

VARIABILITÉ ET RÉPÉTABILITÉ DU NOMBRE D'OVULATIONS OBTENU APRÈS INJECTION DE 1 600 UI DE PMSG ET DE 1 500 UI DE HCG

J.-C. MARIANA, P. MAULÉON, Monique BENOIT et D. CHUPIN
avec la collaboration technique de Y. DE FONTAUBERT et Marie-José PRAT

*Institut national de la Recherche agronomique,
Laboratoire de Physiologie de la Reproduction, 37 - Nouzilly, France*

La variabilité des réponses ovariennes est un des problèmes essentiels de la superovulation et cela dans toutes les espèces : vache, brebis, lapine, ratte, hamster.

La variation de la réponse est liée à la race ainsi que cela a été signalé chez la Lapine (PARKES, 1943) ; chez la Brebis (DAUZIER et THIBAUT, 1956 ; VAN RENSBURG, 1964).

Chez les bovins, des différences raciales de taux de superovulation sans être significatives apparaissent dans les résultats de GORDON *et al.* (1962).

Aussi une comparaison des réponses nombre d'ovulations après injection de PMSG et HCG a été entreprise chez deux races bovines. En outre, nous nous sommes demandés si, entre deux populations de vaches de même race, la distribution des nombres d'ovulations obtenus avec un traitement hormonal donné était la même à plusieurs années d'intervalle, si cette distribution changeait pour des animaux de race différente et si la réponse d'un individu était répétable.

Au cours de dépouillements préliminaires (MAULÉON, 1966) nous avons pensé que le seuil de sensibilité individuelle dépendait de la réserve de follicules primordiaux et que le nombre d'ovulations était d'autant moins variable que l'injection exogène d'hormones gonadotropes était mieux synchronisée avec la décharge endogène d'hormones hypophysaires. Ces concepts ont été examinés à nouveau en particulier pour un traitement hormonal donné.

Les résultats obtenus au cours de l'expérience relative aux effets de différentes doses de PMSG et HCG sur le nombre d'ovulations (MAULÉON, MARIANA, BENOIT, SOLARI, CHUPIN, 1969) : résultats présentés au chapitre précédent (expérience A1), nous ont permis de choisir un traitement hormonal pour étudier la variabilité des réponses individuelles et définir les facteurs susceptibles de la contrôler. La dose de PMSG injectée ne doit pas modifier la durée du cycle œstrien au cours duquel a lieu le traitement, mais elle doit donner un fort pourcentage d'animaux superovulés avec

une très petite proportion de vaches ayant plus de quatre ovulations. La dose de 1 600 UI de PMSG supplémentée avec 1 500 ou 3 000 UI de HCG est celle qui, actuellement, répond le mieux à ces impératifs.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les conditions d'injection des hormones PMSG et HCG, les méthodes de détection d'œstrus ont été précisées au cours des chapitres précédents. Un seul traitement hormonal a été utilisé pour analyser la répétabilité de la courbe de fréquence des taux d'ovulations de deux populations de vaches de même race *F. F. P. N.* : 1 600 UI de PMSG injectées par voie intramusculaire 4 jours avant la date présumée de l'œstrus et 1 500 UI de HCG injectées par voie intraveineuse dès l'apparition de cet œstrus. Deux groupes de vaches ont reçu ce traitement.

Le premier groupe est celui des vaches traitées en avril 1964 et décembre 1965 (vaches d'une partie de l'expérience A1 plus les vaches témoins de l'expérience CV1, et celles du groupe BIIIa et les animaux abattus à 60 jours pour l'étude de la mortalité embryonnaire : groupe BIIIc). Ce groupe de 53 vaches ne constitue donc pas une expérience homogène ; les vaches de l'expérience A1 ont reçu de l'hormone PMSG d'origine Roussel, alors que toutes les autres vaches ont été injectées avec de l'hormone gonadotrope sérique d'origine Organon. Toutefois, toutes ces expériences partielles ont été réalisées à Jouy-en-Josas et les animaux étaient tous primipares. Enfin les ovulations ont été dénombrées par comptage des corps jaunes après abattage des vaches 39 h \pm 3 et 48 h \pm 3 après le début de l'œstrus et prélèvement des ovaires (vaches des expériences A1 et témoins de CV1-BIIIa). Les taux d'ovulation ont été aussi déterminés soit à partir des corps jaunes de gestation lorsque les vaches sont gestantes et abattues 40 à 50 jours après la saillie, soit moins de trois jours après le retour en œstrus qui suit les chaleurs du traitement de superovulation. Dans ce cas on détermine le nombre de corps jaunes du cycle précédent (c1).

Le deuxième groupe comprend 78 vaches de race *Frisonne* importées de Hollande et également primipares. Ces animaux ont été traités par l'hormone gonadotrope sérique d'origine Organon. Le contrôle du nombre d'ovulations a été effectué chez tous ces animaux par endoscopie 7 à 8 jours après l'apparition de l'œstrus selon une technique mise au point par l'un de nous (MARIANA, 1969).

La variabilité d'ordre génétique a été étudiée non pas par rapport à un seul traitement hormonal mais par une analyse factorielle 2×2 des effets des deux hormones PMSG et HCG à deux niveaux (1 600 UI et 2 000 UI de PMSG ; 0 et 1 500 UI de HCG).

52 vaches primipares allaitantes de race *Charolaise* ont été traitées au cours de cette expérience AII et les résultats comparés à ceux des animaux de race *Française Frisonne Pie Noire* des expériences A1, BIII et BIV précédemment considérés. En outre 8 autres vaches de race *F. F. P. N.* ont reçu 1 600 UI de PMSG + 0 UI de HCG. Le contrôle de l'œstrus a été précédemment décrit, le nombre d'ovulations a été déterminé après abattage et prélèvement dans les mêmes conditions que dans l'expérience A1.

L'étude de la répétabilité « individuelle » de la réponse ovarienne à un même traitement hormonal a été effectuée sur les 26 animaux de l'expérience BIV qui, non gestants, revenaient en chaleurs après la saillie suivant le premier traitement de superovulation. Ces animaux n'étaient traités à nouveau que si le cycle œstrien de durée normale suivait le retour en chaleurs. L'intervalle entre deux traitements était donc variable puisque les intervalles saillies-retours étaient compris entre 21 jours et plus de 100 jours. L'évaluation du nombre d'ovulations à chaque traitement était réalisée par endoscopie.

Un dénombrement folliculaire macroscopique a été effectué sur tous les ovaires, dans les conditions précisées antérieurement.

