



HAL
open science

Étude rétrospective de la production d'embryon in vivo et analyse économique du modèle de production d'embryons en station de reproduction sur des génisses de race normande entre 2012 et 2020

Aurélie Pen

► To cite this version:

Aurélie Pen. Étude rétrospective de la production d'embryon in vivo et analyse économique du modèle de production d'embryons en station de reproduction sur des génisses de race normande entre 2012 et 2020. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03981195

HAL Id: dumas-03981195

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03981195v1>

Submitted on 9 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2022

**ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE LA PRODUCTION
D'EMBRYON *IN VIVO* ET ANALYSE ÉCONOMIQUE DU
MODÈLE DE PRODUCTION D'EMBRYONS EN STATION DE
REPRODUCTION SUR DES GÉNISSES DE RACE
NORMANDE ENTRE 2012 ET 2020**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 15 décembre 2022

par

Aurélie, Catherine, Nicole, Marie PEN

sous la direction de

Alline DE PAULA REIS

JURY

Président du jury :	M. Alain FONTBONNE	Professeur à l'EnvA
Directrice de thèse :	Mme Alline DE PAULA REIS	Maître de Conférences à l'EnvA
Examineur :	M. Andrew PONTER	Professeur à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



Version du 8 février 2022

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Maître de conférences HDR	DPASP
M	Blot	Stephane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loic	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Fédérighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guénéec	Christelle	Maître de conférences HDR	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
M	Perrot	Sébastien	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Benckekroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Constant	Fabienne	Maître de conférences	DPASP
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
Mme	De Paula Reis	Aline	Maître de conférences	DPASP
Mme	Decambon	Adeline	Maître de conférences	DEPEC
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
M	Desbois	Christophe	Maître de conférences	DEPEC
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guélin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
M	Mauffré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mespouhès-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Ravary-Plumioën	Bérangère	Maître de conférences	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, M. Alain Fontbonne, Professeur à l'EnvA,

Pour avoir accepté de présider mon jury de thèse, veuillez trouver l'expression de mes sincères remerciements.

A Mme Aline De Paula Reis, Maître de conférences à l'EnvA,

Pour votre implication sans faille dans cette thèse, vos conseils éclairés, votre disponibilité et vos nombreuses relectures, sincères remerciements.

A M. Andrew Ponter, Professeur à l'EnvA,

Pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse, sincères remerciements.

A Mme Hélène Quinton, Vétérinaire responsable en entreprise de reproduction,

Pour votre aide et votre implication dans cette thèse, pour toutes les données fournies et les heures passées à les trier, sincères remerciements.

A M. Maxime Banville, Biostatisticien en entreprise de reproduction,

Pour votre grande aide et votre expertise en statistiques, sincères remerciements.

Remerciements	5
Liste des figures	11
Liste des tableaux	13
Liste des abréviations	15
Introduction	17
BIBLIOGRAPHIE	19
1. Mise en place de la maturité sexuelle chez le bovin femelle	19
1.1. Physiologie de la mise en place de la puberté chez le bovin femelle	19
1.2. Evolution des ovocytes lors de la mise en place de la maturité sexuelle	20
1.2.1. Développement folliculaire	20
1.2.2. Qualité des ovocytes	21
1.3. Contrôle de la précocité de la puberté chez la génisse	22
1.3.1. Facteurs intrinsèques	23
1.3.1.1. Facteurs liés à la race	23
1.3.1.2. Facteurs liés à la génétique	23
1.3.2. Facteurs extrinsèques	23
1.3.2.1. Facteurs liés à la croissance et à l'alimentation	23
1.3.2.2. Facteurs liés à l'environnement	24
2. Les spécificités de la race Normande	25
2.1. Généralités sur la race Normande	25
2.2. Performances de reproduction : la race Normande dans le cheptel français	26
2.2.1. Etude de l'âge au premier vêlage	26
2.2.2. Etude du nombre moyen d'IA par vache inséminée	28
2.3. Pour conclure sur la précocité de la race Normande	28
3. Les biotechnologies de la reproduction chez les jeunes bovins : le cas de la génisse	29
3.1. Protocoles de superovulation	29
3.1.1. Principe de base	29
3.1.2. Optimisation du protocole	30
3.1.2.1. Utilisation d'un progestagène	30
3.1.2.2. Levée de la dominance du follicule dominant	30
3.2. Les techniques de collecte d'embryons	31
3.2.1. Fécondation in vivo et collecte d'embryons	31
3.2.2. Ovum Pick up et fécondation in vitro (OPU-FIV)	33
3.3. Rendements théoriques des biotechnologies de la reproduction	36
3.3.1. Selon le stade physiologique du bovin	36

3.3.2. Selon le stade folliculaire	36
3.3.3. Selon le protocole de superovulation	37
3.3.4. Selon l'intervalle entre les collectes	37
3.3.4.1. In vivo	37
3.3.4.2. In vitro	38
ETUDE STATISTIQUE ET ECONOMIQUE	39
1. Contexte	39
1.1. Réduction du temps en station	39
1.2. Augmentation de la production d'embryons	39
1.3. Optimisation du progrès génétique	40
1.4. Application des biotechnologies de l'embryon en race Normande et motivation de notre étude	40
2. Matériel et méthodes	41
2.1. Données fournies	41
2.2. Tri des données (études 2 et 3)	41
2.3. Description des variables (études 2 et 3)	42
2.3.1. Variables quantitatives	42
2.3.2. Variables qualitatives	44
2.3.2.1. Description des variables	44
2.3.2.2. Description des protocoles	46
2.3.2.2.1. Protocole « classique »	46
2.3.2.2.2. Protocole « protobo »	46
2.4. Exploitation des variables	46
2.4.1. Étude 1 : étude descriptive	46
2.4.2. Étude 2 : étude statistique univariée	46
2.4.3. Étude 3 : étude statistique multivariée	47
3. Résultats	47
3.1. Étude 1 : Descriptif de l'activité en transfert embryonnaire (Fécondation in vivo uniquement) de la station de donneuses en race Normande	47
3.1.1. Observations générales	48
3.1.1.1. Nombre de collectes	48
3.1.1.2. Intervalle entre collectes	49
3.1.1.3. Age à la collecte	50
3.1.1.4. Poids des individus	52
3.1.1.5. Gain Moyen Quotidien (GMQ) autour de la collecte	53
3.1.1.6. Voie mâle	54

3.1.2. Enjeux en race Normande	54
3.2. Étude 2: Modèle statistique univarié	55
3.2.1. Facteurs intrinsèques	55
3.2.1.1. Poids	55
3.2.1.1.1. Poids d'entrée en station	56
3.2.1.1.2. Poids théorique à 6 mois	56
3.2.1.2. Âge de la donneuse à la première collecte	57
3.2.1.3. Rang de collecte	58
3.2.2. Facteurs extrinsèques	58
3.2.2.1. Type de protocole	58
3.2.2.2. Dose de FSH utilisée	59
3.2.2.3. Année de collecte	60
3.2.2.4. Trimestre de collecte	60
3.2.2.5. Intervalle de collecte	61
3.2.2.5.1. Intervalle entre les collectes 1 et 2	62
3.2.2.5.2. Intervalle entre les collectes 2 et 3	62
3.3. Étude 3 : Modèle statistique multivarié	63
3.3.1. Rang de collecte	64
3.3.2. Trimestre de collecte	65
3.3.3. Protocole de collecte	66
3.3.3.1. Famille de protocole	66
3.3.3.2. Dose de FSH utilisée	66
3.4. Étude 4 : étude économique	67
3.4.1. Protocoles de superovulation	67
3.4.2. Schémas de collecte	69
4. Limites	71
4.1. Étude 1 : étude descriptive	71
4.2. Étude 2 : étude statistique univariée	71
4.3. Étude 3 : étude statistique multivariée	72
4.4. Étude 4 : étude économique	72
5. Discussion	72
5.1. Étude 2 : étude statistique univariée	72
5.2. Étude 3 : étude statistique multivariée	75
5.3. Étude 4 : étude économique	75
Conclusion	77

Liste des références bibliographiques	79
Annexe 1 : Données transmises par l'entreprise de reproduction	81
Annexe 2 : Script R pour l'étude statistique univariée (Exemple des classes de poids d'entrée en station)	83
Annexe 3: Script R pour l'analyse statistique multivariée	85
Annexe 4 : Grille tarifaire des collectes in vivo en ferme	87
Annexe 5 : Fiche technique d'un embryon à vendre par l'entreprise de génétique	89

Liste des figures

Figure 1 : Schéma simplifié de la régulation de la production de Follicle Stimulating Hormone (FSH) et Luteinizing Hormone (LH) (Duittoz *et al.*, 2016)

Figure 2: Cycle folliculaire de la vache et hormones mises en jeu (Julia et Taveau, 2013)

Figure 3: Evolution du pourcentage d'embryons viables obtenus en fonction des étapes de développement réalisées *in vivo* ou *in vitro* sur des ovocytes issus de cycles naturels ou super stimulés, prélevés en abattoir ou bien par OPU (Merton *et al.*, 2003)

Figure 4 : Vaches des 3 races à l'origine de la race normande : la Cotentine à gauche (Seve et Rousselet, 1750), l'Augeronne au milieu (Rousseau et Dubois, 2015) et la Cauchoise à droite (Rousseau et Dubois, 2015).

Figure 5: Répartition de l'âge au premier vêlage parmi les troupeaux de Prim'Holsteins de France à gauche et répartition moyenne des âges au sein d'un troupeau de Prim'Holstein à droite (Institut de l'élevage, 2021)

Figure 6 : Répartition de l'âge au premier vêlage parmi les troupeaux de Normandes de France à gauche et répartition moyenne des âges au sein d'un troupeau de Normandes à droite (Institut de l'élevage, 2021).

Figure 7: Nombre d'IA par vache inséminée au sein des troupeaux de vaches Prim'Holstein (à gauche) et Normandes en France (à droite) (Institut de l'élevage, 2021).

Figure 8 : Exemple de protocole de superovulation (Phillips et Jahnke, 2016).

Figure 9 : Schéma de collecte d'embryons *in vivo* (Quinton, 2015).

Figure 10: Schéma du dispositif de rinçage des cornes utérines pour collecter des embryons *in vivo* (Quinton, 2015).

Figure 11 : Schéma des différents stades embryonnaires (Manuel IETS,(International Embryo Transfer Society), 2011).

Figure 12 : Récapitulatif des qualités des embryons en fonction de leur description et de leur aspect physique (Quinton, 2015).

Figure 13 : Schéma du principe d'une Ovum-pick-Up (OPU) (Quinton, 2015).

Figure 14: Schéma du matériel utilisé pour une OPU (Quinton, 2015).

Figure 15: Photographies d'ovocytes de qualité 1 entouré de leur cumulus, obtenus par OPU (a) et d'un ovocyte de qualité 4 entouré de son cumulus expansé obtenu par OPU (b) (Quinton, 2015).

Figure 16 : Chronologie de l'utilisation des biotechnologies de la reproduction chez les génisses Normandes en station.

Figure 17 : Description des 3 variables de GMQ utilisées dans l'étude.

Figure 18 : Déroulé du protocole de superovulation dit « classique ».

Figure 19: Déroulé du protocole de superovulation dit « protobo ».

Figure 20 : Evolution du nombre de collectes d'embryons en ferme et en station sur la période de 2012 à 2020.

Figure 21 : Evolution de l'intervalle de collecte (tous rangs compris) sur la période de 2012 à 2020.

Figure 22 : Evolution de l'âge des génisses et des taureaux à la collecte et du nombre d'embryons viables entre 2012 et 2020.

Figure 23 : Evolution de l'âge des génisses et des taureaux à la collecte et du nombre d'embryons viables en ferme et en station entre 2012 et 2020.

Figure 24 : Evolution des poids d'entrée en station et des poids théoriques à 6 mois et de collecte en fonction des années, en station.

Figure 25 : Evolution des GMQ des génisses autour de la collecte en station entre 2012 et 2020.

Figure 26: Evolution du nombre de collectes par taureaux.

Figure 27: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la classe de poids d'entrée en station (en kg) de la donneuse.

Figure 28: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la classe de poids théorique (en kg) à 6 mois de la donneuse.

Figure 29: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la classe d'âge en mois de la donneuse lors de la première collecte.

Figure 30: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) récoltés en fonction du rang de collecte.

Figure 31: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction du protocole de superovulation utilisé.

Figure 32 : Nombre d'embryon total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la dose de FSH utilisée dans le protocole de superovulation.

Figure 33 : Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de l'année de collecte.

Figure 34: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction du trimestre de collecte.

Figure 35: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) produits en fonction de la classe d'intervalle de collecte en semaines entre les collectes de rang 1 et 2

Figure 36: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de l'intervalle de collecte entre les collectes de rang 2 et 3.

Figure 37: Délais entre les collectes pour obtenir une production optimale d'embryons pour les génisses de race Normande en station selon les résultats obtenus entre 2012 et 2018.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Comparaison des caractéristiques de la race Normande avec la moyenne nationale comprenant l'ensemble de races élevées en France (Institut de l'élevage, 2019-2020).

Tableau 2 : Pourcentage de gestation attendu en fonction de la qualité de l'embryon (pose en embryon frais) (Quinton, 2015).

Tableau 3 : Comparaison des résultats moyens de collecte par ponction entre génisses et vaches (Rizos *et al.*, 2005).

Tableau 4 : Description des variables quantitatives (les variables explicatives sont en bleu et les variables réponse en saumon).

Tableau 5 : Description des variables qualitatives.

Tableau 6 : Présentation d'une partie des modèles multivariés testés et AIC associé.

Tableau 7 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du rang.

Tableau 8 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du rang.

Tableau 9 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du trimestre de collecte.

Tableau 10 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du trimestre de collecte.

Tableau 11 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du type de protocole de superovulation utilisé.

Tableau 12 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du type de protocole de superovulation utilisé.

Tableau 13 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du type de FSH utilisé.

