possible d'avancer la date de sortie d'anoestrus des juments rentrées en box en hiver en simulant l'augmentation de la durée du jour par un éclairage artificiel à condition d'agir pendant la période inductible du système endocrinien 8 à 10 heures après la tombée de la nuit. En pratique, la durée du jour est prolongée à 14-16 heures (d'un coup ou progressivement) ou bien un flash d'une heure est produit 9,5 heures après la tombée de la nuit en commençant entre le 15 novembre et le 1^{er} décembre en France (Nicolich, 1989).

B. Synchronisation des chaleurs et de l'ovulation

Oestrogènes

Si le taux de progestérone est faible, l'injection de stilboestrol ou de 5 mg/jour de 17 bêta benzoate d'oestradiol peuvent induire des chaleurs anovulatoires. Cela peut être utile pour permettre la collecte de semence d'un étalon ou pour vérifier l'activité du corps jaune (Nicolich, 1989).

Progestagènes

La progestérone appliqué par voie orale, parentérale ou dans des éponges vaginales peut supprimer les chaleurs (100 mg/jour) et aussi l'ovulation (200 mg/jour) après 2 à 3 jours de traitement. La traitement est poursuivi 18 jours et l'oestrus commence 3 à 5 jours après l'arrêt du traitement, de manière inconstante. Mais ce traitement n'est pas efficace en cas de corps jaune persistant et un durcissement ovarien est fréquent (Nicolich, 1989).

Prostaglandines

L'injection de prostaglandines entraîne la lyse du corps jaune actif (et l'avortement en cas de gestation). Il faut la pratiquer plus de 5 jours après l'ovulation. L'oestrus commence 2 à 3 jours et l'ovulation 7 à 12 jours après l'injection. Si on l'utilise dans un troupeau de juments, 2 injections sont faites à 14 jours d'intervalle.

L'injection de prostaglandines est à éviter en cas de troubles gastro-intestinaux et de troubles respiratoires de type bronchite obstructive (Nicolich, 1989).

Hormones gonadotropes

HCG provoque l'ovulation par son effet LH : chez 75 % des juments entre 36 et 48 heures avec 1500-3000 UI en SC, IM ou IV. Mais son action diminue si elle est répétée car il se forme des anticorps contre l'hormone (Nicolich, 1989).

GnRH = gonadolibérine

La GnRH induit la décharge de LH et de FSH, pouvant aboutir à l'ovulation, mais sa décharge est transitoire et le ratio FSH/LH dépend de l'environnement endocrinien. Une injection unique avant l'ovulation semble peu efficace. Par contre, une libération continue avec des micro-pompes osmotique peut induire un oestrus fertile et l'ovulation chez des juments en anoestrus (Nicolich, 1989).

Combinaisons hormonales

Plusieurs schémas ont été proposés. Exemples :

- Progestagènes pendant 12-18 jours et Prostaglandine F2alpha à la fin. L'ovulation se produit 8 à 10 jours après.
- Progestagènes pendant 9 jours, Prostaglandine le 7^e jour, HCH le 14^e jour. L'ovulation se produit le 16^e jour (Nicolich, 1989).

C. L'insémination artificielle

C1. Historique

Au X^{IV}e siècle les Arabes ont utilisé l'insémination artificielle chez le cheval. Les premières tentatives en France ont eu lieu en 1887 avec Benoit et Repiquet. Ivanov et l'école russe en 1912 sont à l'origine des premières applications pratiques (Nicolich, 1989). La reproduction du cheval a été étudiée dans les années 1950 par Nishikawa au Japon qui a mis au point les premier dilueurs pour la semence d'étalon (Nishikawa, 1975). En France, l'INRA a mené des recherches sur l'insémination artificielle des équidés à partir de 1978, dans le laboratoire d'Eric Palmer à la station de physiologie de la reproduction de Nouzilly (près de Tours). A partir de 1980, des juments ont été inséminées en Bretagne (Fauquenot, 1987 ; Magistini, 1990). La congélation du sperme a été étudiée dès 1951-1953 par Skatin de l'Institut du cheval à Moscou (Nicolich, 1989).