Les ovaires des vaches des expériences A1, BIII et BIV ont été fixés au Bouin Hollande sublimé, déshydratés, inclus à la paraffine, coupés à 15 μ , montés selon le schéma suivant : prélèvement des 10 premières coupes sériées. Pour les 100 coupes suivantes, seule une coupe sur 5 a été étalée et de la même façon pour les 110 dernières coupes ; dans toute la partie centrale, une coupe sur 30 a été prélevée, 5 montées sur lame. La coloration a été effectuée selon la technique trichrome de Masson. Les follicules primordiaux contenus dans ces coupes ont ensuite été comptés sous microscope en prenant le noyau de l'ovocyte comme marqueur ; le nombre total a été calculé à partir de ces comptages et de l'échantillonnage réalisé. Il n'a pas été effectué de corrections de comptage sur les chiffres observés. La même épaisseur de coupe et le même échantillonnage ont été adoptés pour tous les ovaires pour que les chiffres aient une valeur de comparaison entre individus. Seuls des résultats préliminaires des vaches *F. F. P. N.* de l'expérience A1 sont rapportés ici.

TABEAU I

Comparaison de deux expériences de superovulation réalisées sur des vaches de race F. F. P. N. en utilisant comme traitement :
 une injection de 1 600 UI de PMSG 4 jours avant la date présumée des chaleurs
 et une injection de 1 500 UI de HCG au moment de l'œstrus

Nombre d'ovulations	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	10	Total
Exp. 64-65 (A _I + B _{III} a-c)	0	22	10	5	5	5	2	1	0	2	0	1	53
	0 %	41,5 %	18,8 %	9,4 %	9,4 %	9,4 %	3,8 %	1,9 %	0 %	3,8 %	0 %	1,9 %	
	2	28	15	7	11	2	3	3	1	2	2	2	78
Exp. 68 (B _{IV})	2,6 %	35,8 %	19,2 %	8,9 %	14,1 %	2,6 %	3,8 %	3,8 %	1,3 %	2,6 %	2,6 %	2,6 %	
	2	50	25	12	16	7	5	4	1	4	2	3	131
	1,5 %	38 %	19 %	9,1 %	12,9 %	5,3 %	3,8 %	3 %	0,75 %	3 %	1,5 %	2,10 %	

Test d'homogénéité $\chi^2 = 6,277$ χ^2 seuil 0,05 = 19,69 = 11.

RÉSULTATS

1. Répétabilité de la courbe de distribution du nombre d'ovulations en réponse au traitement hormonal 1 600 UI de PMSG et 1 500 UI de HCG

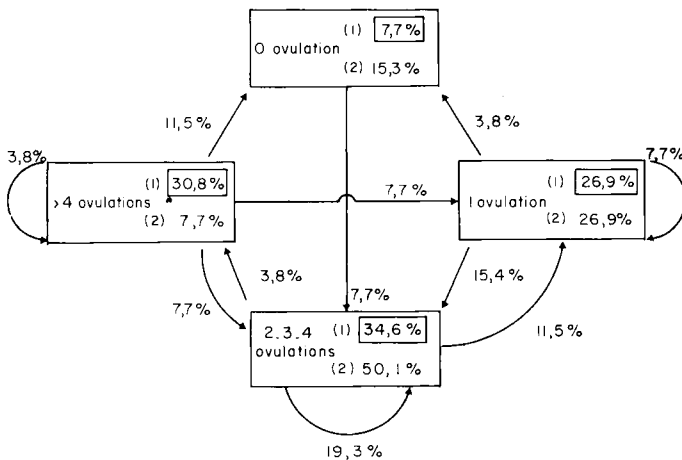
La comparaison des résultats obtenus sur les deux groupes de vaches de race *F. F. P. N.* en 1964-1965 et 1968 sont présentés dans le tableau 1. Le test χ^2 démontre très significativement l'homogénéité des distributions considérées pour des classes très étroites de nombre d'ovulations.

Il y a donc répétabilité de la distribution des nombres d'ovulations sur toute l'étendue de la variabilité des réponses.

Les pourcentages d'animaux ayant donné respectivement 0 et 1 ovulation, 2-4 ovulations et plus de 4 ovulations sont de 39,4 p. 100, 41,0 p. 100 et 19,6 p. 100, résultats obtenus sur 131 vaches. Ceci représente les réponses que l'on peut obtenir en utilisant un tel traitement hormonal sur un échantillon suffisant de vache *F. F. P. N.*

2. Répétabilité individuelle à un même traitement hormonal

26 vaches ont reçu un deuxième traitement hormonal 1 600 UI de PMSG et 1 500 UI de HCG, 21 à 100 jours après le premier. L'endoscopie permettant de connaître les deux réponses ovariennes pour chaque vache individuellement, nous avons



(1) % de vaches ayant un type de réponse ovarienne après le 1^{er} traitement PMSG + HCG

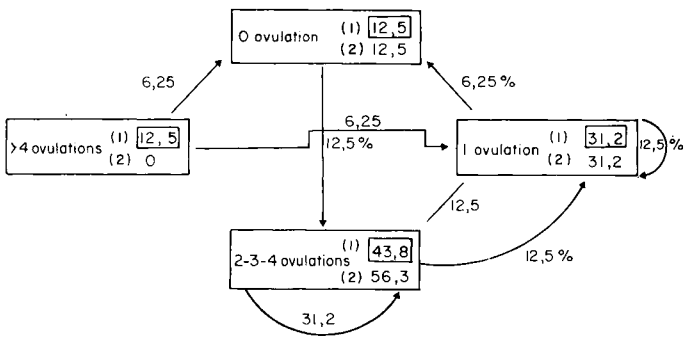
(2) % après le 2^me traitement PMSG + HCG

FIG. 1. — Différences de répartition des vaches entre les quatre classes de nombre d'ovulations après un premier et un deuxième traitement (1 600 UI PMSG + 1 500 UI HCG — effectif 26 vaches)

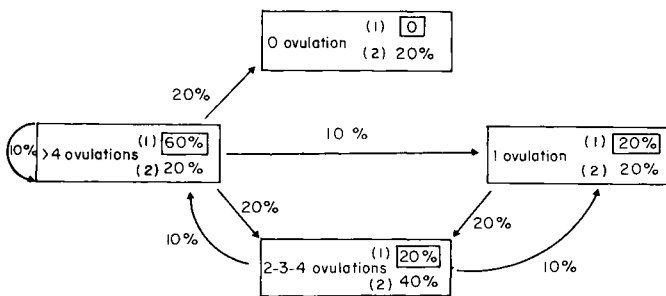
exprimé les résultats en pourcentages d'animaux présentant un type de réponse : nombre d'ovulations pour chacun de ces traitements. Trois cas se présentent, les vaches ont le même type de réponse, une réponse plus forte ou une réponse moins forte. Pour chaque classe de nombre d'ovulations, il y a donc eu ces trois types d'animaux et nous les avons indiqués sur la figure 1. Sur les flèches sont indiqués les pourcentages de vaches, exprimés par rapport au nombre total d'animaux ayant eu un deuxième traitement, qui changent de classe de nombre d'ovulations. Il ne s'agit évidemment que d'indication, car les p. 100 d'animaux représentant l'un ou l'autre des trois cas pour chaque classe de réponse n'ont été déterminés que sur un petit nombre d'animaux.