Tableau 14 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du type de FSH utilisé.

Tableau 15 : Nom des spécialités médicamenteuses utilisées dans les protocoles de superovulation.

Tableau 16 : Prix moyen par embryon viable engendré par le protocole de superovulation

Tableau 17 : Nombre médian d'embryons viables obtenus selon le rang dans le contexte de notre étude.

Tableau 18 : Pourcentage de collectes à 0 embryons en fonction du protocole de superovulation utilisé.

Liste des abréviations

OPU : Ovum Pick Up

FIV : Fécondation *In Vitro*

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

FSH : Follicle Stimulating Hormone

LH : Luteinising Hormone

IGF-1 : Insulin Growth Factor 1

TB : Taux butyreux

TP : Taux protéique

IVV : Intervalle vêlage - vêlage

GMQ : Gain Moyen Quotidien

IA : Insémination artificielle

AIC : Aikaike Information Criterion

Introduction

De nos jours, il existe de réels enjeux de progrès génétique, afin d'avoir des individus toujours plus performants sur des caractéristiques choisies par un sélectionneur, dans le but d'améliorer une race. La race Normande, race objet de notre étude, est ainsi soumise à un schéma de sélection précis, sur des critères par exemple de production laitière, de fertilité, de conformation de mamelle, etc. Afin d'avoir des individus plus performants à chaque génération, il faut choisir les bons reproducteurs, mâles et femelles, qui sont aussi issus de schémas de sélections bien précis. On étudiera ici surtout la voie femelle, qui concentre la plupart des enjeux et qui est plus documentée que la voie mâle.

Dans un schéma "classique", sans intervention de biotechnologies de reproduction, les différentes étapes d'obtention d'un nouvel individu sont :

- La sélection des deux reproducteurs
- L'obtention de la puberté pour les deux reproducteurs
- La fécondation
- La gestation (le plus souvent un individu obtenu par gestation)
- La mise bas
- La croissance du nouvel individu jusqu'à sa puberté et son entrée dans le schéma de production afin d'évaluer ses capacités

Les enjeux de progrès génétique s'inscrivent aussi dans un contexte de production, et dans cette optique, le progrès génétique est attendu le plus rapidement possible, et de façon multiple. Cependant, certaines étapes, telles que la durée de gestation (9 mois), ne sont pas réductibles. Le nombre d'individus par gestation (les gestations gémellaires chez les bovins étant moins fiables) n'est pas modifiable non plus.

Il a donc fallu trouver d'autres leviers afin d'être plus rapide et d'avoir un impact plus important. Les biotechnologies de la reproduction ont permis de s'affranchir de l'obtention de la puberté, mais aussi d'obtenir, à partir d'une fécondation, plusieurs individus, au lieu d'un unique dans la plupart des cas. Aujourd'hui, les biotechnologies de la reproduction sont utilisées sur des génisses à partir de 6 mois, afin d'obtenir plusieurs embryons chez des individus qui ne sont pas encore capables de mener une gestation à terme. Les biotechnologies de la reproduction sont utilisées essentiellement chez les génisses, en effet, d'après les données de terrain, leur fertilité est meilleure, de plus, elles ne sont pas encore intégrées dans un schéma classique de production (lait ou viande), cela évite à l'éleveur d'avoir des baisses de production, et donc des baisses de revenus trop conséquentes.

On retrouve ces schémas de sélection intensive et de "course au progrès génétique" essentiellement en race Prim'Holstein en France, car il existe une mondialisation de la race et une vraie compétition autour des performances de cette race. Cependant, les objectifs de sélection intensive tendent à être aussi appliqués à d'autres races beaucoup moins mondialisées, et notamment la race Normande. Dans notre étude, nous allons donc nous focaliser sur les objectifs et les caractéristiques de la production d'embryons *in vivo* en race Normande en station de donneuse d'embryons. Nous allons aussi nous demander si les objectifs de production en race Prim'Holstein sont applicables en race Normande? Est-ce que cette course au progrès peut être aussi rapide en race Normande?

Nous allons dans un premier temps réaliser une étude bibliographique portant sur la mise en place de la puberté, les spécificités de la race Normande ainsi que les biotechnologies de la reproduction, puis réaliser une étude statistique sur la production d'embryons en race Normande à partir de données fournies par une entreprise de reproduction. Enfin, nous terminerons par une analyse économique de la situation.

BIBLIOGRAPHIE

1. Mise en place de la maturité sexuelle chez le bovin femelle

1.1. Physiologie de la mise en place de la puberté chez le bovin femelle

La puberté est définie comme l'ensemble des modifications biologiques d'un organisme permettant l'acquisition de la capacité à émettre des gamètes fonctionnels, et donc à se reproduire (Duittoz *et al.*, 2016). On peut définir la puberté stricte, qui correspond à l'émission du premier gamète. Cependant, chez les animaux, la plupart du temps, la puberté est vue comme l'ensemble des modifications comportementales et physiques que l'on a autour de la puberté, comme le comportement d'oestrus. En effet, la mise en place de la maturité sexuelle s'accompagne de modifications de nature hormonale et tissulaire, qui entraîneront des modifications physiques et comportementales, notamment par l'acceptation du chevauchement chez les animaux.

L'émission des premiers gamètes ne s'accompagne pas toujours de comportements d'oestrus dès la première ovulation. La puberté au sens strict peut donc apparaître avant la puberté que l'on peut qualifier de "comportementale", et qui va être repérée notamment par les éleveurs comme l'acquisition de la puberté. En effet, la première ovulation ne s'accompagnant pas de modifications comportementales est impossible de repérer sans méthodes invasives (Duittoz *et al.*, 2016).

Chez les mammifères femelles, d'un point de vue anatomique, on considère comme pubères les individus ayant acquis la taille adéquate de la filière pelvienne, ainsi que d'une bonne minéralisation du squelette, éléments indispensables à la mise bas et à la lactation qui la suit, ce qui correspond en général à l'atteinte de 65% du poids adulte (Perry, 2016).

Dans le cadre du transfert embryonnaire, on s'intéresse seulement à la production d'embryons, c'est la fonctionnalité et la cyclicité de l'ovaire qui est importante. Les critères de décision pour mettre une femelle à la production diffèrent selon si l'on s'inscrit dans un contexte de production d'embryons ou dans un contexte de production "classique" (laitier ou allaitant). La mise à la production est plus précoce pour la production d'embryons que pour la reproduction "classique", puisqu'il n'y a pas de mise bas. Dans notre étude, c'est donc la définition "stricte" de la puberté qui fait sens.

Chez l'individu en cours d'acquisition de puberté, c'est l'augmentation de la Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) circulante qui provoque l'ovulation. Lors de la période juvénile, la sécrétion de GnRH est inhibée par un signal négatif en provenance du cerveau (Figure 1), par l'intermédiaire du neuropeptide Y (Perry, 2016). De plus, lors de la période prépubère, l'hypothalamus est moins sensible au rétrocontrôle négatif que peuvent avoir les hormones stéroïdiennes produites par les follicules ; chez la génisse, il a été montré que c'est surtout la levée de l'inhibition de l'oestradiol qui déclenche la puberté, elle commence 50 jours environ avant la puberté, ces 50 jours constituent la période prépubère (Perry, 2016).

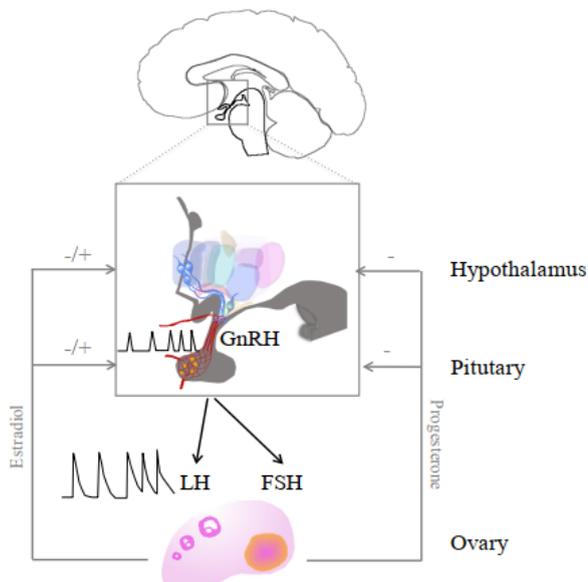


Figure 1 : Schéma simplifié de la régulation de la production de Follicle Stimulating Hormone (FSH) et Luteinizing Hormone (LH) (Duittoz *et al.*, 2016)

Autour de la puberté, on peut aussi remarquer que la concentration en leptine circulante (produite par le tissu adipeux) augmente dans le sang. Il a été montré que la leptine joue un rôle dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire, sans savoir quel est le mécanisme exact. La leptine rend compte de l'état de nutrition à long terme de la génisse, en particulier de son état corporel (Perry, 2016).

Ainsi, la GnRH peut augmenter, provoquant la production de gonadotrophines (Follicle Stimulating Hormone - FSH et Luteinizing Hormone - LH), jusqu'à l'activation totale de la gonade. La sécrétion de FSH et de LH provoque la croissance folliculaire et l'émission des premiers gamètes. Les stéroïdes sécrétés par les follicules provoquent une réorganisation des neurones, en particulier ceux impliqués dans les comportements sexuels, ce qui entraîne un comportement d'œstrus (Duittoz *et al.*, 2016).

Des modifications à l'échelle des ovaires et des follicules ont aussi lieu.

1.2. Evolution des ovocytes lors de la mise en place de la maturité sexuelle

1.2.1. Développement folliculaire

La vache possède une réserve de follicules primordiaux issus de la multiplication de cellules germinales appelées ovogonies chez le fœtus. Elle possède donc un stock limité de follicules (Monniaux *et al.*, 2009).

Une femelle pubère se distingue d'une femelle prépubère par la présence d'une cyclicité, que l'on appelle la cyclicité ovarienne. Le cycle de la vache dure en moyenne 21 jours (entre 18 et 24 jours), chez la génisse il est légèrement plus court, en moyenne 20 jours. Les cycles se déroulent sans interruption (sauf durant la gestation) durant toute l'année. Le cycle est composé de 2 à 3 vagues folliculaires, et seulement une des deux à trois vagues mène à une ovulation (Monniaux *et al.*, 2009).

Le cycle sexuel et folliculaire du bovin femelle se déroule sous l'influence de plusieurs hormones (Figure 2):

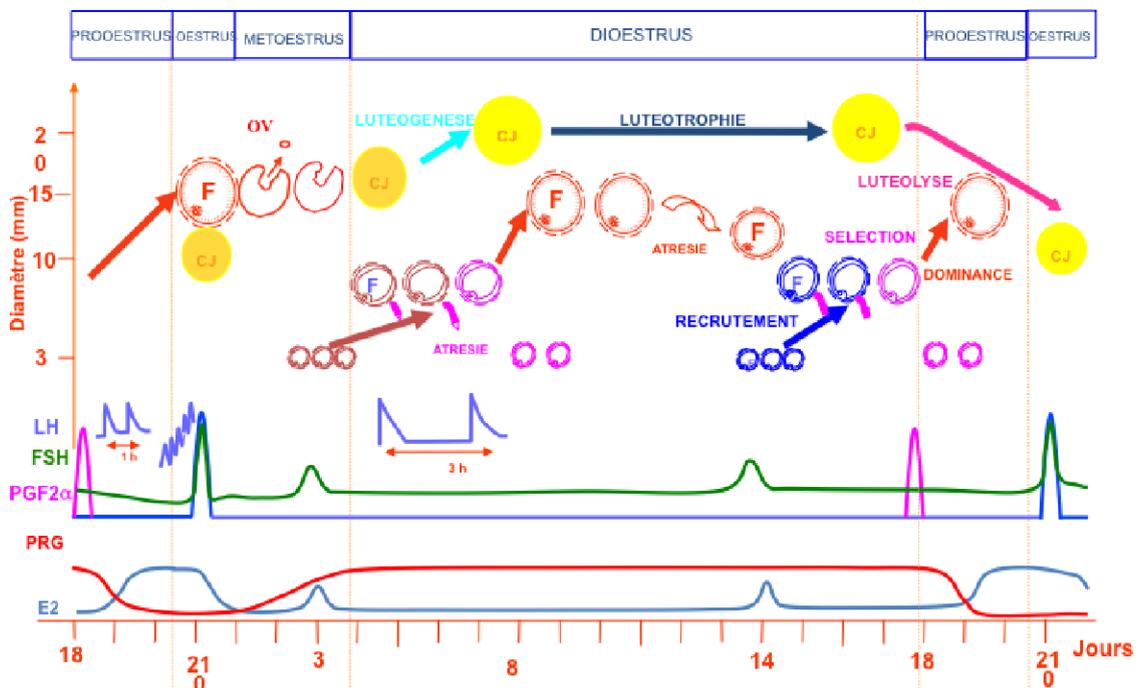
- La GnRH (Gonadotropin Release Hormone), synthétisée par l'hypothalamus, et stimule la production de FSH et LH
- La FSH (Follicle Stimulating Hormone), synthétisée par l'antéhypophyse, elle stimule la croissance des follicules ovariens
- La LH (Luteinizing Hormone), synthétisée par l'antéhypophyse, elle stimule la croissance terminale du follicule, provoque l'ovulation et la lutéinisation
- L'œstradiol, synthétisée par les follicules ovariens, lorsque synthétisée en petite quantité, exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. En forte quantité, elle exerce un rétrocontrôle positif sur ce dernier
- La progestérone, synthétisée par le corps jaune, exerce un rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, et freine la croissance du follicule dominant
- L'inhibine, synthétisée par la granulosa du follicule dominant, inhibe la synthèse de FSH et la croissance folliculaire et favorise la maturation du follicule dominant

Le point de départ du cycle est la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus, qui entraîne la production de FSH et de LH qui provoque la croissance des follicules. Les œstrogènes sont produits par les cellules de la thèque et de la granulosa des follicules et exercent un rétrocontrôle positif sur la sécrétion de FSH et LH. En grandissant, le follicule ovarien compte de plus en plus de cellules thécales et de la granulosa, ce qui augmente la production d'œstrogènes.