En 2009, 70 % des juments sont inséminées en France. Les **haras nationaux** hébergent des étalons et ont parfois une jumenterie annexe pour assurer la reproduction des équidés soit par insémination, soit par saillie naturelle. Ils interviennent au niveau de 24 pôles hippiques répartis sur la France. Ce sont maintenant des prestataires de service pour les éleveurs, les organisations socio-professionnelles et les collectivités territoriales. Leur siège est à Pompadour.

C2. Intérêts

L'insémination artificielle permet un contrôle sanitaire plus strict. Elle élimine les vulvoplasties répétées et les risques liés à des animaux vicieux.

Elle permet de diminuer le nombre de sauts à effectuer par les étalons et d'améliorer leur fécondité (Corde, 1985).

Elle peut augmenter le nombre de juments saillies par étalon.

Elle permet d'évaluer le sperme des étalons à chaque récolte et de constater des changements de qualité du sperme.

Elle permet de mieux utiliser les étalons âgés,

Le travail des étalonniers est plus attractif, etc. (Nicolich, 1989).

C3. Problèmes posés

La qualité du sperme produit est très variable entre étalons et pour un même étalon.

L'oestrus est très long, l'ovulation irrégulière et le moment de l'ovulation n'est pas connu par rapport au début de l'oestrus.

Un contrôle de filiation systématique (groupes sanguins) est appliqué et limite le nombre des produits (Chevalier, 1980).

C4. Collecte du sperme

Certains étalons sont habitués à monter sur un mannequin. En général il faut recourir à une jument en oestrus. L'aire péri-génitale de celle-ci est nettoyée, on lui met un tord-nez et on entrave ses membres postérieurs. Il vaut mieux que l'étalon soit manipulé par une personne qui le connaît, et dans un lieu qu'il connaît, sans stress. L'érection est plus ou moins rapide. L'éjaculation est relativement courte (Valon et Chaffaux, 1983).

Le temps de réaction (entre le début des stimulations et la monte) est de 3,5 min (211 secondes) pour le 1^{er} éjaculat et de 3,85 min (231 secondes) pour le 2^e, une heure plus tard en moyenne (Nicolich, 1989).

Le prélèvement peut être effectué dans le vagin de la femelle (mais pas pour l'insémination artificielle), avec un condom en caoutchouc ou en plastique souple, ou mieux, avec un vagin artificiel. La température de l'eau du **vagin artificiel** au départ varie de 42°C à 50°C selon le temps estimé que l'étalon prendra pour éjaculer. (Valon et Chaffaux, 1983). La capote est lubrifiée avec de la vaseline et la pression doit être proche de celle exercée par le vagin de la jument (Chevalier, 1980). L'opérateur qui prélève est de côté par rapport à l'étalon. Il dévie le pénis au moment du saut et présente le vagin artificiel (Corde, 1985).

Il faut en moyenne 30 minutes pour obtenir une éjaculation. La température de l'eau du vagin artificiel est comprise entre 42°C et 44°C au moment de la collecte (Fauquenot, 1987). La saillie elle-même dure 2 minutes environ. Le sperme doit être mis à l'abri de la lumière.

C5. Le sperme

5a. Caractéristiques (Tableau IV)

Des substances gélatineuses sont élaborées par les vésicules séminales. En premier lieu, ce gel est retenu par un filtre.

Couleur : Normalement, le sperme est blanc laiteux.

Volume : Le volume est important. Il est plus faible pour les étalons de sang (30-50 ml) que pour les races lourdes (120-150 ml) (Fauquenot, 1987).

Concentration : 100 à 200 millions de spz par ml en moyenne.

Nombre total : vers 10 milliards de spz en moyenne.

Motilité : 75 % en moyenne (Besse, 1993).