Indépendamment de l'intervalle entre les deux traitements hormonaux 30,8 p. 100 des vaches (soit 8/26) se retrouvent dans la même classe de réponse qu'au premier traitement. Si l'on considère seulement les 16 vaches qui ont été traitées à nouveau avec PMSG et HCG moins de 50 jours après le premier traitement, 43,7 % (soit 7 vaches sur 16) se retrouvent dans la même classe dont 31,2 p. 100 dans la classe 2-3-4 ovulations (fig. 2 a). Par contre, lorsque le 2^e traitement est effectué plus de 120 jours après le 1^{er}, 10 p. 100 seulement des animaux ont la même réponse (fig. 2 b).

a) Vaches ayant eu des retours précoces (effectif 16)



b) Vaches ayant eu des retours tardifs (effectif 10)



(1) % de vaches ayant un type de réponse ovarienne après le 1^{er} traitement PMSG + HCG

(2) % après le 2^{me} traitement PMSG + HCG

FIG. 2. — Différence de répartition des vaches entre les quatre classes de nombre d'ovulations après un premier et un deuxième traitement (1 600 UI PMSG + 1 500 UI HCG)

Quel que soit l'intervalle entre les deux injections de PMSG, le pourcentage de vaches ayant des réponses de plus de 4 ovulations diminue : il passe de 30,8 p. 100 à 7,7 p. 100 ; 11,5 p. 100 de ces vaches n'ont pas d'ovulation et 7,7 p. 100 n'en ont plus qu'une seule lors du deuxième traitement. De même il y a légèrement plus d'animaux ayant eu une réponse 2-3-4 ovulations qui ont une réponse 1 ovulation qu'il n'y en a ayant une réponse plus élevée : 11,5 p. 100 contre 3,8 p. 100. Cependant plus de la moitié des vaches des classes 0 et 1 ovulation auront une réponse plus élevée, ce qui indique que toutes n'avaient pas exprimé pleinement leur possibilité après un premier traitement (fig. 1, 2 a et 2 b).

Ces changements de classe aboutissent après un deuxième traitement à la stabilité des distributions des classes 1 ovulation et 2-3-4 ovulations, à la diminution de la classe des trop fortes réponses, plus de 4 ovulations, mais l'augmentation du nombre d'animaux n'ayant pas d'ovulations.

3. Influence de quelques facteurs sur la variabilité des nombres d'ovulations

a) Intervalle injection de PMSG-œstrus.

La distribution des nombres d'ovulations après le traitement 1 600 UI de PMSG + 1 500 UI de HCG (expérience A_I, B_{IIIa} et B_{IV}) est homogène sur toute l'étendue des intervalles injection PMSG-œstrus.

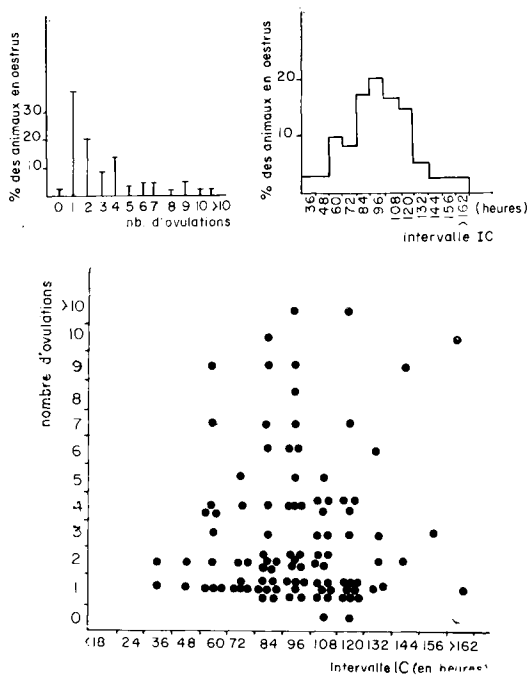


FIG. 3. — Relations entre le nombre d'ovulations et l'intervalle injection PMSG-œstrus (dose PMSG 1 600 UI HCG 1 500 UI)
104 vaches

La variabilité du nombre d'ovulations apparait le mieux dans la zone des intervalles injections chaleurs où le p. 100 d'animaux est le plus important, ce qui a pour effet de donner au nuage de points une répartition en triangle faussement hétérogène (fig. 3).

Nous avons effectué un test d'homogénéité en vérifiant l'inégalité

$$\sqrt{2\chi^2} < \sqrt{2\nu - 1} + t$$

formule dans laquelle $\chi^2 = 120,28$ et $\nu =$ nombre de degrés de liberté = 21.

Le calcul montre qu'il y a bien homogénéité de la répartition du nombre d'ovulations sur toute l'étendue des intervalles injection-chaleurs avec une probabilité de 95 p. 100 (fig. 3).

Ce fait est également frappant pour la répartition du nuage de points « ovulation-IC » obtenu après injection de doses de 2 000 UI de PMSG et quelle que soit la

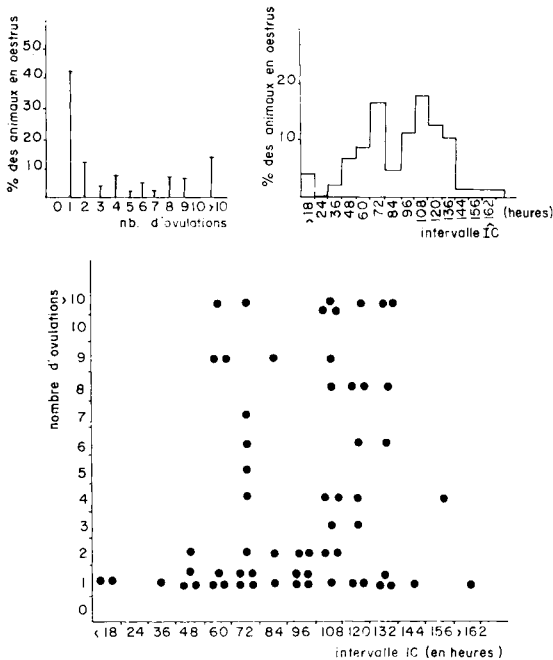


FIG. 4. — Relations entre le nombre d'ovulations et l'intervalle injection PMSG-œstrus (dose 2 000 UI de PMSG, toutes doses de HCG) (Exp. A₁ 59 vaches)