Si le follicule est dominant, il produit de l'inhibine, qui va inhiber la production de GnRH et se met à exprimer des récepteurs à la LH. Le follicule dominant finit sa croissance sous l'influence de la

LH, qui provoque ensuite l'ovulation. Après l'ovulation, le follicule se lutéinise et devient un corps jaune, qui sécrète de la progestérone (Duittoz *et al.*, 2016).

Figure 2: Cycle folliculaire de la vache et hormones mises en jeu (Julia et Taveau, 2013)



Il a été montré certaines différences entre les cycles œstraux de la génisse et de la vache (Duittoz *et al.*, 2016) :

- Chez la génisse, il a été montré que le taux d'hormones stéroïdiennes circulant dans le sang est plus élevé que chez les multipares, ce qui pourrait expliquer une meilleure fertilité chez les génisses
- Le cycle œstral de la génisse est plus court que celui de la vache
- Les ovocytes émis par les génisses sont plus petits que ceux émis par les vaches
- Le délai entre la lutéolyse et l'ovulation est plus long chez la vache que chez la génisse, ce qui explique que le cycle est plus long chez la vache.
- Les génisses ont plus tendance à plus avoir des cycles avec 4 vagues folliculaires que les vaches

La durée plus courte du cycle chez la génisse est intéressante en transfert embryonnaire car elle permet ainsi des collectes plus rapprochées que chez la vache. Mais c'est avant tout la fertilité plus importante de la génisse qui justifie l'utilisation quasi exclusive des génisses en transfert embryonnaire.

1.2.2. Qualité des ovocytes

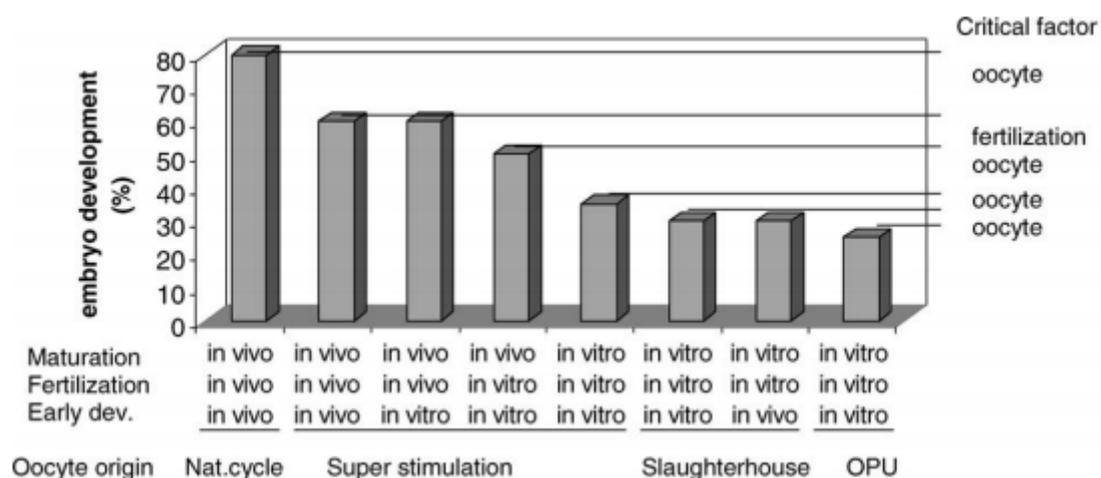
Le but, dans le cadre d'une production d'embryons, est d'obtenir des ovocytes de bonne qualité afin d'assurer un maximum de chances lors de la fécondation. En étant dans un contexte de commercialisation d'embryons, il est aussi important de produire une certaine quantité d'embryons afin d'assurer une rentabilité à l'entreprise.

Cependant, on peut remarquer, en règle générale, que l'augmentation de la production se fait souvent au détriment de la qualité. Ainsi, lors du cycle 'naturel' de la vache, il y a ovulation d'un ovocyte, alors que pour les vaches utilisées dans la production d'embryons, leurs ovaires sont stimulés pour produire un grand nombre d'embryons. On peut ainsi se demander si ces ovocytes sont d'une qualité équivalente à celle d'un ovocyte ovulé dans un cycle 'classique'.

Selon Merton *et al.* (2003), la qualité de l'ovocyte est définie comme sa capacité à engendrer, après fécondation, un embryon au stade de blastocyste dans un système de production *in vitro*. Nous avons pu voir dans la partie 1.2.1. que dans une vague folliculaire, seul un des follicules, le plus gros, va ovuler. On peut donc penser dans un premier temps qu'il s'agit d'une question de taille. Les follicules issus de traitement de superovulation auraient une moins bonne qualité du fait de leur taille, leur croissance n'aurait pas été suffisante et cela entraînerait une moins bonne maturation de l'ovocyte engendré et de moins bons résultats à l'issue de la fécondation. Or, Hagemann *et al.* (1999) ont montré que la taille de l'ovocyte n'influe pas sur sa qualité. A partir de ces observations, on peut donc se dire que tous les follicules d'une vague sont aptes à donner un ovocyte qui pourra être fécondé et donner un embryon par la suite si on peut lever la dominance du follicule dominant.

Merton *et al.* (2003) ont étudié les taux d'atteinte du stade blastocyste d'embryons en fonction de la provenance des ovocytes utilisés dans la fécondation (ovocytes issus de cycles naturels, de cycles super stimulés, récupérés en abattoir et ponctionnés par OPU), et de la réalisation de certaines étapes clés *in vivo* ou *in vitro*.

Figure 3: Evolution du pourcentage d'embryons viables obtenus en fonction des étapes de développement réalisées *in vivo* ou *in vitro* sur des ovocytes issus de cycles naturels ou super stimulés, prélevés en abattoir ou bien par OPU (Merton *et al.*, 2003).



On peut voir (Figure 3) que juste en passant d'ovocytes obtenus d'un cycle naturel à des ovocytes d'un cycle soumis à un protocole de superovulation, tout en restant sur une fécondation et un développement précoce *in vivo*, c'est-à-dire dans des conditions 'naturelles' on diminue de 20% la quantité d'embryons atteignant un stade de développement suffisant (soit, le stade blastocyste). Ainsi, cela témoigne d'une diminution de la qualité des ovocytes engendrant une diminution de fécondation et de développement des embryons (Merton *et al.*, 2003). Il est avancé par les auteurs qu'étant donné que la génisse est soumise à un traitement de superovulation, tous les ovocytes n'atteignent pas le même stade de maturation en même temps, ce qui peut expliquer les problèmes de fécondation et ensuite de développement des embryons. De plus, les auteurs ont montré que de forts taux d'œstradiol plasmatiques peuvent perturber la maturation des ovocytes. Or dans le cas d'une ovulation multiple, tous les follicules produisent de l'œstradiol, ce qui peut augmenter fortement les taux et donc être délétère pour la maturation et ovocytes et ainsi causer des problèmes de qualité.

Dans un contexte de production, l'idéal serait ainsi de trouver une balance entre la quantité et la qualité des ovocytes, il faut en effet produire assez d'embryons afin d'être rentable, mais aussi ne pas en produire trop afin de ne pas trop altérer la qualité de ces derniers.

1.3. Contrôle de la précocité de la puberté chez la génisse

L'apparition de la puberté est conditionnée par de multiples facteurs. Elle intègre des informations de plusieurs centres de régulation de l'organisme, en prenant en compte des facteurs liés à des caractères intrinsèques, tels que la race de l'animal, sa génétique, et des caractères extrinsèques tels que la saison, l'alimentation, la croissance. Ce sont donc des facteurs à maîtriser et

à utiliser dans la recherche d'une puberté plus précoce chez les génisses, notamment dans le cadre des biotechnologies de la reproduction où le but est d'exploiter au maximum la productivité de l'individu, et donc de commencer la production le plus jeune possible. De plus, dans le cadre des génisses utilisées en station, et qui doivent retourner en élevage ensuite, cela permet de les renvoyer gestantes en élevage le plus tôt possible, afin qu'elles puissent continuer leur gestation et ensuite faire leur lactation normalement, sans prendre de retard par rapport aux autres génisses.

1.3.1. Facteurs intrinsèques

1.3.1.1. Facteurs liés à la race

Le repère utilisé en élevage pour la mise en place de la puberté est l'acquisition de 50 à 65% du poids adulte. Ainsi, la vitesse de croissance de la race est un facteur d'intérêt pour la précocité de la femelle. Il existe des races dites « à croissance lente » et des races, au contraire, dites « à croissance rapide ». Dans les races laitières à croissance lente, on compte par exemple la Normande, ainsi que la Montbéliarde, alors que dans les races à croissance rapide, on retrouve la Prim'Holstein et la Jersiaise. Etant donné que la croissance est un facteur d'influence majeur de la reconnaissance du statut pubère, plus la croissance sera rapide, plus la puberté est précoce (Le Cozler *et al.*, 2009).

De plus, il a été remarqué que pour les races à croissance rapide, les génisses sont considérées pubères lorsqu'elles ont atteint 40 à 50% de leur poids adulte contre 50 à 55% du poids pour les génisses de race à croissance lente (Le Cozler *et al.*, 2009). Tout indique donc que la race a aussi un rôle à jouer dans la précocité de la puberté, ainsi, la race Prim'Holstein sera donc plus précoce que la race Normande. La Normande est une race plus lourde que la Prim'Holstein, donc à croissances égales, le poids de puberté sera atteint plus tard chez la Normande que chez la Prim Holstein.

1.3.1.2. Facteurs liés à la génétique

Chez le bovin, l'âge au premier vêlage est en général compris entre 24 et 36 mois. Cela témoigne d'une variabilité intrinsèque à chaque individu de l'âge au premier vêlage, qui reflète entre autres une variation intrinsèque de l'âge à la puberté pour chaque individu. En effet, dans un même élevage, pour des génisses de même race élevées dans des conditions similaires, l'âge de la puberté peut varier entre les individus : cela pourrait témoigner d'une variabilité génétique entre les différents individus d'une même race. Il a été montré que l'âge à la puberté est un caractère héritable. Cette héritabilité est variable, de 0.33 à 0.41 (Perry, 2016) selon les races et les individus, ce qui montre le caractère multigénétique de ce caractère. Une des hypothèses retenues serait les gènes impliqués dans la voie de synthèse de l'IGF-1, car le taux d'IGF-1 circulant dans le sang semble très fortement corrélé avec la précocité de la puberté. En effet, l'IGF-1 est un facteur de croissance produit par les cellules gliales, et qui agit sur la production de GnRH (Duittoz *et al.*, 2016).

Barbey *et al.* (2009) ont utilisé 10 taureaux différents pour produire des génisses croisées Holstein et Normande. L'âge de la puberté a été évalué sur chacune des génisses en dosant la progestérone plasmatique (ce qui témoigne de la présence d'un corps jaune, donc d'un ovaire fonctionnel - on utilise ici la définition physiologique de la puberté, c'est-à-dire la capacité de la femelle à émettre un ovocyte fécondable). Sur les 10 taureaux, les auteurs ont pu mettre en évidence que 6 des taureaux ont un effet significatif sur l'âge de puberté de leurs filles. Le taureau « E » a en effet produit des filles avec une puberté plus tardive (323 +/- 49 jours) tandis que le taureau « J » a des filles avec une puberté plus précoce (275 +/- 37 jours). Cela montre un effet de la génétique sur la précocité de la puberté, qui serait un caractère héritable, dont une partie est transmissible par la génétique du père.

1.3.2. Facteurs extrinsèques

1.3.2.1. Facteurs liés à la croissance et à l'alimentation

Comme vu précédemment (partie 1.3.1.1.), on considère comme pubère une génisse ayant atteint environ la moitié de son poids adulte (variable selon les races). Or, l'atteinte de ce poids est

fortement conditionnée par les conditions d'élevage, qui sont déterminantes pour la vitesse de croissance ainsi que la qualité de croissance de l'individu. L'alimentation joue un rôle prépondérant, en effet, une alimentation de qualité et en quantité suffisante conditionnent la vitesse et la qualité de croissance

L'état d'engraissement de l'animal est un facteur important pour l'apparition de la puberté. En effet, il a été montré que la restriction de nourriture chez les génisses retardait l'apparition de la puberté, et au contraire, un état d'engraissement plus important avance l'âge de la puberté. Le mécanisme impliqué serait la levée du rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus exercé par l'œstradiol sécrété par les gonades avant puberté, notamment par l'augmentation du taux de leptine circulant dans le sang (Duittoz *et al.*, 2016). En effet, comme vu plus haut, la leptine rend compte de l'état corporel de la génisse sur le long terme, c'est donc son alimentation sur le long terme qui est importante, et donc à distance de la puberté. Le rôle de l'éleveur est donc primordial, il doit assurer une bonne alimentation à ses génisses qui entrent ensuite en station (Perry, 2016).

D'après l'étude de Barbey *et al.* (2009), portant sur des génisses croisées Normande et Holstein, visant à étudier des facteurs de précocité de puberté, c'est le gain moyen quotidien (GMQ) entre le sevrage et la puberté qui est déterminant de la précocité de la puberté (déterminée par la mesure de progestérone plasmatique). Il a été montré un effet seuil du GMQ, lorsque ce dernier est en dessous de 800 g/j, la puberté est plus tardive. En revanche, lorsque le GMQ est au-dessus de 800 g/j, si le GMQ augmente fortement, l'âge à la puberté ne réduit pas beaucoup plus pour autant. On peut retenir qu'au-delà de 800 g/j, l'effet du GMQ sur la précocité de la puberté est atténué.

Plus récemment, des études ont démontré que le gain pré sevrage a plus d'influence sur la précocité de la puberté que le gain post sevrage (Perry, 2016). Si on se replace dans le contexte des stations de collecte, on peut donc noter que le travail de l'éleveur en amont du séjour en station de la génisse est primordial afin d'avoir une puberté précoce, il est donc important de sensibiliser les éleveurs sur leur travail en amont de la puberté et surtout avant le sevrage, et d'assurer un bon démarrage à la génisse, afin qu'elle soit la plus productive le plus tôt possible.