Tableau IV : Caractéristiques principales du sperme d'étalon

Volume total (ml)	Concentration (10 ⁶ /ml)	Nombre total (10 ⁹)	Motilité (%)	Référence
70 (30-300)	120 (30-8000)			Kolb, 1975
60-120	50-350		60	Corde, 1985
60-100	150-300	5-15	40-75	Hafez, 1987
30-50 ou 120-150	100-200		60-80	Fauquenot, 1987
	200 (50-400)	10 (3-20)	75	Besse, 1993
52,5 ± 34,1	176 ± 125	7,8 ± 5,7	59 ± 14	Langlois 1977 cité par Nicholich, 1989

Ces caractéristiques varient avec la race (Tableau V), l'âge de l'étalon (Tableau VI), la saison (Tableau VII), de la fréquence d'éjaculation, etc.

Tableau V : Quelques caractéristiques du sperme de différentes races d'étalons de sport (Dowsett, Pattie 1987 cité par Nicholich, 1989)

Races	Nombre	Vol. sans gel (ml)	Vol. de gel (ml)	Vol. total (ml)	Concentr. (10 ⁶ /ml)	Nbre de spz (10 ⁶)	Spz morts (%)
P.S.A.	73	36,2	1,0	37,2	286,8	12 661	10,1
Quarterhorse	30	23,8	4,0	27,8	171,7	5 372	23,8
Pur Sang	141	28,3	2,7	31,0	114,3	5 027	21,6
Arabe 1/2 sang	73	33,2	5,5	38,7	116,1	4 854	17,1
A.Q.P.S.	111	30,2	3,1	33,3	97,2	4 738	15,4
Palomino	44	23,8	1,1	24,9	138,5	4 016	21,3
Appaloosa	18	23,3	2,0	25,3	90,4	3 331	15,8
Shetland	8	44,4	13,1	57,5	101,3	1 720	38,5
Poney	38	20,8	2,5	23,3	114,0	1 122	24,7
Moyenne		29,3	3,9	33,2	136,7	4 760	20,9

Tableau VI : Quelques caractéristiques moyennes du sperme d'étalon en fonction de l'âge (Dowsett, Pattie 1987 cité par Nicholich, 1989)

Age	Nombre	Vol. sans gel (ml)	Vol. de gel (ml)	Vol. total (ml)	Concentr. (10 ⁶ /ml)	Nbre de spz (10 ⁶)	Spz morts (%)
1-2 ans	28	15,6	0,4	16	43,4	481	30,8
3-13 ans	427	30,2	4	34,2	147,8	5 053	18,8
>13 ans	81	33,7	1,4	35,1	83,2	3 252	22,8

Tableau VII : Quelques caractéristiques moyennes du sperme d'étalon en fonction de la saison (Dowsett, Pattie 1987 cité par Nicholich, 1989)

	Nombre	Vol. sans gel (ml)	Vol. de gel (ml)	Vol. total (ml)	Concentr. (10 ⁶ /ml)	Nbre de spz (10 ⁶)	Spz morts (%)
Printemps	232	26,2	4,4	30,6	110,2	3727	18,5
Été	122	26,4	6,4	32,8	139,5	4369	18,7
Automne	80	21,5	1,3	22,8	192,3	5506	20,2
Hiver	102	23,1	1,9	25	125,2	3776	21,4
Moyenne		24,3	3,5	27,8	141,8	4345	19,7

C6. Conservation du sperme

Le sperme peut être utilisé frais, réfrigéré progressivement à 12-14°C (dans les 24 à 96 heures) ou plus souvent 4°C (0-5°C, jusqu'à 8 jours) ou congelé dans l'azote liquide. Le sperme dilué peut être conservé au réfrigérateur réglé à 7 °C (Dusssauge, 1963 ; Magistini, 1990).

Pour le **sperme frais**, les doses de 20 ml comprennent 400 millions de spz. Avec des doses de 400 millions de spz, et un rythme de 3 récoltes par semaine, au moins 20 doses de semence peuvent être produites par éjaculat (Fauquenot, 1987).

Pour le **sperme réfrigéré**, immédiatement après la récolte, le sperme est dilué dans un bain-marie maintenu à 35-37°C (Magistini, 1990). Les dilueurs ont un pH proche de celui du plasma séminal, apportent des éléments nutritifs et contiennent des substances tampon, des antibiotiques et des cryoprotecteurs, ces derniers protégeant les spz des effets de la congélation et de la décongélation (Annexe I).