dose de HCG. Au clivage de la distribution des intervalles injection-œstrus (IC) après l'injection de 2 000 UI de PMSG est associé celui du nombre d'ovulations en fonction de IC (fig. 4). Les deux distributions, nombre d'ovulations et intervalle injection-œstrus, sont donc indépendantes. Le nombre d'ovulations n'augmente, ni ne diminue lorsque l'intervalle IC varie. Cependant, lorsque l'intervalle injection-chaleurs est inférieur à 60 heures, le nombre d'ovulations n'est jamais supérieur à 2 pour les onze données obtenues après injection soit de 1 600 UI soit de 2 000 UI de PMSG.

Par contre, le rendement d'ovulation $R' = \frac{OV}{F' + OV}$ (F' : follicules de taille supérieure à 10 mm observés sur les ovaires après ovulation) augmente avec l'accroissement de l'intervalle injection-chaueurs (fig. 5). Il en est de même pour le rendement R obtenu en considérant tous les follicules de taille supérieure à 5 mm sauf lorsque la dose de PMSG injectée n'est que de 1 600 UI.

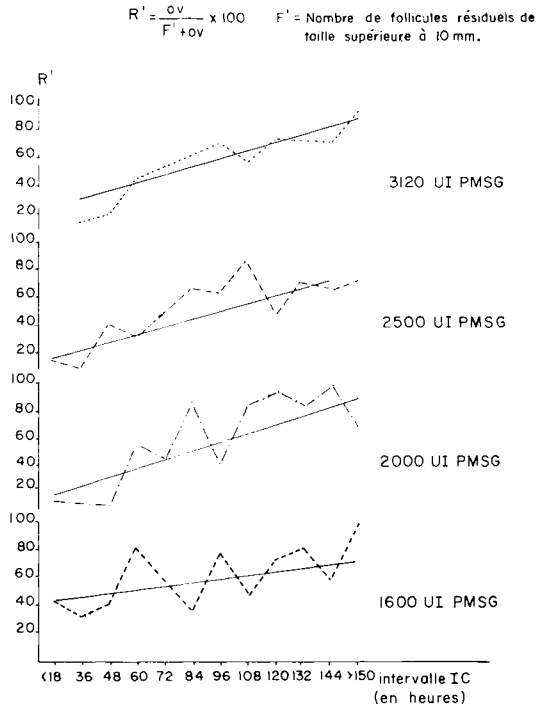


FIG. 5. — Relations entre rendement d'ovulations R' (pour follicules > 10 mm) et l'intervalle injection de PMSG-œstrus (IC)

b) *Intervalle œstrus précédent-injection de PMSG (jour du cycle œstrien).*

Il existe peu de différences dans le pourcentage de vaches superovulées selon que l'injection de PMSG est effectuée les 15^e, 16^e ou 17^e jours du cycle. Mais il y a une tendance à ce que le pourcentage de trop fortes superovulations (plus de quatre ovulations) augmente lorsque l'injection est faite plus tard dans le cycle (18^e jour au lieu du 15^e jour) (tabl. 2).

c) *Race.*

Une comparaison des effets de quatre traitements PMSG et HCG a été faite entre les vaches de race *F. F. P. N.* des expériences antérieures et des vaches de race *Charolaise*.

Les vaches de race *Charolaise* ont une sensibilité aux injections de PMSG et de HCG beaucoup plus grande que celle des animaux *F. F. P. N.* ce qui se traduit par un nombre moyen d'ovulations plus élevé pour chacun des quatre traitements (tabl. 3).

TABLEAU 2

Pourcentages de vaches superovulées en fonction du jour
d'injection de PMSG au cours du cycle

Jour du cycle	Race F. F. P. N. (1 600 UI PMSG + 1 500 UI HCG)			Race Charolaise (1 600 UI et 2 000 UI PMSG + 1 500 UI HCG)		
	Nombre d'animaux	P. 100 d'ani- maux ayant 0-1 ovulat.	P. 100 d'ani- maux ayant 2-3-4 ov.	P. 100 d'ani- maux ayant 4 ov.	Nombre d'animaux	P. 100 d'ani- maux super- ovulés
14	1	100	42,3	15,4	3	66,6
15	26	42,8	38,3	19,1	8	75,0
16	47	42,6	45,0	20,0	20	85,0
17	20	35,0	57,1	28,6	17	70,6
18	7	14,3	100		10	80,0
19	1			100	2	50,0
20	1				1	100

TABLEAU 3

Moyennes et variances des nombres d'ovulations obtenus chez des vaches
de race Charolaise et F. F. P. N. (expériences A_I, A_{II}, B_{III}, et B_{IV})
après injections de PMSG et HCG

Dose de HCG en UI	Dose de PMSG en UI			
	1 600		2 000	
	Charolaise	F. F. P. N.	Charolaise	F. F. P. N.
0	\bar{x} = 6,17 S ² = 89,50 n = 17	\bar{x} = 2,60 S ² = n = 22	\bar{x} = 10,35 S ² = 34,30 n = 14	\bar{x} = 5,00 S ² = 23,30 n = 16
1 500	\bar{x} = 7,25 S ² = 43,80 n = 16	\bar{x} = 2,98 S ² = n = 131	\bar{x} = 15,31 S ² = 192,06 n = 16	\bar{x} = 4,27 S ² = 24,78 n = 15

Le nombre moyen augmente avec la dose de PMSG comme pour la race *F. F. P. N.* mais, en outre, l'injection de l'hormone HCG accroît le nombre moyen d'ovulations pour la dose de 2 000 UI de PMSG, effet qui n'existe pas pour les vaches de race *F. F. P. N.* (fig. 6).