Dans leur étude, Funston et Summers (2013), ont étudié entre autres l'âge à la puberté des filles de mères supplémentées ou non en protéines à la fin de leur gestation (femelles supplémentées de 450 g/j 3 jours par semaines). Les filles de mère supplémentées en protéines atteignent la puberté significativement plus tôt que les filles de mères non supplémentées en protéines (352 contre 366 jours, respectivement).

Ainsi, pour avoir une puberté plus précoce, recherchée dans le cas de production d'embryons, il faut maintenir un GMQ élevé pour la génisse, de sa naissance à sa puberté sans avoir un état d'engraissement trop important qui pourrait avoir des effets néfastes sur sa lactation future. Il faut ainsi privilégier une alimentation riche en protéines. De plus, la nutrition de la mère a aussi un effet sur l'âge à la puberté, c'est la conduite d'élevage qui est primordiale. L'éleveur a un rôle très important à jouer dans la précocité de la puberté de sa génisse. On peut imaginer que lorsqu'elles arrivent en station, étant donné que les génisses proviennent d'élevages différents, elles partent avec des prédispositions plus ou moins bonnes de précocité de puberté.

1.3.2.2. Facteurs liés à l'environnement

Il a été montré que la photopériode est un facteur de modification de l'âge à la puberté. En effet, dans une étude de Rius *et al.* (2005), des génisses exposées à des jours de photopériode augmentée (16h de jour et 8h de nuit) déclenchent leur puberté plus tôt, de 24 jours environ (la puberté étant objectivée par le taux de progestérone plasmatique) par rapport au groupe étant exposé à des jours de photopériode courts (8h de jour et 16h de nuit). On peut déduire que la saisonnalité et plus particulièrement la durée du jour a aussi un rôle à jouer dans le déclenchement de la puberté. Ainsi, même si la photopériode ne peut pas être contrôlée, on peut donc penser que les génisses entrant en station en hiver auront une puberté plus tardive que les génisses entrant en station en été.

Dans l'étude Barbey *et al.* (2009), il a été montré que la saison de naissance jouerait aussi un rôle sur la précocité de la puberté (déterminée par le dosage de la progestérone plasmatique). En

effet, les génisses nées en automne seraient plus précoces que les génisses nées au printemps. On pourrait l'expliquer par le fait que la saison de naissance détermine l'année de mise à l'herbe de la génisse, et donc penser que la conduite d'élevage influencerait l'âge à la puberté. Cependant, entre le sevrage et la mise à l'herbe, la conduite d'élevage est identique pour toutes les génisses. L'année de mise à l'herbe uniquement ne serait donc pas forcément suffisante pour expliquer la précocité de la puberté. On peut donc supposer que la saison de naissance aurait un effet direct sur la précocité de la puberté et non seulement par le biais de la conduite d'élevage. Cependant, dans l'étude de Moran *et al.* (1989) (étude réalisée en hémisphère Nord, tous les groupes ont eu la même conduite d'élevage), il est avancé que les femelles nées au printemps sont plus précoces que les femelles nées l'automne d'avant car elles ont un hiver de moins à subir. Les différentes études concernant l'effet de la saison de naissance sur la précocité de la puberté sont controversées, bien qu'il semblerait y avoir un effet.

Ainsi, les facteurs liés à l'environnement et en particulier à la saisonnalité jouent un rôle dans l'obtention d'une puberté précoce, mais restent des facteurs difficilement contrôlables (bien que le manque de lumière soit traité en pratique équine par l'utilisation de lumières artificielles, cette pratique est très peu utilisée chez les bovins). L'étude de ces facteurs est plus complexe à mettre en place et ne constitue pas un des leviers facilement activables d'abaissement de l'âge à la puberté, c'est pourquoi ils ne seront pas étudiés dans notre étude qui suit.

A RETENIR

Facteurs influençant la précocité de la puberté :

- La race (race à croissance rapide vs à croissance lente)
- La génétique (caractère héréditaire)
- L'environnement (Alimentation : importance de l'alimentation pré-sevrage et de l'apport protéique, photopériode, saison de naissance)

2. Les spécificités de la race Normande

2.1. Généralités sur la race Normande

La race Normande est aujourd'hui la 3^{ème} race laitière bovine en France. Elle est issue du croisement de 3 races locales de Normandie : la Cotentine, l'Augeronne et la Cauchoise (Figure 4). On compte à ce jour un cheptel de 427 000 vaches Normandes en France, élevées dans environ 13 800 élevages ("France Génétique élevage", 2020). On la trouve surtout dans le grand Ouest, mais une grande partie (43%) de l'effectif se trouve en Basse-Normandie.

Figure 4 : Vaches des 3 races à l'origine de la race normande : la Cotentine à gauche (Seve et Rousselet, 1750), l'Augeronne au milieu (Rousseau et Dubois, 2015) et la Cauchoise à droite (Rousseau et Dubois, 2015).

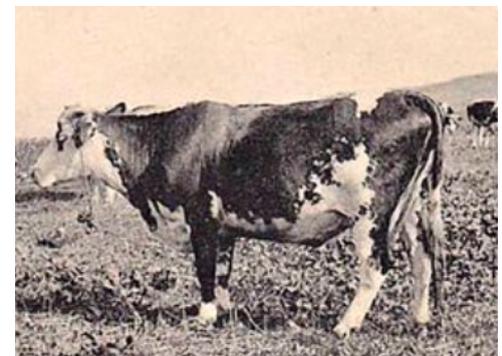
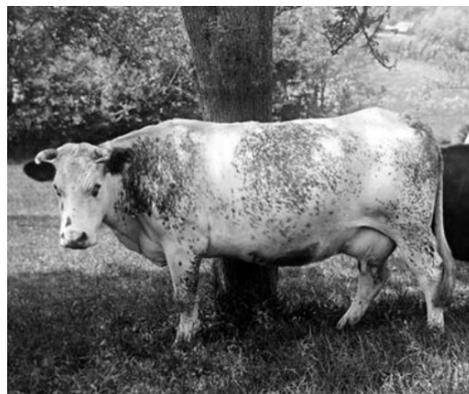


Tableau 1: Comparaison des caractéristiques de la race Normande avec la moyenne nationale comprenant l'ensemble de races élevées en France (Institut de l'élevage, 2019-2020).

	Moyenne race Normande	Moyenne nationale
Production laitière (kg)	6835	8707
Taux protéique (g/kg)	35	32,8
Taux butyreux (g/kg)	42,7	40,5
Taux de réussite en première IA (%)	53	50
Intervalle Vêlage - IA fécondante (jours)	130	138
Nombre moyen d'IA par vache	1,91	1,99

La race Normande possède une double aptitude en lait et en viande. Elle est cependant surtout utilisée pour ses qualités de laitière avec des taux protéiques et butyreux élevés et plus élevés que la moyenne nationale (Tableau 1). Le lait est valorisé en majorité en fromage avec notamment de nombreuses AOP fromagères et laitières (Camembert de Normandie, Livarot, crème et beurre d'Isigny...). Les carcasses de viande sont aussi bien valorisées grâce aux bonnes caractéristiques bouchères et morphologiques de la race.

Les vaches sont aujourd'hui sélectionnées afin d'augmenter la production laitière de la race tout en maintenant le taux protéique élevé, ce qui fait la réputation de la vache. En effet, on peut voir que sa production laitière est plus faible que la moyenne nationale, même si elle a un TP et un TB plus important.

La race Normande est une race d'intérêt économique pour l'éleveur, tant pour une valorisation laitière et fromagère que bouchère.

La race Normande se démarque aussi par ses aptitudes à l'élevage, les femelles sont réputées pour avoir une bonne fertilité, avec un taux de réussite en 1ère IA à 53%, un intervalle vêlage - IA fécondante et un nombre d'IA par vaches plus faible que la moyenne. Elle possède aussi une longévité importante et des facilités au vêlage.

On comprend donc l'intérêt du schéma de sélection et le but de diminuer les intervalles de génération par des biotechnologies de la reproduction afin d'atteindre plus rapidement les objectifs du schéma. On peut aussi facilement les utiliser dans les biotechnologies de la reproduction car elle possède de bonnes caractéristiques de reproductrice.

2.2. Performances de reproduction : la race Normande dans le cheptel français

Dans cette partie, on étudie les performances de reproduction des troupeaux de race Normande à l'échelle de la France. Pour pouvoir situer les performances de reproduction de la race Normande, on la compare à la race Prim'Holstein, qui est aujourd'hui la première race de vache laitière en France. C'est aussi une des races laitières sur laquelle les instituts de statistiques français ont le plus de données. On utilise donc la race Prim'Holstein comme la race de « référence », l'étude présentée portant sur la race Normande. Le but est ici d'apporter une vision globale des capacités de reproduction des génisses Normandes en analysant les données d'élevage en France.

2.2.1. Etude de l'âge au premier vêlage

Afin de déterminer l'âge au premier vêlage de la race Normande et de le comparer à celui de la race Prim'Holstein, on utilise l'outil Reproscope (Institut de l'élevage, 2021). Bien que dépendant de nombreux paramètres dont l'alimentation et la stratégie de mise à la reproduction entre autres, l'âge

au premier vêlage est aussi conditionné par la précocité de la puberté de la race. Etant donné que Reproscope concerne un échantillon représentatif des élevages Français, nous considérons que la précocité reproductive de la race Normande, dans les conditions d'élevage Français, peut être estimée par ce biais.

Figure 5: Répartition de l'âge au premier vêlage parmi les troupeaux de Prim'Holsteins de France à gauche et répartition moyenne des âges au sein d'un troupeau de Prim'Holstein à droite (Institut de l'élevage, 2021)



Pour les Prim'Holstein, on obtient une moyenne d'âge de 30 mois au premier vêlage, la répartition des âges au vêlage montre des vêlages majoritairement précoces entre 18 et 32 mois (32% entre 18 et 26 mois et 39% entre 27 et 32 mois). Seuls 8% des vêlages se font au-delà de 39 mois.

Ces valeurs nous servent donc de référence, pour ensuite les comparer à celles obtenues en race Normande, qui est la race de notre étude.

Figure 6 : Répartition de l'âge au premier vêlage parmi les troupeaux de Normandes de France à gauche et répartition moyenne des âges au sein d'un troupeau de Normandes à droite (Institut de l'élevage, 2021).



Pour les Normandes, la moyenne de l'âge au premier vêlage est de 34 mois. La répartition des âges au 1^{er} vêlage est aussi différente de celle des troupeaux de Prim'Holstein. Au sein des troupeaux de race Normande, 38% des génisses vêlent entre 33 et 38 mois, et 37% des génisses vêlent entre 27 et 32 mois. Nous pouvons observer aussi 16% de vêlages à partir de 39 mois.

Ainsi, en moyenne, les génisses de race Prim'Holstein vêlent quatre mois plus tôt que les génisses de race Normande. La proportion de vêlages entre 27 et 32 mois est similaire pour les races Normande et Prim Holstein. Cependant, les vêlages plus précoces, entre 18 et 26 mois, sont beaucoup plus présents en race Holstein qu'en race Normande (32% vs 9%, respectivement) et les vêlages plus tardifs sont bien plus présents en race Normande qu'en race Prim'Holstein (54% et 29%, respectivement).

Les génisses Normandes ont donc la capacité de vêler aussi tôt que les Holstein. La différence de moyenne globale d'âge au premier vêlage résulte donc plus probablement d'une différence de conduite d'élevage, ou bien d'une moindre sélection sur la précocité des individus. Les éleveurs de vaches de race Normande chercheraient moins une exploitation précoce de leurs animaux, en les mettant un peu plus tardivement à la reproduction, et en ne sélectionnant pas forcément leurs individus sur la précocité. En effet on peut supposer que s'il y avait une vraie inaptitude de la race Normande à un vêlage précoce, on n'aurait pas autant de vêlages en dessous de 32 mois (soit 9% du total).

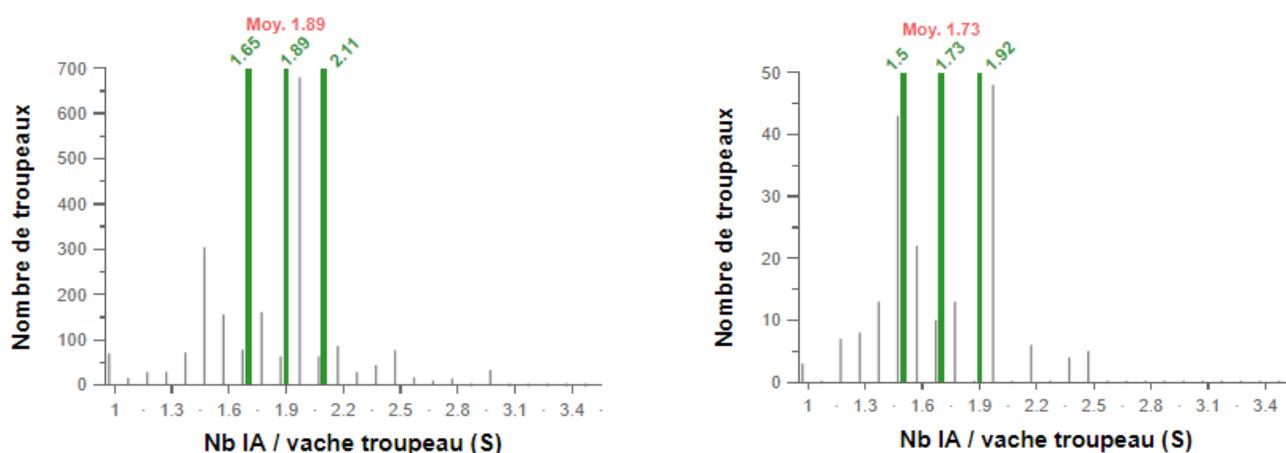
Sur le principe, les génisses Normandes sont donc capables de vêler aussi tôt que les Prim'Holstein, ce qui peut justifier de l'intérêt d'utiliser les technologies de la reproduction dans cette race pour réduire l'intervalle entre générations.