La vitesse du refroidissement doit être contrôlée et adaptée à la température de conservation. Pour la conservation à +4°C, une descente initiale de - 0,3°C par min est idéale soit 10 heures pour passer de +37°C à +4°C. Palmer (1984) utilise du lait écrémé ajouté d'antibiotiques comme dilueur. L'insémination doit être faite des les 10 heures qui suivent la collecte (Magistini, 1990)

Pour le **sperme congelé**, peut utilisé chez le cheval, 2 dilueurs sont utilisés, le 2^e contenant un cryoprotecteur, souvent le glycérol. La congélation doit être assez rapide, par exemple dans des vapeurs d'azote, afin que les cristaux d'eau qui se forment à l'intérieur des spz soient de petite taille pour ne pas endommager la cellule. La décongélation doit aussi être rapide. La semence d'étalon est presque toujours centrifugée pour éliminer le plasma séminal (Magistini, 1990). En présence de son plasma séminal, à +4°C comme à +37°C, la semence perd complètement son activité en 1,5 à 2 heures (Chevalier, 1980).

Par exemple, dans la méthode de Palmer (1984), la semence est diluée au tiers dans le dilueur 1 à 35°C et refroidie 1 heure jusqu'à 4°C. Après centrifugation à 2000 tours/min pendant 10 min, le surnageant est éliminé. Le dilueur 2 est ajouté au culot pour obtenir 100 millions de spz par ml. La semence obtenue est équilibrée 30 à 45 min puis conditionnée en paillettes de 0,5 ml. La congélation peut être faite dans les vapeurs à 4 cm de la surface de l'azote liquide ou dans un congélateur programmable en perdant 60°C par min entre +4°C et - 140°C. Les paillettes sont alors plongées dans l'azote liquide (-196°C) pour y être conservées (Magistini, 1990).

Chaque éjaculat est trié après décongélation et observation de 3 paillettes prises au hasard : la motilité moyenne des 3 doit être supérieure à 35 %. Chaque insémination nécessite le contenu de 8 paillettes de 0,5 ml à 50 millions de spz pour obtenir 400 millions de spz (Fauquenot, 1987). La variabilité de la congelabilité de la semence entre étalons est grande (Magistini, 1990).

C7. Mise en place

L'insémination est utérine chez la jument. Le col de l'utérus est ouvert pendant les chaleurs (William et Payne, 1999).

La quantité de semence à placer est importante : 20 ml par exemple (Dusssauge, 1963). En pratique, on utilise en semence fraîche 15 à 20 ml pour une jument jeune et 20 à 30 ml pour une jument âgée. Le sperme congelé est redilué dans 20 à 25 ml de dilueur (Nicolich, 1989).

Palmer (1984) utilise des doses de 200 millions de spz dans un volume de 10 ml (Magistini, 1990). Pickett (1987) recommande des doses de 100 à 500 millions de spz mobiles selon le passé reproducteur de l'étalon et les conditions d'élevage (Nicolich, 1989).

Pour la semence congelée, la congélation des paillettes de 0,5 ml peut être plus ou moins rapide :

- 30 secondes à 38°C (ancienne méthode),
- au moins 5 secondes à 75 °C (nouvelle méthode) Cochran *et al.*, 1984 cité par Nicolich, 1989).

La semence peut être mise en place au moyen d'une seringue stérile de 20 à 50 ml chauffée à 37°C pour chaque jument à inséminer (Corde, 1985) munie d'un cathéter stérile de 60 cm environ. La mise en place se fait dans le corps de l'utérus, après traversée du col utérin (Nicolich, 1989).

L'insémination devrait avoir lieu moins de 12 heures avant et de 5 heures après l'ovulation pour la semence congelée et moins de 48 heures avant et de 5 heures après l'ovulation pour la semence fraîche (Chevalier, 1980). En semence fraîche, il faut inséminer les juments toutes les 48 heures pendant l'oestrus à partir du 2^e ou 3^e jour, puisque l'ovulation ne peut pas être prévue d'après le début des chaleurs, soit en moyenne 6 doses par femelle (Fauquenot, 1987). En semence congelée, il faut

inséminer les juments toutes les 18 heures pendant l'oestrus à partir du 2^e ou 3^e jour, à moins de pratiquer une palpation rectale 2 fois par jour (Chevalier, 1980). Un suivi des ovaires pendant les chaleurs par échographie ou palpation est utile pour la semence congelée (Fauquenot, 1987).