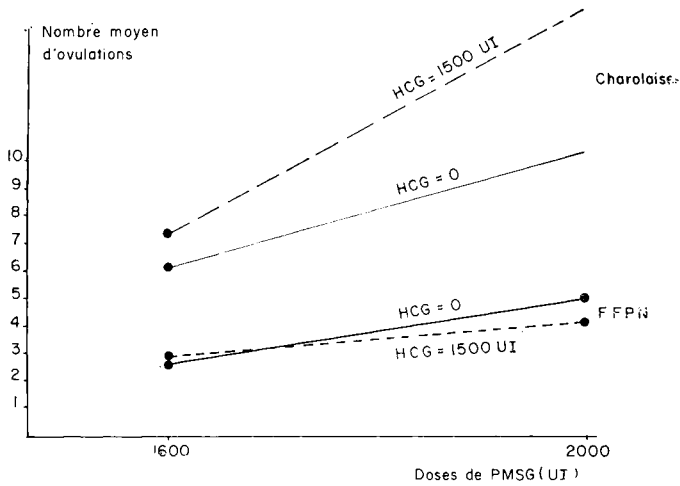


FIG. 6. — Comparaisons des réponses nombre moyen d'ovulations obtenues avec 4 traitements PMSG + HCG sur des vaches de race *F. F. P. N.* et *Charolaises*

Toutefois, comme pour la race *F. F. P. N.*, la variabilité des réponses est élevée. Cette variabilité augmente avec la moyenne, elle est donc plus élevée chez les animaux de race *Charolaise* dont les réponses moyennes sont plus fortes (tabl. 3). La distribution du nombre d'ovulations après injection de 1 600 UI de PMSG s'apparente à celle obtenue avec 3 120 UI chez des animaux de race *F. F. P. N.* Après l'injection de 2 000 UI de PMSG aux animaux de race *Charolaise*, 75 à 86 p. 100 des

TABLEAU 4

Variations individuelles de la réponse ovarienne des vaches de race *Charolaise* à plusieurs doses de PMSG et de HCG (expérience A_{II})

Doses de HCG en UI	Doses de PMSG en UI									
	1 600					2 000				
0	3	1	2	3	1	1	13	5	22	7
	1	5	4	2	4	2	18	11	15	7
	10	6	8	1	1	10	11	14	9	
	8	8								
1 500	1	21	15	4	2	8	1	23	19	1
	11	5	3	4	21	2	29	24	14	48
	1	6	1	4	8	15	37	18	7	1
	9					7				

vaches ont plus de quatre ovulations, ce qui n'a jamais été obtenu même avec la dose de 3 120 UI chez les vaches *Française Frisonne Pie Noire* (tabl. 4).

Si l'on définit la sensibilité des animaux d'une race comme le nombre d'UI de PMSG nécessaire pour obtenir une ovulation supplémentaire (au-delà d'une ovulation normale) c'est-à-dire $\frac{\text{Nb d'animaux} \times \text{dose de PMSG}}{(\sum_i x_i - 1)}$, $x_i - 1$ étant le nombre d'ovulations surnuméraires, on constate que le coût en UI de ces ovulations supplémentaires décroît lorsque la dose de PMSG augmente. Il faut environ trois fois moins d'UI de PMSG pour obtenir une ovulation supplémentaire chez les femelles de race *Charolaise* que chez les vaches de race *F. F. P. N.* (fig. 7).

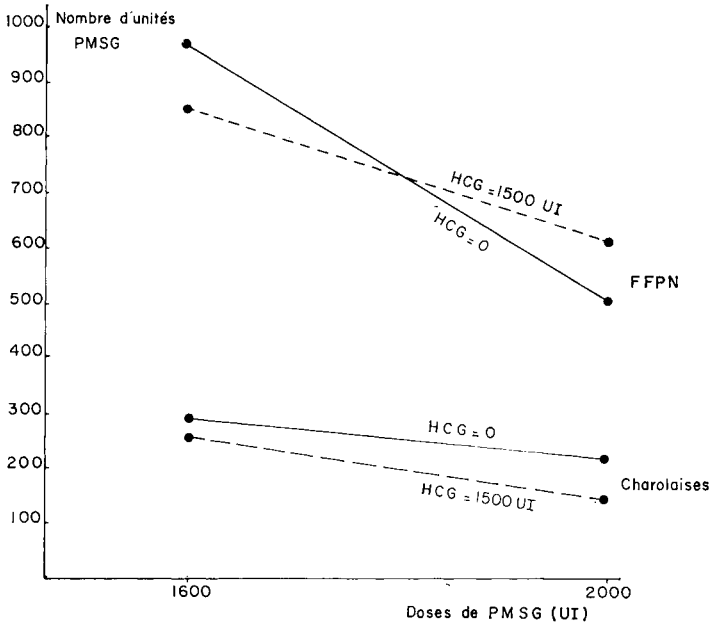


FIG. 7. — Coût comparé en unités PMSG d'une ovulation supplémentaire (au-dessus de une) chez des vaches de race F. F. P. N. et Charolaise

d) Nombre de follicules primordiaux (fig. 8.)

Onze vaches ayant eu des réponses faibles de 0 ou 1 ovulation et dix des réponses fortes avec plus de huit ovulations ont été étudiées histologiquement. Les follicules primordiaux, c'est-à-dire ceux qui sont entourés d'une seule couche de cellules folliculeuses et dont les ovocytes n'ont pas commencé leur croissance, ont été comptés. Bien que les corrections de comptage n'aient pas été effectuées, des comparaisons restent possibles puisque la taille des noyaux des cellules et l'épaisseur des coupes sont sensiblement constantes.

Le nombre moyen, non corrigé, de follicules primordiaux est de 233 900 dans la classe des vaches ayant eu de fortes réponses ovariennes, alors qu'il est 160 200 dans la classe des vaches à faibles réponses. Néanmoins l'étendue de la variabilité et son importance enlèvent beaucoup de valeur à cette comparaison.

Une tendance se dessine néanmoins : sur les neuf animaux contenant moins

de 100 000 follicules primordiaux dans leurs deux ovaires, six ont donné de faibles réponses à PMSG. Mais il est certain que parmi les animaux ayant une forte « potentialité de réponse » évaluée d'après le nombre de follicules primordiaux, certains n'ont eu qu'une ovulation, le caractère structure ovarienne ne constituant pas le seul facteur déterminant la réponse nombre d'ovulations à PMSG.