2.2.2. Etude du nombre moyen d'IA par vache inséminée

Par ailleurs, compte tenu d'un âge un peu plus tardif du premier vêlage en race Normande, on pourrait se poser la question sur la fertilité de ces animaux. En effet, on pourrait faire l'hypothèse que ces animaux seraient mis à la reproduction aussi tôt que les Prim'Holsteins mais qu'une fertilité plus faible résulterait en des vêlages plus tardifs. Cette hypothèse peut être explorée par le biais du nombre d'IA par vache inséminée.

Sur le même principe, on utilise l'outil REPROSCOPE (Institut de l'élevage, 2021) pour déterminer le nombre d'IA par IA fécondante pour les troupeaux français de Normandes et de Prim'Holsteins à titre de comparaison. On a ainsi une idée de la fertilité des troupeaux, qui est aussi déterminante dans les biotechnologies de la reproduction.

Figure 7: Nombre d'IA par vache inséminée au sein des troupeaux de vaches Prim'Holstein (à gauche) et Normandes en France (à droite) (Institut de l'élevage, 2021).



On observe que la moyenne du nombre d'inséminations par insémination fécondante est de 1,89 IA pour les Prim'Holstein et de 1,73 pour les Normandes.

Ce résultat témoigne d'une tendance à une meilleure fertilité de la race Normande et justifie qu'on l'utilise dans les technologies de la reproduction, la fertilité de la race ne représenterait pas une entrave à un rendement technique au moins équivalent à celui de la Prim'Holstein.

2.3. Pour conclure sur la précocité de la race Normande

Afin d'augmenter la période productive d'une vache, et d'améliorer la rentabilité du processus d'élevage, il faut commencer à la faire produire tôt, la précocité de la femelle est donc importante dans ce contexte de production.

Il est de connaissance empirique que la race Normande serait une race moins précoce que la race Holstein. La conduite d'élevage pratiquée aujourd'hui en France s'est calquée sur cette connaissance, comme on a pu le voir dans les données issues de Reproscope (moyenne d'âge au premier vêlage de 30 mois pour les génisses Prim'Holstein et 34 mois pour les Normandes). Mais cette différence résulte-t-elle d'une différence intrinsèque, une différence génétique, ou bien cette différence réside-t-elle dans une différence de conduite d'élevage plutôt historique ? A partir des données issues du Reproscope nous avons pu observer que les génisses Normandes ont la capacité d'avoir une puberté aussi précoce que les génisses Holstein et que la fertilité de la race est correcte. On pourrait donc en principe appliquer les protocoles liés aux biotechnologies de la reproduction aux génisses de la race Normande sans effet délétère. La seule précaution à leur usage sur des jeunes génisses Normandes serait de s'assurer de leur bon développement avant la mise à la reproduction, soit via une sélection des seuls individus les plus précoces, soit via le recrutement dans des élevages adoptant une conduite adaptée à la précocité, soit les deux, ce qui permettrait d'intégrer dans un schéma de reproduction précoce uniquement les génisses ayant atteint 55 à 65% du poids adulte.

A RETENIR :

- La race Normande aurait un potentiel de précocité, puisque 9% des génisses sont aussi précoces que les génisses de race Prim'Holstein. Resterait-il à ce jour sous utilisé dans les schémas de sélection ou mériterait-il d'une adaptation de la conduite afin d'être mieux valorisé ?
- Les Normandes ont une bonne fertilité : intérêt dans les biotechnologies de reproduction

3. Les biotechnologies de la reproduction chez les jeunes bovins : le cas de la génisse

3.1. Protocoles de superovulation

3.1.1. Principe de base

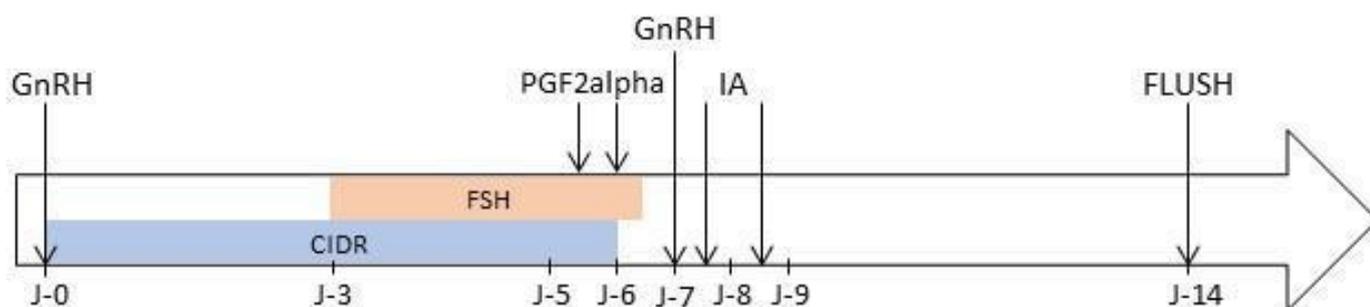
Dans la première partie, nous avons étudié l'âge à la puberté en tant que levier d'action pour réduire l'intervalle de génération. Une seconde façon d'arriver à ce résultat est d'utiliser les biotechnologies de la reproduction, notamment le transfert embryonnaire afin d'obtenir plusieurs descendants d'une jeune femelle dès sa puberté. Dans ce cas, des embryons sont produits chez ces génisses (dites donneuses) et récoltés au stade blastocyste (7 jours après la fécondation) puis transférés chez d'autres femelles, en général, elles aussi de génisses de moindre valeur génétique mais suffisamment développées pour porter une gestation sans préjudice pour leur développement ni pour leur santé (dites porteuses ou receveuses). Afin d'avoir un rendement plus important de cette technique, on peut utiliser un protocole de superovulation qui vise à obtenir plusieurs ovulations et potentiellement autant d'embryons transférables dès l'avènement de la puberté.

Pour ce faire, la génisse donneuse doit être cyclée, ceci signifie qu'une première ovulation préalable aura déjà eu lieu. Le vétérinaire peut le vérifier par palpation ou examen échographique grâce à la détection, sur un de ses deux ovaires, d'un corps jaune résultant de cette ovulation (Duittoz *et al.*, 2016).

Les protocoles de superovulation reposent tous sur le même principe : inhiber la dominance du follicule dominant afin d'empêcher l'atrésie des autres follicules de la vague, ce qui entraîne la croissance complète de tous les follicules de la vague et donc une ovulation multiple.

En pratique, ils se composent d'injections répétées de FSH (qui inhibe la dominance du follicule dominant) (Figure 8). Les molécules de FSH sont utilisées sous différentes formes de spécialités vétérinaires et le nombre d'injections peut varier selon le protocole. Mais la méthode retenue le plus souvent est une injection toutes les 12h, du fait de la courte durée de demi-vie de la FSH, pendant 3 jours (Phillips et Jahnke, 2016).

Figure 8 : Exemple de protocole de superovulation (Phillips et Jahnke, 2016).



Il existe des variantes à ce protocole, qui utilisent aussi des traitements hormonaux adjuvants, afin d'optimiser le protocole.

3.1.2. Optimisation du protocole

3.1.2.1. Utilisation d'un progestagène

Il existe différents dispositifs de distribution de progestérone dans l'organisme, comme l'implant auriculaire et le dispositif intra vaginal (le plus utilisé). On l'utilise en simultanée des injections de FSH, en débutant les injections de FSH 4 jours après le début de la mise sous progestérone (Bo *et al.*, 2006).

Dans un premier temps, pour optimiser le protocole de superovulation, on peut bloquer l'ovulation (afin qu'un maximum de follicules puisse se développer) : on utilise un progestagène qui inhibe la sécrétion de GnRH et donc de LH par inhibition de l'axe hypothalamo hypophysaire. Ainsi, il n'y a pas de pic de LH et donc pas d'ovulation (Phillips et Jahnke, 2016).

De plus, il a été montré que chez la génisse, la première phase lutéale à la suite de la première ovulation est plus courte que les autres, et que la fécondation de l'ovocyte issu de cette ovulation mène souvent à une mortalité embryonnaire précoce. La mise sous progestagène avant la première ovulation permettrait d'éviter ce phénomène (Perry, 2016).

3.1.2.2. Levée de la dominance du follicule dominant

On peut, alternativement, lever la dominance du follicule dominant (afin d'éviter l'atrésie des autres follicules). Pour cela, on peut :

- supprimer par OPU le follicule dominant, on commence alors le traitement à base de FSH 1 ou 2 jours après l'OPU (Bò *et al.*, 2006)
- utiliser de la GnRH, afin de provoquer un pic de LH et l'ovulation du follicule dominant,
- utiliser les propriétés de la FSH : en effet, d'après Mihm *et al.* (1997), la diminution de la concentration sérique en FSH modifie l'action de facteurs clés de la croissance du follicule dominant, entraînant sa croissance. Ainsi, si on augmente la concentration sérique de FSH par des injections répétées (8 injections toutes les 6h dans l'étude), on empêche la croissance du follicule dominant. Celui-ci, si sa croissance est inhibée, ne peut pas provoquer l'atrésie des autres follicules de la vague folliculaire. Ces autres follicules peuvent ainsi tous se développer et donner lieu à une ovulation.

La levée de la dominance du follicule dominant ainsi que l'utilisation de progestagène pour le traitement de superovulation restent des traitements adjuvants afin d'optimiser la superovulation et ne sont pas systématiquement utilisés.

Les ovaires ainsi super stimulés, donc contenant un plus grand nombre de follicules, sont ensuite destinés soit à une ponction, dans le cadre d'une OPU, soit à ovuler et à être fécondés *in vivo* dans le cadre d'une insémination artificielle suivie de collecte d'embryons.

Le protocole de superovulation est un protocole lourd, composé de plusieurs injections à temps fixes, et qui ne peuvent être déplacées. Une erreur dans le protocole décale la collecte d'un

cycle. C'est pourquoi, afin de gagner en temps et facilité de travail pour les éleveurs, les génisses donneuses sont rassemblées en stations de collecte.

Le plus dur dans ces protocoles est la détection des chaleurs par l'éleveur si la génisse est en élevage. C'est pourquoi, dans leur étude, Bò *et al.* (2006) proposent de synchroniser les chaleurs des génisses, afin d'être sûr d'inséminer les génisses au bon moment. Les auteurs ont aussi montré que la synchronisation des chaleurs n'affecte pas la qualité des ovocytes ni des embryons obtenus.

Ainsi, pour faciliter le travail des éleveurs et avoir plus de réussite en insémination, on peut dans un premier temps synchroniser les chaleurs, puis faire un protocole de superovulation, puis inséminer.

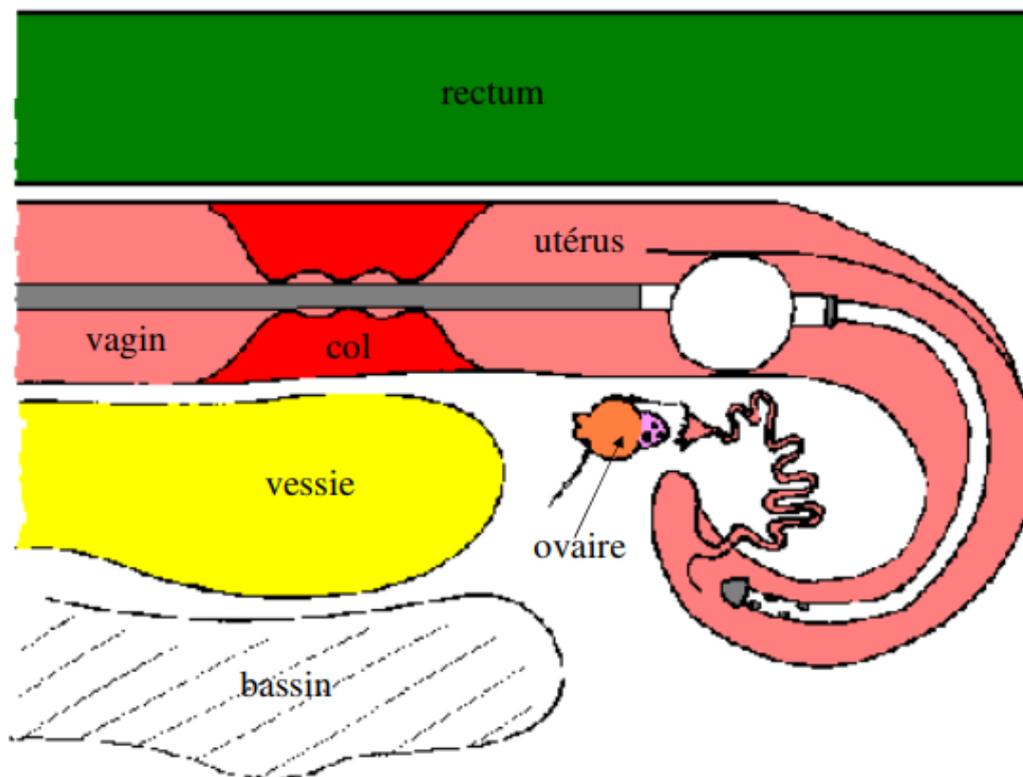
3.2. Les techniques de collecte d'embryons

Suite au protocole de superovulation, la génisse ovule, elle est inséminée sur chaleurs observées ou non, selon le protocole utilisé et elle est collectée 7 jours après la dernière insémination.