D. Résultats

Avec du sperme frais, les résultats sont au moins équivalents à ceux de la monte naturelle qui est peu productive : 55 % de fertilité en monte en main (Langlois 1977, cité par Chevalier, 1980). En Bretagne, en fin de saison le taux de fertilité était de 70 à 80 % de 1983 à 1985, et de 41 % par chaleur (Fauquenot, 1987). Magistrini (1990) signale pour les inséminations des haras nationaux en 1989 une fertilité de 82 % en fin de saison et de 43 % par cycle pour les étalons de sang et 77 % en fin de saison et de 42 % par cycle pour les étalons lourds.

Avec du sperme congelé, les résultats sont un peu inférieurs par chaleur (28 et 37 % par exemple), mais corrects par saison (66 et 74 % par exemple) en exploitant plus de cycles sexuels (Fauquenot, 1987).

BIBLIOGRAPHIE

AERA, 1985. La reproduction chez le cheval. Physiologie - pathologie. Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale, Maisons-Alfort, France, ed., 1 vol., 207 p.

Badinand F., 1985. Quelques généralités sur l'élevage du cheval en France. *In* : Maisons-Alfort, France, Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie – pathologie : 7-11.

Badinand F., Vasseur S., Guérin P., 1985. Diagnostic expérimental de la gestation chez la jument. *In* : Maisons-Alfort, France, Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie – pathologie : 151-160.

Chaffaux S., 1985. Physiologie de la gestation de la jument. *In* : Maisons-Alfort, France, Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie - pathologie : 131-137.

Chevalier F. C., 1980. Contribution à l'étude de l'insémination artificielle du cheval. Thèse Méd. vét. n°12, ENV Alfort, Créteil, 91 p.

Corde R., 1985. Saillie - Insémination artificielle - Infertilité du mâle. *In* : Maisons-Alfort, France, Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie - pathologie : 67-73.

Dowsett K. F., Pattie W. A., 1987. Variation in characteristics of stallion semen caused by breed, age, season of year and service frequency. *J. Reprod. Fert.*, **35**: 645-657.

Esling W., 1985. Diagnostic de gestation. *In* : Maisons-Alfort, France, Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie – pathologie : 139-150.

Fauquenot A., 1987. L'insémination artificielle chez les équidés. *BTIA*, **44** (mai): 23-26.

Fontaine M., 1987. Vade-mecum du Vétérinaire. Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène. Porcher C., Mollereau H., Nicolas E. et Brion A., Paris, Vigot. 15e ed., 1 vol., 1 642 p.

Gayrard V., 2008. Physiologie de la reproduction. http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/ppt/cycle_oestral-2008.ppt. Toulouse, ENVT [consulté 17.04.2009]

Hafez E. S. E., 1987. Reproduction in farm animals. [Reproduction chez les animaux d'élevage]. 5e édition Lea and Febiger, Philadelphia, ed., 1 vol., 649 p.

Kenney R. M., Bergman R. V., Cooper W. L., Morse G. W., 1975. Minimal contamination techniques for breeding mares: technics and preliminary findings. *Proc. Am. Assoc. Equine Practnr.*: 327-336.

Kolb E., 1975. Physiologie des animaux domestiques. Paris, Vigot Frères. ed., 1 vol., 974 p.

Magistrini M., 1990. Techniques de conservation de la semence d'étalon. *Elevage et Insémin.*, **238** (juillet): 3-10.

Meyer C., ed. sc., 2009, Dictionnaire des Sciences Animales. [On line]. Montpellier, France, Cirad. [date de consultation 17/04/2009]. <URL : <http://dico-sciences-animales.cirad.fr/>>

Meyer C., 2009b. Le colostrum et les animaux domestiques. Note bibliographique. Montpellier, France, Cirad, 9 p.