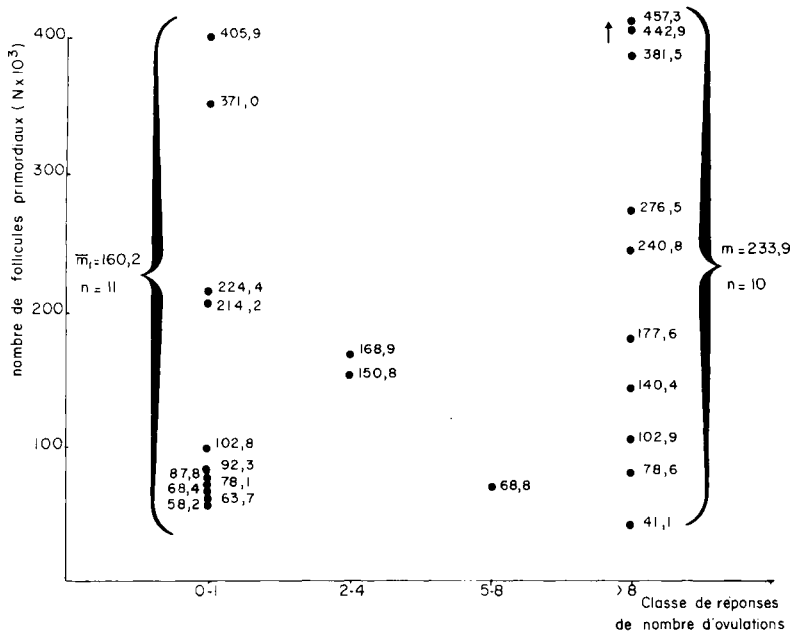


FIG. 8. — Répartition des nombres non corrigés de follicules primordiaux présents dans les deux ovaires de vaches en fonction de la réponse nombre d'ovulations à PMSG (vaches âgées de 2 à 3 ans primipares)

DISCUSSION

La variabilité des réponses à un traitement hormonal de superovulation est un fait classique observé par de nombreux auteurs. Ceux-ci ont insisté sur la difficulté qu'entraîne l'utilisation pratique d'une telle méthode chez les mammifères domestiques (THIBAUT et DAUZIER, 1956 ; GORDON *et al.*, 1962 ; THIBAUT et MAULÉON, 1964 ; HAFEZ *et al.*, 1965 ; HAFEZ, 1969).

Le fait important et nouveau apporté ici est la constance de la distribution du nombre d'ovulations pour un traitement hormonal déterminé. Au point de vue pratique, ceci montre que l'on peut, pour une population donnée, prédire la courbe de distribution des réponses que l'on aura. Au point de vue théorique, elle montre qu'il existe une loi dose-réponse sous-jacente et que sa connaissance peut guider vers une amélioration des proportions d'animaux ayant un type de réponse souhaité.

Bien que notre expérience d'étude de répétabilité individuelle à un même traitement hormonal ait été biaisée par la variabilité de l'intervalle entre les deux injec-

tions de PMSG, les résultats obtenus sont néanmoins intéressants par suite de la précision apportée par la technique de l'endoscopie (MARIANA, 1969) pour la détermination du taux d'ovulation. La diminution de la classe des taux d'ovulation très élevés après un deuxième traitement hormonal est en accord avec le fait que le nombre moyen de corps jaunes est seulement légèrement plus élevé chez les génisses recevant une dose plus forte de PMSG 170 à 200 jours après la première (HAFEZ *et al.*, 1965). Cette diminution de réponse provient vraisemblablement de l'apparition d'une activité antigonadotrope vis-à-vis des propriétés folliculostimulantes de PMSG, sans que les possibilités de réponse au niveau ovarien aient été diminuées (HAFEZ *et al.*, 1965). De ce fait, il est difficile de démontrer que la réponse ovarienne aux hormones gonadotropes est une caractéristique individuelle répétable. Ainsi, trouver que seulement 30,8 p. 100 des animaux se retrouvent après un deuxième traitement dans la même classe de réponse, n'entraîne pas que l'effecteur ou que l'hypophyse ne possèdent pas des caractéristiques individuelles jouant un rôle important dans le type de réponse à l'action folliculostimulante de PMSG.

Les possibilités d'individualiser un traitement reposent sur l'existence d'une telle caractéristique, à moins que l'on opère comme en clinique humaine par une série de tâtonnements successifs (GEMZELL *et al.*, 1966) difficilement compatibles avec les impératifs zootechniques.

Les variations génétiques de réponses aux hormones gonadotropes semblent prouver l'existence d'une loi biologique, loi que l'on ne connaît pas avec précision. Ainsi, chez les Souris, après traitement par les hormones PMSG et HCG deux types de différences de réponse entre souches sont décelables : d'une part la fertilité après traitement est généralement liée à celle obtenue après accouplement naturel (EDWARDS, WILSON et FOWLER, 1963). MAC LAREN (1962) a montré qu'à une prolificité naturelle élevée, obtenue par sélection de la taille de la portée (FALCONER, 1967), correspondait une augmentation de la réponse du nombre d'ovulations à PMSG. Toutefois la relation n'est pas simple puisque, si cette sélection s'accompagne d'une augmentation de la sensibilité aux faibles doses de PMSG injectée, il y a une diminution de cette sensibilité aux fortes doses.

D'autre part les changements de taux d'ovulations obtenues par sélection sur un faible taux naturel d'ovulations ou sur des taux d'ovulations induites par PMSG faibles proviennent, chez la Souris, de changements de sensibilité ovarienne (LAND, 1965 ; LAND et FALCONER, 1969). La forte sensibilité de la race *Charolaise* au traitement hormonal PMSG + HCG peut également être reliée au taux de naissances gémeillaires naturellement important dans cette race (AURIOL *et al.*, 1962 ; MÉNISIER, 1965).

Inversement le faible taux d'ovulations des vaches *Shorthorn* (GORDON *et al.*, 1962), et celui de naissances gémeillaires après un traitement hormonal de 2 000 UI de PMSG des animaux de race *Angus* (TURMAN *et al.*, 1968) correspondent à un taux de naissances gémeillaires naturellement bas dans ces races.

Il n'y a qu'une relation lâche entre les variations du nombre d'ovulations et celles du nombre de follicules primordiaux. Pour établir cette relation il convient de considérer deux classes d'animaux : ceux ayant de fortes potentialités hypophysaires et ceux ayant de faibles potentialités. En effet, il a été montré qu'il existe simultanément des variations génétiques de structures ovariennes (souris : JONES et KROHN ; rat : MAULÉON et RAO, 1963 ; brebis : LAND, 1969) et de teneur hypophy-

saire en FSH et LH (MAULÉON et PELLETIER, 1964). Or, étudiant le nombre de follicules primordiaux des ovaires de brebis croisées avec la race *Finnoise*, race chez laquelle les taux d'ovulation naturels sont élevés, LAND (1969) trouve une population folliculaire à la naissance plus faible que chez les animaux des autres races, mais, par contre, des indices d'une activité hypophysaire très grande (taux de follicules à antrum très élevé). Il n'y a donc pas à l'intérieur de cette espèce de dépendance entre le nombre de follicules primordiaux et le fort taux d'ovulations.