3.2.1. Fécondation *in vivo* et collecte d'embryons

La collecte d'embryons produits *in vivo* est réalisée depuis les années 70, depuis les années 90, elles sont réalisées sur des femelles superovulées afin d'avoir plusieurs embryons à l'issue de chaque collecte. Elle est réalisée dans le but de mettre en valeur la génétique de certaines femelles. Dans la partie 3.1., nous avons pu étudier comment obtenir une ovulation multiple chez la génisse. Lors de l'observation des chaleurs, et donc l'ovulation des multiples follicules stimulés à la suite du protocole hormonal de superovulation, la vache est inséminée avec une paillette de sperme (une ou 2 fois à 12h d'intervalle, pour maximiser les chances de fécondation). En théorie, cela aboutit à de multiples fécondations *in vivo*. La collecte a lieu 7 jours après l'observation des chaleurs.

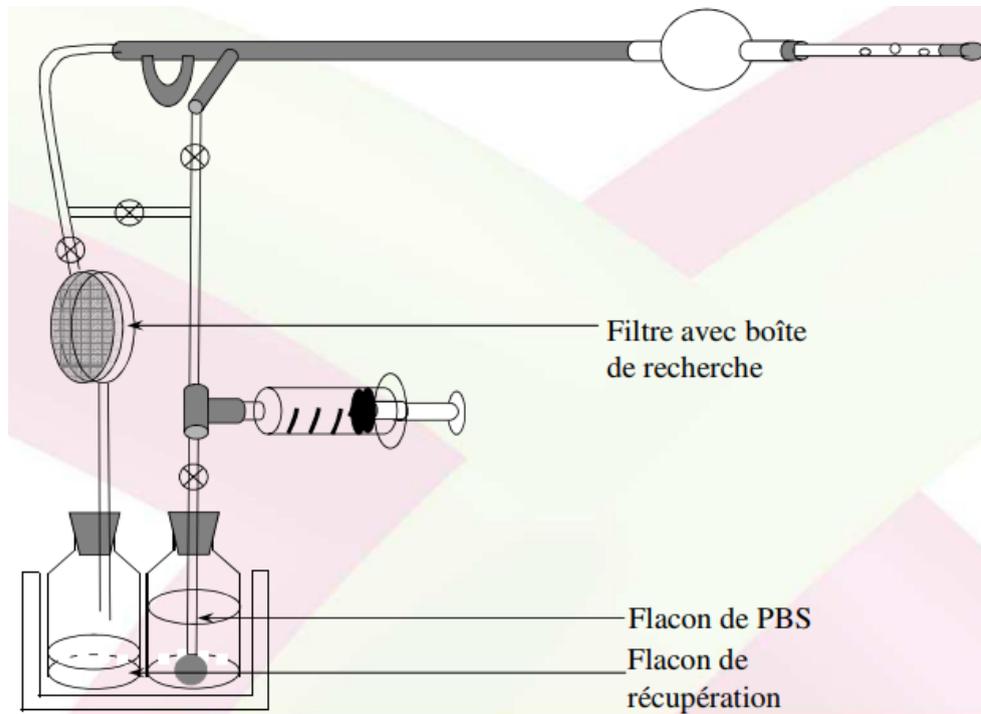
Figure 9 : Schéma de collecte d'embryons *in vivo* (Quinton, 2015).



Un dispositif de rinçage des cornes utérines (Figure 9) est inséré dans une des cornes (guidage par palpation transrectale), et un liquide de rinçage est injecté dans la corne, ce qui permet

son rinçage, et d'entraîner les embryons présents dans la corne (Figure 10). La même opération est effectuée dans l'autre corne. Le liquide est ensuite filtré. Les embryons sont contenus dans le filtre.

Figure 10: Schéma du dispositif de rinçage des cornes utérines pour collecter des embryons *in vivo* (Quinton, 2015).



Le filtre est ensuite examiné à la loupe, les embryons sont récupérés et classés selon leur stade de développement (Figure 11) et leur qualité. Le score de qualité va de 1 à 4 (Figure 12), 1 étant la meilleure qualité, 4 la moins bonne. En théorie, seuls les embryons de qualité 1 et 2 sont congelables sans altérer le taux de gestation (Phillips et Jahnke, 2016). En pratique, on ne congèle que les embryons de qualité 1.

Figure 11 : Schéma des différents stades embryonnaires (Manuel IETS, (International Embryo Transfer Society), 2011).

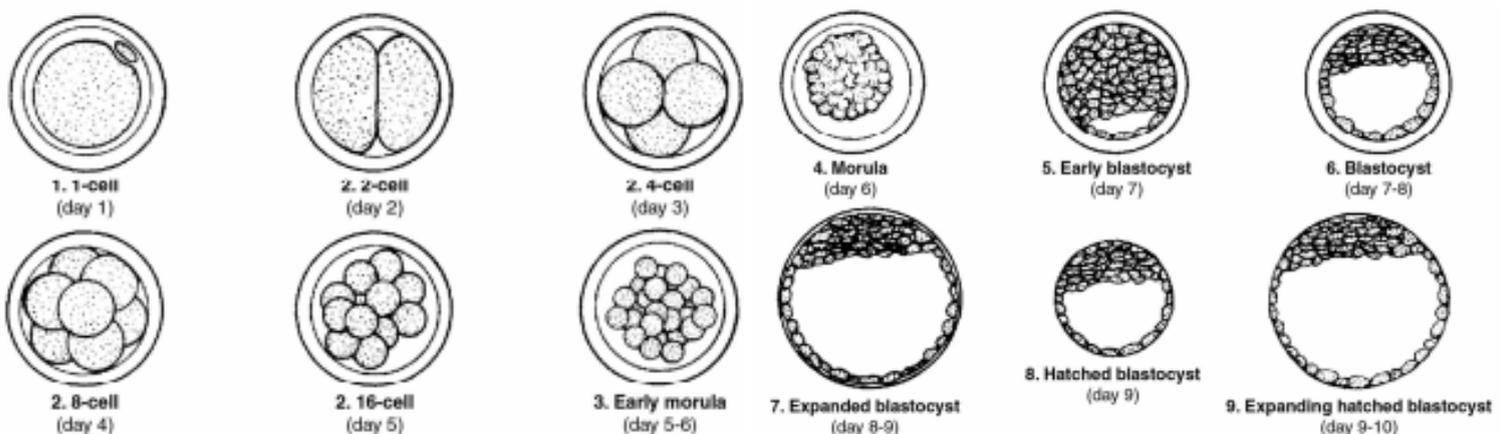
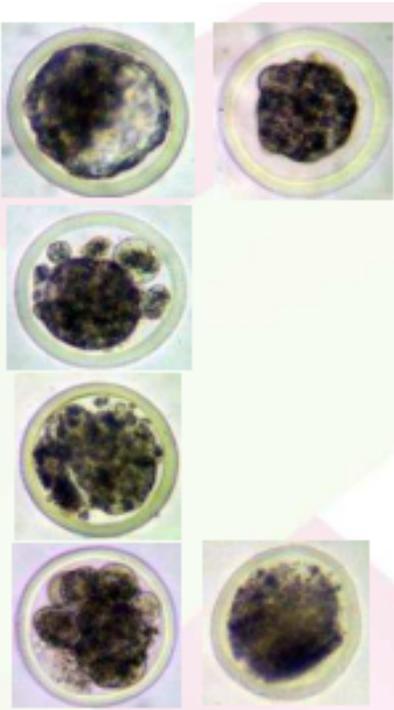


Figure 12 : Récapitulatif des qualités des embryons en fonction de leur description et de leur aspect physique (Quinton, 2015).

Code	Qualité	Description
Q1	Excellent ou bon = Seuls embryons congelables	Symétrique et sphérique Couleur, densité uniforme Correspond au stade attendu Irrégularités mineures Au moins 85 % de la masse cellulaire intacte
Q2	Correcte	Irrégularités de la masse cellulaire modérées Au moins 50 % de la masse cellulaire intacte
Q3	Médiocre	Irrégularités majeures Au moins 25% de la masse cellulaire intacte
Q4	Dégénéré	Ovocyte, ou embryon dégénéré = non viable



Les embryons sont ensuite sélectionnés et mis en paillette, puis congelés ou posés sur des receveuses synchronisées. Le choix (transfert direct ou congélation) est fait en fonction de la qualité des embryons et du nombre de receveuses disponibles. Le taux de gestation qui suit dépend de la qualité de l'embryon posé et du stade physiologique de la receveuse (vache ou génisse) (Tableau 2).

Tableau 2 : Pourcentage de gestation attendu en fonction de la qualité de l'embryon (pose en embryon frais) (Quinton, 2015).

Qualité de l'embryon	Génisse	Vache
Q1	65%	55%
Q2	55%	45%
Q3	40%	30%

Pour réceptionner ces embryons, les génisses, tout comme pour les inséminations artificielles, ont des taux de gestation meilleurs que les vaches. Ainsi, stratégiquement, il est préférable de poser des embryons sur les génisses, afin d'avoir de meilleurs taux de gestation par la suite. La pose d'embryons dépend donc ensuite de nombreux paramètres, incluant le nombre de receveuses, le nombre d'embryons, leur qualité, et le stade physiologique du bovin.

3.2.2. Ovum Pick up et fécondation *in vitro* (OPU-FIV)

L'OPU peut être réalisée avec ou sans protocole de superovulation préalable.

Si elle est réalisée avec un protocole de superovulation préalable, la ponction des ovaires a lieu dans les 24 à 48h suivant la fin du protocole de superovulation. La période entre la dernière injection de FSH et la ponction correspond à la période de coasting. Elle varie selon les protocoles, en effet, selon la durée de cette dernière, on obtient des follicules de tailles différentes et donc plus ou moins intéressants à ponctionner selon l'utilisation que l'on en fait par la suite (levée de dominance du

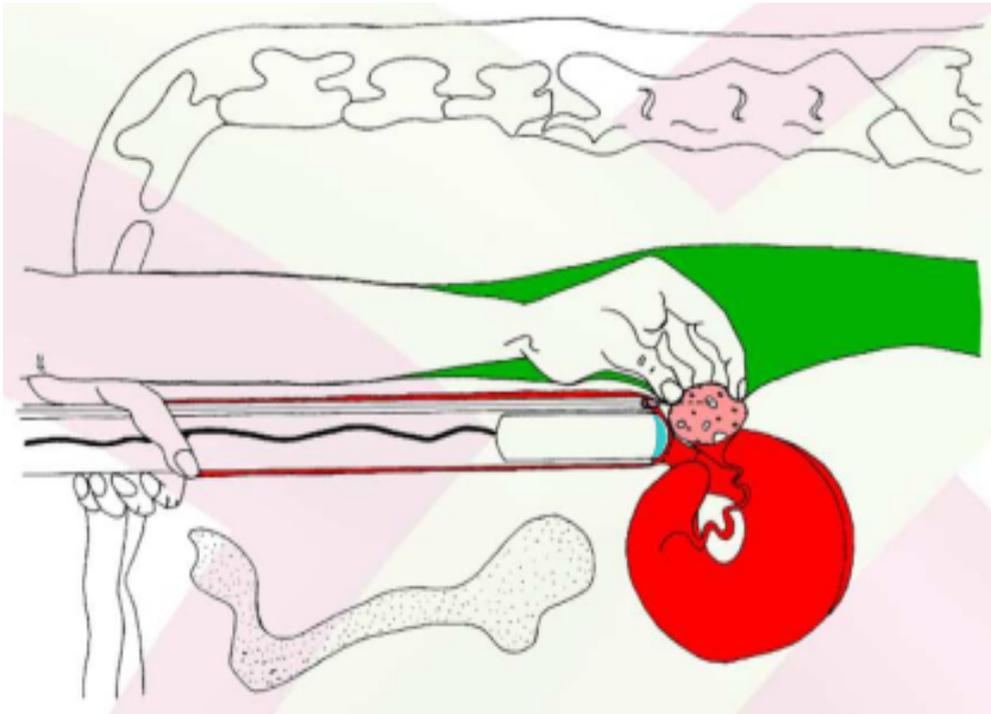
follicule dominant ou FIV), le but pour une FIV étant d'avoir des follicules entre 5 et 10 mm de diamètre, ils sont ainsi assez matures pour la fécondation mais pas encore trop âgés (Blondin *et al.*, 2012).

Les premières collectes d'ovocytes sur animal vivant ont eu lieu dans les années 80, par des chercheurs Canadiens. La collecte était réalisée par laparoscopie avec l'aide d'un endoscope. Cette technique posait le problème de la répétabilité de l'expérience, car les multiples laparoscopies créaient des problèmes d'adhérence dans la cavité abdominale (Boni, 2012).

Les premières collectes guidées par échographie ont été réalisées par une équipe de chercheurs danois en 1987. Les ovaires sont ramenés contre le ligament sacro-sciatique et les follicules sont visualisés par échographie et ponctionnés par voie transcutanée. La technique présentait un taux de réussite de 42%, ce qui montre que la technique pouvait encore être améliorée (Boni, 2012).

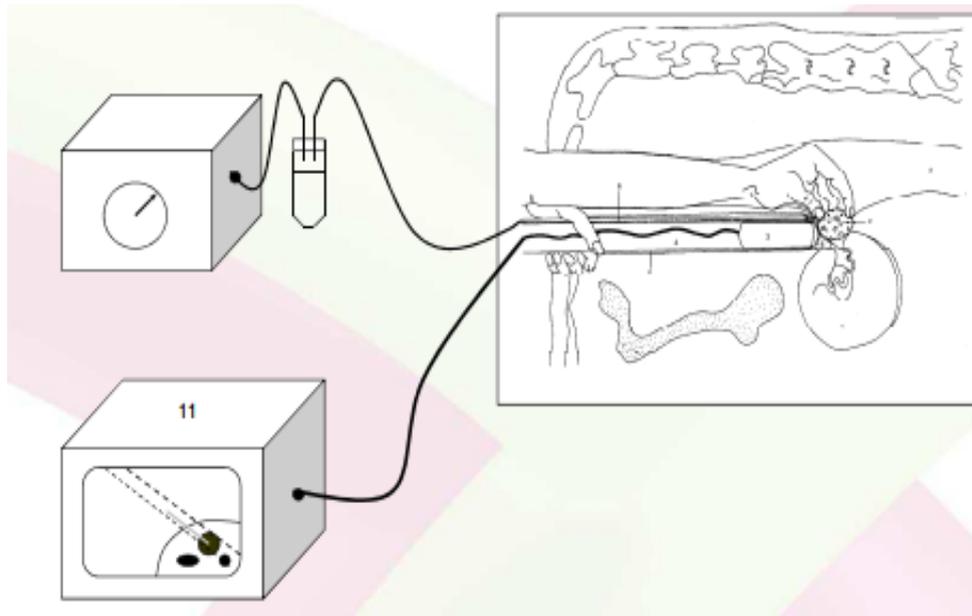
En 1988, des Hollandais ont réalisé pour la première fois une ponction des follicules ovariens échoguidée par voie transvaginale. Ils ont montré aussi que l'Ovum Pick-Up (OPU) peut être effectuée sans risques pour la santé ou la fonction de reproduction de l'animal. Il s'agit de la technique la plus flexible et la plus répétable et la plus sans danger pour la santé ou le potentiel reproducteur pour l'animal (Boni, 2012).