Nicolich C., 1989. L'insémination artificielle équine. Thèse méd vét Nantes n° 22, ENV Nantes, Nantes, 205 p.

Nishikawa Y., 1975. Studies on preservation of raw and frozen horse semen. *J Reprod. Fert.*, **23** (suppl.): 99-104.

Palmer E., 1984. Factors affecting stallion semen survival and fertility. *In*: Proc. 10th Intern. Congress on Anim. Reprod. and Art. Insem., Urbana, Champaign, 3, p. 377.

Palmer E., Fauquenot A., 1984. L'Insémination Artificielle des juments: bilan de 5 années de recherche et d'utilisation pratique. *In* : INRA ed., Le cheval, 1 vol.

Payne W. J. A., Wilson R. T., 1999. An introduction to animal husbandry in the tropics. Blackwell Scientific, Oxford (Royaume-Uni), 5e ed., 1 vol., 816 p.

Pickett B. W., Voss J. L., 1975. The effect of semen extenders and sperm number on mare fertility. *J. reprod. Fert.*, **23** (suppl.): 95-98.

Tibary A., Bakkoury M., Anouassi A., Mazouz A., Ouassat M., Sghiri A., 1994a. Reproduction équine : tome 1. La jument. Rabat, Actes Editions, ed., Manuels Scientifiques et Techniques, 1 vol., 438 p.

Tibary A., Sghiri A., Anouassi A., 1994b. Physiologie de la reproduction chez la jument. *In* : Tibary A. et Bakkoury M. ed. Reproduction équine : tome 1. La jument. Manuels Scientifiques et Techniques. Rabat, Actes Editions. 1 vol : p. 21-86.

Tibary A., Anouassi A., Bakkoury M., 1994c. Examen de la fonction sexuelle chez la jument. *In* : Tibary A. et Bakkoury M. ed. Reproduction équine : tome 1. La jument. Manuels Scientifiques et Techniques. Rabat, Actes Editions. 1 vol : 87-162.

Valon F., 1985. Détection de l'oestrus et de l'ovulation. Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie - pathologie. Maisons-Alfort, France, 1, **1**: 7-11.

Valon F., Chaffaux S., 1983. Le prélèvement du sperme chez le cheval. *Rec. Med. Vet.*, **159** (11): 699-973.

ANNEXE 1
COMPOSITION DE QUELQUES DILUEURS DE SEMENCE FRAÎCHE

Nishikawa, 1975

Dilueur CGH-27

Glucose		4,5 g
Glycine		0,7 g
Caséine		0,5 g
Jaune d'oeuf		7% (v/v)
Gélatine		0,1 g
Phosphate Na (Na ₂ HPO ₄ , 12 H ₂ O)	0,05 g	
Chlorure K		0,025g
Tartrate NaK		0,25g
Eau distillée		100ml
pH = 6,7 à 6,9 ajusté par 2 % d'acide citrique		

Pickett et Voss, 1975

Glucose		1,16 %
Jaune d'oeuf		22,80 %
Glycérol		5,41 %
Tris		2,40 %
Acide citrique pH=7,0	1,33%	
Pénicilline et streptomycine		

Kenney et al., 1975

Dilueur E-Z Mixin

Lait écrémé		2,4 g
Glucose		4,9 g
Bicarbonate Na		0,15 g
Gentamycine		100 mg
Eau distillée pH = 0,7	100ml	

Palmer, 1984

Lait 1/2 écrémé UHT		
Pénicilline		50 UI/ml
Gentamycine		50 g/ml

ANNEXE 2
EXEMPLE DE DILUEURS DE SEMENCE CONGEELEE

Palmer, 1984

Dilueur n° 1

Glucose	5 g
Lactose	0,3 g
Raffinose	0,3 g
Citrate Na (5,5 H ₂ O)	0,06 g
Citrate K	0,082 g
Pénicilline	100 UI/ml
Gentamycine	100 ug/ml
Eau distillée	100 ml
+ Lait écrémé UHT	100 ml
+ 2 % jaune d'œuf	

Dilueur n° 2

Dilueur n°1
+
Glycérol 2,5 %