Ces faits sont en rapport avec ceux que nous avons trouvés sur les rats de la souche 12 qui avaient une faible population folliculaire et une sensibilité réduite à FSH mais qui possédaient une grande richesse de FSH hypophysaire et une prolificité naturelle normale (MAULÉON et PELLETIER, 1964). Ces rats s'apparentent ainsi aux brebis croisées avec la race *Finnoise*. Par contre, nous avons trouvé chez les rattes de souche 04 ayant une population folliculaire importante, une sensibilité à FSH plus grande (MAULÉON et RAO, 1963). Il n'est pas encore possible de dire dans quelle catégorie se placent les vaches de race *Charolaise*. Toutes ces remarques démontrent clairement qu'il n'y a vraisemblablement pas de relation directe simple entre le taux d'ovulations et une structure cible déterminée lorsque l'on injecte l'hormone gonadotrope PMSG. Cette hormone peut en effet modifier la décharge endogène d'hormones gonadotropes soit par action directe, soit par suite de modifications stéroïdiennes agissant par feed back sur le complexe hypothalamo-hypophysaire.

L'analyse des autres facteurs de variabilité est difficile à partir du moment où le problème du caractère individuel des réponses aux hormones n'est pas résolu.

Ainsi, comme HAFEZ *et al.* (1965) et GORDON *et al.* (1962) nous n'avons pu montrer de variations saisonnières nettes de la réponse à PMSG et les résultats n'ont pas été rapportés ici. Néanmoins, nous nous sommes toujours protégés contre l'existence possible d'une telle variation, soit par la constitution de blocs de traitement (expérience A₁), soit en essayant que la durée des expériences n'excède pas deux mois (expérience B_{IV}), soit enfin dans le cas de la comparaison entre races en traitant à nouveau un lot de vaches *F. F. P. N.* (expérience A_{II}) à l'époque où se déroulaient les injections des vaches *Charolaises*. Ces vaches ont d'ailleurs donné les mêmes résultats après le traitement 1 600 UI PMSG + 0 HCG que celles du lot correspondant à l'expérience A₁.

Contrairement aux présomptions que nous avons précédemment présentées (MAULÉON, 1966) et aux conclusions de HAFEZ *et al.* (1965), il ne semble pas possible de dire qu'il existe de corrélation entre l'intervalle injection-œstrus et la distribution du nombre d'ovulations, dans les limites des variations observées de cet intervalle. Il n'y a pas non plus de relation entre cet intervalle et le nombre moyen d'ovulations (GORDON *et al.*, 1962 ; SCANLON *et al.*, 1968), si ce n'est une tendance à une diminution de ce nombre lorsque l'intervalle est court. Par contre, tous ces auteurs ainsi que LAMMING et ROWSON (1952) s'accordent à dire que le rendement d'ovulations augmente avec l'intervalle injection-chaleurs surtout au-delà de 5 jours.

Si l'on exprime les variations des facteurs moment d'injection en fonction du jour d'injection par rapport à l'œstrus précédent, il est clair que cette injection ne doit pas être faite avant le 16^e jour (GORDON *et al.*, 1962) et au-delà du 18^e jour. Entre ces limites, le moment le plus favorable reste à déterminer pour une population donnée.

En conclusion, il est primordial de remarquer que la distribution des nombres

d'ovulations, après traitement hormonal, observée pour une population suffisamment grande de vaches est répétable. Mais il est important de vérifier si ce taux d'ovulation est une caractéristique individuelle répétable ou si la deuxième réponse d'un individu à PMSG ne ressemble pas plus à la première que deux réponses entre individus au cours du premier traitement. En effet, c'est seulement dans le premier cas que l'on pourra « individualiser » le traitement. Néanmoins l'existence de différences entre races met en valeur la nécessité d'une détermination préalable de la dose et du moment d'injection de PMSG au cours du cycle pour appliquer cette méthode simple de superovulation.

RÉSUMÉ

L'association des doses de 1 600 UI de PMSG et de 1 500 UI de HCG ayant donné le plus fort pourcentage de réponses souhaitées (2-3-4 ovulations) au cours de l'expérience factorielle révélant les effets de diverses doses de ses hormones, ce traitement hormonal a été utilisé sur 130 femelles primipares, en lactation, de même race *F. F. P. N.* Il a été montré qu'en dépit de l'étendue de la variabilité des réponses nombre d'ovulations, leur distribution se réalise toujours de la même façon : 39,4 p. 100 des vaches répondent par 0-1 ovulation, 41,0 p. 100 par 2, 3, 4 ovulations et 19,6 p. 100 par plus de 4 ovulations.

Cette donnée est très importante : d'abord au point de vue pratique puisqu'elle montre que, pour une population donnée, on peut prédire la réponse que l'on aura pour une dose donnée de PMSG, ensuite, parce qu'elle confirme l'existence d'une loi dose-réponse sous-jacente dont la connaissance peut guider vers une amélioration des proportions d'animaux ayant la réponse souhaitée.

Grâce à l'endoscopie, les réponses individuelles à deux traitements hormonaux successifs de 1 600 UI de PMSG + 1 500 UI de HCG ont été observées. 30,8 p. 100 seulement des animaux restent après un deuxième traitement dans la classe de réponse où ils se trouvaient après le premier. Le critère nombre d'ovulations ne reflète pas uniquement la sensibilité ovarienne ; aussi est-il difficile de trier les individus selon ce critère ou de montrer que cette réponse nombre d'ovulation est répétable.

Il n'existe d'ailleurs pas de corrélation entre cette variable et l'intervalle injection de PMSG-œstrus. Par contre, le nombre d'ovulations induites par différentes doses de PMSG et de HCG montre que la « susceptibilité » des animaux de race *Charolaise* à ces hormones est deux fois et demie plus grande. Ainsi après l'injection de 2 000 UI de PMSG aux vaches de race *Charolaise*, 86 p. 100 de vaches ont plus de quatre ovulations ce qui n'a jamais été obtenu même avec la dose de 3 120 UI chez les animaux de race *F. F. P. N.* Ceci fait penser que le niveau des réponses ne peut être prévu que par la connaissance de plusieurs paramètres différents entre les races. Ces paramètres sont le nombre d'ovulations naturelles, le nombre d'ovulations induites, l'importance de la décharge cyclique de LH, le stock de follicules primordiaux et le rendement des phénomènes de croissance folliculaire. Un essai a été fait pour évaluer la potentialité de réponse individuelle d'après le nombre de follicules primordiaux. Ce caractère se révèle important mais ne peut pas déterminer à lui seul la réponse nombre d'ovulations à PMSG.