Figure 13 : Schéma du principe d'une Ovum-pick-Up (OPU) (Quinton, 2015).



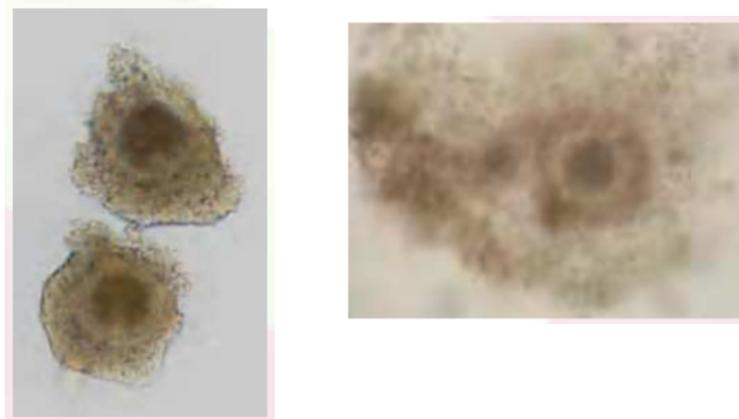
L'OPU consiste en l'introduction d'une sonde échographique adaptée dans le vagin. Une aiguille est adaptée à la sonde, et est connectée à un tube sous vide, qui permet l'aspiration des follicules (Figure 13). Les ovaires sont maintenus par voie transrectale en vis-à-vis de la sonde échographique contre la paroi du vagin (Figure 14). Ainsi, la sonde permet de visualiser les follicules présents sur l'ovaire, et l'aiguille de ponctionner l'ovaire, les follicules étant aspirés dans le tube sous vide (Galli *et al.*, 2001).

Figure 14: Schéma du matériel utilisé pour une OPU (Quinton, 2015).



Les ovocytes ainsi récupérés sont ensuite comptés et notés en fonction de leur qualité (qualité 1-2-3-4, dénudés ou expansés. Avec : 1- très bons, 2- bons, 3- moyens, 4- mauvais) (Figure 15). Les ovocytes de qualité 4 et expansés ne sont pas mis en maturation *in vitro*. Les autres sont ensuite rincés et mis en maturation *in vitro* pendant 24h.

Figure 15: Photographies d'ovocytes de qualité 1 entouré de leur cumulus, obtenus par OPU (a) et d'un ovocyte de qualité 4 entouré de son cumulus expansé obtenu par OPU (b) (Quinton, 2015).



Les ovocytes sont ensuite soumis à la fécondation *in vitro* par des spermatozoïdes décongelés. Ce processus dure 18 à 24 heures et ensuite les ovocytes fécondés sont mis en culture *in vitro* pendant 7 jours.

A ce stade, les embryons ayant atteint le stade blastocyste sont mis en paillette et soit congelés et posés plus tard sur des receveuses, soit posés directement sur des donneuses synchronisées.

Théoriquement, il est possible de collecter les ovocytes sur une génisse à partir de 2 mois par aspiration folliculaire, cependant, pour des raisons évidentes de taille, pour des génisses aussi jeunes, l'aspiration folliculaire se fait par laparotomie sous anesthésie générale pour limiter les effets

secondaires à l'opération. Cela peut donc être très intéressant pour réduire l'intervalle de génération, mais cette technique reste très invasive et peu répétable (Galli *et al.*, 2001).

3.3. Rendements théoriques des biotechnologies de la reproduction

3.3.1. Selon le stade physiologique du bovin

Rizos *et al.* (2005) ont réalisé une comparaison des résultats en OPU de génisses et de vaches Holstein. Huit génisses pubères et 8 vaches (toutes de race Frisonne X Holstein) ont été ponctionnées 2 fois par semaine pendant 5 semaines sans protocole de superovulation. Pour chaque collecte, l'équipe a pu noter le nombre de follicules ponctionnés, leur taille, ainsi que le nombre et la qualité des ovocytes obtenus. Le nombre de follicules ponctionnés est significativement plus important chez les génisses que les vaches (10,4 pour les génisses par collecte contre 7,8 pour les vaches). Il a été ponctionné significativement plus de follicules entre 2 et 4 mm chez les génisses (5,9 en moyenne par collecte pour les génisses contre 4 pour les vaches). Le nombre d'ovocytes récupérés suite à la ponction est lui aussi significativement plus important : 4,7 ovocytes par collecte par génisse et 2,8 ovocytes par collecte par vache. Selon cette étude, on obtient donc plus d'ovocytes chez les génisses que chez les vaches (Tableau 3).

Tableau 3 : Comparaison des résultats moyens de collecte par ponction entre génisses et vaches (Rizos *et al.*, 2005).

	Génisses	Vaches
Taille des follicules ponctionnés	2-4 mm	2-7 mm
Nombre d'ovocytes obtenus	4,7	2,8
Nombre d'ovocyte de grade 1-2	3	1,8

*Tous les résultats présentés dans le tableau sont significatifs.

Les auteurs n'ont pas obtenu de différences significatives dans les taux de clivage obtenus par la suite.

Ainsi, on peut retenir qu'on obtient plus d'ovocytes chez les génisses que chez les vaches dans les conditions de collecte *in vivo*. Pour les collectes *in vivo*, on a donc plus d'ovocytes donc plus de chances d'avoir des ovocytes fécondés sur des collectes réalisées chez les génisses.

Pour les collectes par OPU suivies de fécondation *in vitro*, on obtient plus d'ovocytes, avec des taux de clivage semblables. Il est donc plus intéressant d'utiliser des génisses dans les biotechnologies de la reproduction, car elles produiront *a priori* plus. De plus, lorsqu'une vache a déjà eu une ou plusieurs lactations et qu'elle est rentrée dans le circuit laitier usuel, il est plus compliqué de l'envoyer en station de donneuse, pour des raisons de logistique et de rentabilité pour l'éleveur.

3.3.2. Selon le stade folliculaire

Lorsque les ovocytes sont collectés, ils ne sont pas tous collectés au même stade de développement. Certains sont plus matures que d'autres. Au fur et à mesure du développement des ovocytes, ils expriment des récepteurs qui leur permettent d'être plus ou moins sensibles à certaines molécules.

On définit d'après Blondin (2012) un follicule comme mature un follicule qui a eu l'effet du pic de LH pré ovulation. Par la suite, il est question de la compétence de l'ovocyte obtenu de ce follicule. Selon Watson (2007), la compétence d'un ovocyte dans le cadre du transfert embryonnaire correspond à sa capacité à atteindre le stade mature et lors de sa fécondation par un spermatozoïde, à atteindre le stade blastocyste et donner un embryon viable.

Le premier critère est la taille du follicule ponctionné. Il a été montré par Blondin (2012) que plus la taille du follicule est importante lors de la ponction, plus le taux d'embryons transférables

(morula ou blastocyste de qualité 1 ou 2) est important par la suite (environ 42% pour les follicules entre 1 et 4 mm et 59 % pour les follicules de plus de 10 mm. En effet, la taille du follicule est représentative du stade de développement de l'ovocyte, puisque plus le follicule est de taille importante, plus l'ovocyte est avancé dans son développement. Le but est donc d'obtenir un maximum de follicules de plus de 5 mm de diamètre. Pour cela, on peut jouer sur la période de "coasting", qui varie selon le protocole de superovulation.

3.3.3. Selon le protocole de superovulation

Comme vu auparavant, il existe plusieurs protocoles de superovulation. Tout d'abord, on peut étudier le nombre d'injections de FSH, une unique contre plusieurs injections (3 injections en 24h). Chaubal *et al.* (2007) ont étudié la réponse des ovaires à un protocole avec une unique injection de FSH contre plusieurs injections de FSH, les vaches étaient ensuite ponctionnées par OPU. Ils ont pu montrer que pour les vaches qui avaient reçu plusieurs injections, le nombre moyen d'ovocytes ponctionnés était plus important, avec plus de 2 ovocytes de plus par collecte (7,42 contre 9,53 ovocytes collectés par session d'OPU).

Chaubal *et al.* (2007) ont aussi montré que la mise en place d'un dispositif intra vaginal (CIDR) n'influe pas le nombre d'ovocytes obtenus. Or les dispositifs intra vaginaux sont très utilisés en station de donneuses afin d'avoir des chaleurs de référence ou de synchroniser des génisses. Il est donc intéressant de savoir qu'ils n'ont pas d'influence négative ni positive sur la production numérique d'ovocytes.

En OPU, la période de coasting (comme vu dans la partie 3.2.2.) est primordiale afin d'avoir des ovocytes au bon stade de développement, si elle est trop courte ou trop longue, les rendements peuvent diminuer. En effet, selon Blondin *et al.* (2012), le but est d'avoir un maximum de follicules mesurant entre 5 et 10 mm de diamètre, correspondant à une période de 44h entre la dernière injection de FSH et la ponction afin d'avoir des rendements optimaux (70,6% de blastocystes obtenus contre moins de 63% pour des durées inférieures ou supérieures). En effet, lorsque la taille est supérieure à 10 mm, cela rend difficile la ponction à l'aiguille. Nivet *et al.* (2012) ont aussi montré que les taux les plus importants de rendement en nombre d'embryons sont obtenus avec des follicules de plus de 7 mm avec de courtes durées de coasting (entre 44 et 68h).

En collecte d'embryons *in vivo*, les injections de FSH à dose décroissante à 12h d'intervalle sont les plus concluantes afin d'avoir un maximum d'ovulations pour augmenter les chances de fécondation et d'avoir le maximum d'embryons.

3.3.4. Selon l'intervalle entre les collectes

Pour optimiser la production d'embryons (*in vitro* ou *in vivo*), le but est d'obtenir le plus possible d'ovocytes ou d'embryons, donc de collecter ou ponctionner le plus possible la génisse, sans toutefois altérer la fonction reproductive de la génisse ou la qualité des embryons ou des ovocytes.

3.3.4.1. *In vivo*

Pour la collecte d'embryons, elles sont réalisées toutes les 3 semaines. En effet, il y a ovulation et fécondation, il faut donc ensuite attendre un nouveau cycle pour pouvoir de nouveau collecter la vache. Il semble donc difficile de réduire ce délai.

Des génisses gestantes peuvent être collectées dans les 3 premiers mois de leur gestation sans danger pour la gestation de l'animal ni pour le veau (Reinders *et al.*, 1996). Cependant, en station de donneuse, on réalise les ponctions ovocytaires dans un premier temps et avant que la génisse soit gestante car on peut les réaliser plus précocement que pour la collecte d'embryons.

On peut aussi noter que l'on peut combiner les deux techniques, c'est d'ailleurs ce qui est réalisé dans certaines stations de donneuses. Elles sont combinées afin d'avoir un maximum de rendement, et un maximum d'embryons par génisse, en commençant les collectes dès que les génisses sont cyclées, jusqu'à leur sortie de la station, où elles rejoignent leur élevage, gestantes. On optimise ainsi théoriquement l'aspect reproduction de la génisse, avec un maximum d'embryons

produits, mais aussi la productivité de la génisse, car le but est qu'elle vèle entre 22 et 30 mois, afin que sa période improductive soit la plus courte possible, tout en valorisant un maximum son potentiel génétique.

3.3.4.2. *In vitro*

Pour l'OPU, si les génisses ne sont pas superovulées, elles peuvent être ponctionnées 2 fois par semaine, sans aucune conséquence sur la fonction de reproduction, afin d'avoir le meilleur rendement. Lorsque les collectes ont lieu seulement une fois par semaine, les ovocytes obtenus sont moins nombreux et de moins bonne qualité. En effet, lorsque les ponctions ont lieu 2 fois par semaine, si tous les ovocytes sont ponctionnés, il n'y a pas de développement de follicule dominant, donc tous les ovocytes atteignent le même stade de développement, alors que si on attend une semaine entre chaque ponction, un follicule dominant a le temps de se développer et de provoquer le début d'atrésie des autres, ce qui explique la moins bonne qualité des ovocytes collectés (Galli *et al.*, 2001). Cependant, il a été montré par Petyim *et al.* (2003) que lorsque les ponctions sont pratiquées deux fois par semaine dans les 12 premiers jours du cycle chez les génisses, on obtient le même nombre d'ovocytes que lorsque les génisses sont ponctionnées toutes les deux semaines de façon continue sur toute la durée du cycle. Cela permet donc de pratiquer moins d'OPU et de limiter les OPU aux 12 premiers jours de cycle. En station de donneuse, sur des génisses superovulées, elles sont ponctionnées toutes les deux semaines.

ETUDE STATISTIQUE ET ECONOMIQUE

1. Contexte

De nos jours, les leaders mondiaux dans la production d'embryons sont les Américains, et en particulier l'Amérique du Nord (Canada et USA) qui possèdent une grande partie du marché à l'échelle internationale. L'Europe n'occupe que la troisième place dans le monde. Cependant, la France est le leader européen. Afin de s'imposer dans ce milieu, les entreprises de génétique Françaises doivent réduire leurs coûts de production afin de présenter une attractivité plus importante et de pouvoir sérieusement concurrencer l'Amérique du Nord, à l'échelle de l'Europe.