SUMMARY

VARIABILITY AND REPEATABILITY OF THE OVULATION NUMBER AFTER INJECTION OF 1,600 IU OF PMSG AND 1,500 IU OF HCG

Combined doses of 1,600 IU of PMSG and 1,500 IU of HCG having given the largest percentage of desired responses (2, 3, and 4 ovulations) during a factorial experiment showing the effects of various doses of these hormones, this same hormonal treatment was applied to 130 primiparous milk cows of the same breed (*French Friesian*). It is shown that despite the range in variability of the number of ovulations response, its distribution is always the same ; that is, 39.4 p. 100 of the cows respond by 0 or 1 ovulation, 41 p. 100 by 2, 3, or 4 ovulations, and 19.6 p. 100 by more than 4 ovulations.

This data is very important : first, because from a practical viewpoint it shows that, for a given population, the response to a given dose of PMSG may be predicted. Secondly, it confirms the existence of a subjacent dose-response law, which may lead to an improvement in the proportion of animals giving a desired response.

Thanks to endoscopy, it was possible to observe individual responses to two different successive treatments of 1,600 I. U. of PMSG + 1,500 I. U. of HCG. After a second treatment, only 30.8 p. 100 of the animals remained in the response class where they were after the first treatment. The number of ovulations criterium does not express only ovarian sensitivity, and thus it is difficult to sort out individuals according to that criterium, or to show that the number of ovulations response is repeatable.

Furthermore, there is no correlation between that variable and the time interval between PMSG injection and œstrus. On the other hand, the number of ovulations induced by different doses of PMSG and HCG shows that the sensitivity of *Charolais* animals to these hormones is two and a half times greater. Thus, after *Charolais* cows are injected with 2,000 I. U. of PMSG, 86 p. 100 have more than 4 ovulations. This response has never been obtained in *French Friesian* cows, even with a dose of 3,120 I. U. of PMSG. It seems that the threshold of response may only be predicted by knowing the parameters which differ from one breed to another. These parameters are the number of natural ovulation rate, amount of LH cyclic discharge, primordial follicle reserve, and the yield of the follicular growth phenomenon. A trial was made to evaluate the potentiality of individual response according to primordial follicle number. This character is important, but cannot by itself determine the number of ovulations response to PMSG.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AURIOL P., DUMONT B. L., LEFEBVRE J., DUPLAN J. M., 1961. *Caractéristiques générales des vaches Charolaises et croissance de leurs produits*. Syndicat de Contrôle de Performances des Elevages Nivernais, 28 pp.
- EDWARDS R. G., WILSON E. D., FOWLER R. E., 1963. Genetic and hormonal influence on ovulation and implantation in adult mice treated with gonadotrophins. *J. Endocr.*, **26**, 389-399.
- FALCONER D. S., 1967. Growth and fecundity in mice. *Mem. Soc. Endocr.*, **15**, 207-224.
- GEMZELL C. A., ROSS P., 1966. Pregnancy following treatment with human gonadotropins. *Am. J. Obst. Gynec.*, **94**, 490-496.
- GORDON I., WILLIAMS G., EDWARDS S., 1962. The use of serum gonadotrophin (PMSG) in the induction of twin pregnancy in the cow. *J. Agric. Sci.*, **59**, 143-198.
- HAFEZ E. S. E., JAINUDEEN M. R., LINDSAY D. R., 1965. Gonadotropin induced twinning and related phenomena in beef cattle. *Acta Endocr.*, **50**, Suppl. 102, 1-44.
- HAFEZ E. S. E., 1969. La superovulation chez les animaux domestiques. In *L'ovulation*, Masson et C^{ie} éd. 85-105.
- JONES E. C., KROHN P. L., 1961. The relationship between age, numbers of oocytes and fertility in virgin and multiparous mice. *J. Endocr.*, **21**, 469-495.
- LAMMING G. E., ROWSON L. E., 1952. Superovulation and ovum transplantation in cattle. *IInd Cong. Artif. Insem. Reprod. Physiol.*, Copenhagen, 144-153.
- LAND R. B., 1965. A genetic study of fertility in the mouse. *Ph. D. Thesis Univ. Edimburgh*.
- LAND R. B., FALCONER D. S., 1969. Genetic study of ovulation rate in the mouse. *Genet. Res.*, **13**, 25-46.
- LAND R. B., 1969. The number of oocytes present at birth in the ovaries of pure and finnish *Landrace* cross *Blackface* and *Welsh* sheep (non publié).
- MAC LAREN A., 1962. The relation between natural fecundity and response to follicle stimulating hormone. *J. Endocr.*, **25**, 137-144.
- MARIANA J. C., 1969. Technique d'examen *in vivo* des ovaires chez la Vache. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **9**.
- MAULÉON P., RAO H. K., 1963. Variations génétiques des populations folliculaires dans les ovaires de rattes impubères. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **3**, 21-31.
- MAULÉON P., PELLETIER J., 1964. Variations génétiques du fonctionnement hypophysaire de trois souches de rattes immatures. Relations avec la fertilité. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **4**, 105-112.
- MAULÉON P., 1966. Use of gonadotropins for raising the fertility of domestic mammals. *Proc. Vth World Congress Fertil. Steril.*, Stockholm, 35-42.
- MAULÉON P., MARIANA J. C., BENOIT M., SOLARI A., CHUPIN D., 1969. Influence de différentes doses de PMSG et HCG injectées en phase folliculaire du cycle œstrien sur le nombre et le rendement d'ovulations de vaches de race *Française Frisonne Pie Noire* (à paraître).

- MENISSIER R., 1965. *La reproductivité chez les bovins*. Mémoire de fin d'études (non publié).
- PARKES A. S., 1943. Induction of superovulation and superfecundation in rabbits. *J. Endocr.*, **3**, 268-279.
- VAN RENSBURG S. W. J., 1964. Ovum production : action of various gonadotrophins in sheep and goats. *Onderstepoort. J. Vet. Res.*, **31**, 97-106.
- SCANLON P., SREENAN J., GORDON I., 1968. Hormonal induction of superovulation in cattle. *J. Agric. Sci. Camb.*, **70**, 179-182.
- THIBAUT C., DAUZIER L., 1956. L'utilisation des hormones sexuelles et des hormones gonadotropes dans l'accroissement de la fécondité des mammifères domestiques. *Proc. IInd World Cong. Fertil. Steril.*, Napoli, 1307-1315.
- THIBAUT C., MAULÉON P., 1964. Quelques problèmes neuroendocriniens intéressant la reproduction des mammifères domestiques. *Vth Cong. int. Reprod. anim.*, Trento, 427-470.
- TURMAN E. S., RENBARGER R. E., STEPHENS D. F., 1969. Producing multiple births in beef cows by hormone injections (non publié).
-