Le but est aussi de démocratiser le transfert embryonnaire auprès de tous les éleveurs et de le rendre accessible afin d'entretenir le progrès génétique et la diversité génétique des embryons proposés.

1.1. Réduction du temps en station

Afin d'être rentable, la production d'embryons doit se faire sur une courte période. Ainsi, dans l'idéal, les génisses rentrent à l'âge de 6 mois en station, commencent leur période de production à 8 mois, la terminent à 15 mois et retournent gestantes dans leur élevage à 18 mois. La période de séjour de la génisse en station doit être la plus courte possible afin de limiter les frais pour l'éleveur et pour l'entreprise. Plus elle reste longtemps, plus elle retarde son début de production laitière et plus elle coûte de l'argent à l'éleveur.

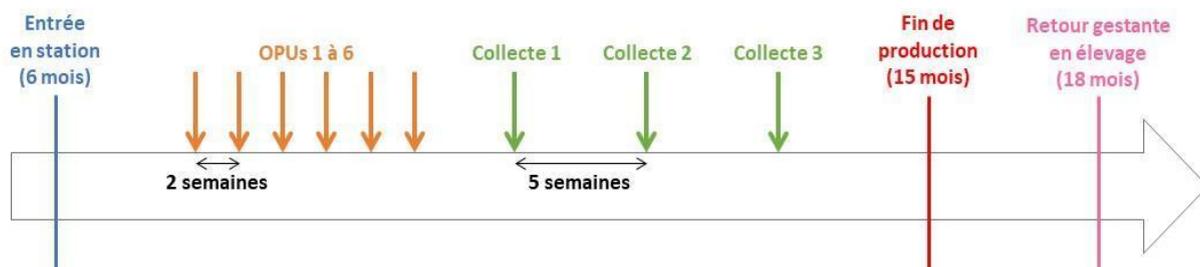
L'idée est d'inclure la production d'embryons dans la vie de la génisse, et d'utiliser la période où elle n'est pas encore productive en lait afin de la rentabiliser, et ensuite qu'elle réintègre le schéma « normal » de production de lait le plus rapidement possible.

1.2. Augmentation de la production d'embryons

L'activité de l'entreprise en transfert embryonnaire en station était de base constituée par une production d'embryons *in vivo* majoritairement, qui commençait à l'âge d'environ 9 mois. Afin d'augmenter la production d'embryons, une transition a été effectuée vers du transfert d'embryons produits *in vitro*. En race Normande, avant de commencer les collectes *in vivo*, les génisses sont donc ponctionnées par Ovum Pick Up (OPU) tous les 15 jours, depuis 2020, pour obtenir 3 OPU, suivies de 3 collectes *in vivo* (qui ont lieu toutes les 5 semaines en moyenne). A terme, le projet est d'augmenter le nombre d'OPUs à 6 contre 3 actuellement avant les 3 collectes *in vivo*, pour obtenir environ 30 embryons par génisse Normande, l'objectif actuel étant de 20 embryons.

En effet, le marché mondial de vente d'embryons se développe, et de plus en plus d'embryons sont exportés, il faut donc aussi pouvoir répondre à cette demande en produisant plus d'embryons. En race Normande, les embryons ne sont pas exportés, ce sont surtout les embryons de Prim'Holstein qui le sont. Cependant, il y a une réelle concurrence avec les autres races, il faut donc maintenir une production élevée pour être compétitif sur le marché des embryons.

Figure 16 : Chronologie de l'utilisation des biotechnologies de la reproduction chez les génisses Normandes en station.



1.3. Optimisation du progrès génétique

Le progrès génétique annuel correspond aux écarts phénotypiques observés entre deux générations, les mâles et les femelles étant sélectionnés pour se reproduire de façon que la génération suivante soit meilleure que les parents.

$$\Delta G_a = \frac{i \times \sqrt{CD} \times \sigma_g}{T}$$

Le progrès génétique ΔG_a est fonction de l'intensité de sélection i , de la précision σ_g , de la racine carrée de la variance génétique additive CD et de l'intervalle de génération T .

Les paramètres sur lesquels on peut influencer le plus facilement sont l'intensité de sélection, qui est déjà très élevée, toutes les génisses sont génotypées et sélectionnées sur des critères précis. L'intensité de sélection a donc tendance à augmenter et donc à faire augmenter le progrès génétique.

On peut aussi modifier l'intervalle de génération. L'intervalle de génération T est l'âge moyen des parents à la naissance de leurs descendants qui seront soumis à la sélection pour produire la génération suivante. Il peut être réduit par exemple en diminuant l'âge des donneuses dans un premier temps, notamment par l'utilisation des biotechnologies de la reproduction.

En effet, en collecte *in vivo*, les génisses commencent à être collectées à environ 12 mois, si on ajoute les 9 mois de gestation sur une vache receveuse à la suite du transfert d'embryon, la donneuse a 21 mois lorsque le veau issu d'embryon naît. Or on a vu plus tôt que l'âge moyen au premier vêlage en race Normande est de 34 mois. On gagne donc déjà 13 mois en intervalle de génération. Si en plus des transferts d'embryon *in vivo* on rajoute des embryons obtenus *in vitro*, on peut commencer les OPU à 6 mois, on gagne donc encore 6 mois de plus d'intervalle de génération, car elles commencent à produire des embryons à 6 mois au lieu de 12.

Ainsi, en réduisant l'intervalle de génération en accélérant la production d'embryons en collectant les génisses plus jeunes, on augmente le progrès génétique de la race Normande. Cela justifie aussi les nouveaux objectifs de production, ils ont pour but d'augmenter le progrès génétique de la race Normande, en plus d'être plus rentable pour l'entreprise. Le but est aussi de valoriser la race Normande et ses atouts par ce biais.

1.4. Application des biotechnologies de l'embryon en race Normande et motivation de notre étude

Cette étude a été réalisée en partenariat avec une entreprise de génétique, qui fait face à une baisse de production en embryons en race Normande depuis 2019, ce qui va à l'encontre des objectifs de production du schéma génétique. L'objectif de cette étude est d'explorer les facteurs qui peuvent influencer la production d'embryons en race Normande en station, en utilisant des données antérieures (de 2012 à 2018) afin d'identifier des pistes pouvant expliquer l'origine de la baisse de production constatée par notre partenaire.

Le but dans un premier temps serait de caractériser cette baisse de production : depuis quand a lieu cette baisse de production? La chute a-t-elle été brutale ou progressive? Les facteurs d'influence sont-ils d'origine intrinsèque ou extrinsèque aux animaux ?

Ainsi, dans un premier temps, il a été réalisé une étude descriptive, qui permet de contextualiser la situation, d'objectiver la baisse de production d'embryons, ainsi que d'observer l'évolution, au cours des années d'étude, des différents facteurs intrinsèques et extrinsèques étudiés. On obtient ainsi une vue d'ensemble de la situation dans l'entreprise de reproduction pendant les années étudiées. Cependant, certains facteurs peuvent être dépendants les uns des autres. Par exemple, la classe de poids à la collecte est dépendante de l'âge de collecte, lui-même dépendant de l'année de collecte. Ainsi, on peut considérer que si l'âge à la collecte, le poids de collecte et l'année de collecte ont un impact sur le nombre d'embryons total et le nombre d'embryons viables, on pourrait finalement expliquer l'impact uniquement par un paramètre 'année', qui regroupe les variations d'âge et donc de poids.

Dans un second temps, une étude statistique univariée a été réalisée afin de sélectionner les facteurs intrinsèques et extrinsèques qui semblent avoir eu un impact sur la production d'embryons (étude analytique 2).

Enfin, il est proposé un modèle statistique multivarié, afin de prendre en compte les modifications simultanées des paramètres dans notre contexte particulier de production, et de potentiellement pouvoir attribuer les variations de production à un unique ou plusieurs paramètres (étude analytique 3).

La fragilité de cette étude réside dans le fait que pour pouvoir faire une étude statistique, il faut un groupe témoin. Or, dans un contexte de production, lorsqu'un changement de conduite est fait, il n'y a pas de groupe témoin qui est désigné, et souvent, plusieurs changements de conduite sont faits en même temps. Il est donc impossible de savoir quelle est la part d'influence de chaque paramètre sur la production d'embryons.

2. Matériel et méthodes

2.1. Données fournies

L'ensemble des données utilisées pour cette étude a été fourni par l'entreprise de génétique et est constitué de toutes les données de collectes embryonnaires *in vivo* en race Normande dans les deux stations de l'entreprise, que l'on appellera station 1 et station 2 et sous forme de fichier Excel (Annexe 1).

Chaque collecte est identifiée par un numéro unique, ainsi une collecte ne peut être confondue avec une autre. Pour chaque collecte, on a un ensemble de données caractérisant :

- les produits obtenus : nombre total d'embryons, nombre d'embryons viables
- la donneuse : son âge à la collecte, ses dernières pesées autour de la collecte, sa date de naissance, son numéro d'identification
- la collecte : la date de collecte, le rang de collecte, le protocole de superovulation utilisé
- la semence utilisée : le type de semence, le taureau utilisé

Le fichier d'origine est composé de 2477 collectes : 1282 en station et 1195 en ferme. Dans un premier temps, il a servi tel quel pour l'analyse descriptive de l'activité de collecte embryonnaire *in vivo* de donneuses Normandes en station et en ferme.

2.2. Tri des données (études 2 et 3)

La première étape a été de sélectionner la période présentant un maximum de stabilité dans les paramètres de production. Ainsi, les collectes réalisées entre 2012 et 2018 ont été choisies car ce sont les années où l'intervalle de collecte est resté stable en général, avec le même opérateur, et il n'y avait pas d'OPUs pratiquées avant les collectes *in vivo*. Il s'agit aussi de la période où l'âge des donneuses à la première collecte n'a pas encore été trop réduit (13 mois), et les protocoles utilisés pour la superovulation étaient plutôt homogènes.

Dans le fichier de base, il y a 2 lieux de collecte, avec deux opérateurs différents. On a donc retiré toutes les collectes effectuées en station 2 (site secondaire avec moins de collectes), afin de n'avoir qu'un lieu de collecte et qu'un seul opérateur.

Pour se situer dans les mêmes conditions pour chaque génisse, seules les génisses ayant eu au moins 3 collectes et n'ayant participé à aucun protocole spécifique (par exemple, un protocole pour la sélection du gène sans cornes réalisé sur la période) ont été retenues.

Ainsi, les collectes suivantes sont concernées par cette étude :

- De génisses de race Normande sur leur période de séjour en station, entre 12 et 23 mois d'âge
- Ayant lieu entre 2012 et 2018

- Ayant lieu en station et seulement dans la station 1
- Effectuées par le même opérateur (opérateur 12)
- Sans OPU avant les collectes d'embryon
- De génisses ayant eu 3 collectes au moins
- Inséminées avec une semence congelée
- De génisses n'appartenant pas à des protocoles spécifiques

Le fichier final de travail de cette étude est composé de 467 collectes et 30 variables.

2.3. Description des variables (études 2 et 3)

La première étape a été de caractériser les variables, afin de faire le tri entre les variables explicatives, c'est-à-dire les variables dont on cherche à étudier l'effet sur la production d'embryons et les variables réponses, qui sont les variables qui servent à étudier l'effet des changements de ces variables explicatives, et à mesurer cet effet.

Les variables explicatives de cette étude correspondent à tous les effets que l'on cherche à étudier sur la production d'embryons, par exemple l'âge de la donneuse, le rang de collecte, le protocole utilisé, l'intervalle de collecte..., et qui pourraient expliquer les variations des variables réponses.

Les variables réponses correspondent aux variables qui vont être influencées par les variations de variables explicatives, et ici qui vont nous intéresser dans le cadre de la production, car ce sont directement les produits des collectes qui nous intéressent tels que le nombre d'embryons total par collecte et le nombre d'embryon viables par collecte.

2.3.1. Variables quantitatives

Pour chaque variable, on a pu calculer avec le logiciel R (fonction summary) la moyenne, le minimum et le maximum, le 1^{er} et le 3^{ème} quartiles, ainsi que la médiane. On obtient une vue d'ensemble de chacune des variables qui sert de référence pour l'étude statistique suivante.

Tableau 4 : Description des variables quantitatives (les variables explicatives sont en bleu et les variables réponse en saumon).

VARIABLE QUANTITATIVE	SIGNIFICATION	UNITÉ	MOYENNE	MINIMUM	1ER QUARTILE	MÉDIAN E	3EME QUARTILE	MAXIMUM
DON_COL_AGE	Âge de la donneuse au moment de la collecte	Mois	16,8	11,9	15,1	16,7	18,3	22,8
I_COL2-COL1_SE M	Intervalle entre la collecte de rang 1 et celle de rang 2	Semaines	8,2	4	6	8	9	43
I_COL3-COL2_SE M	Intervalle en semaines entre la collecte de rang 2 et celle de rang 3	Semaines	7,6	4	6	7	8	42
VIVO56SU. POIDS_ENTREE	Poids d'entrée en station de la donneuse	kg	235,7	95	189	227	288	430
GMQ_NM1_NM2_C OL	Gain moyen quotidien entre les mois N-2 et N-1 avant la collecte	g/j	730,7	-1192	519	757	957,5	2250
GMQ_NM1_NM3_C OL	Gain moyen quotidien de la donneuse entre les mois N-3 et N-1 avant la collecte	g/j	754,1	-293	643,5	764	874	1500
GMQ_NP1_NM2_C OL	Gain moyen quotidien de la donneuse entre les mois N-2 et N+1 autour de la collecte	g/j	750,6	-365	629	761	889	1393

POIDS_TH_6_MOIS	Poids théorique à 6 mois de la donneuse, calculé avec la 1ère pesée post 6 mois	kg	173,5	108	158,5	173	188	230
POIDS_TH_COL	Poids théorique de la donneuse au moment de la collecte	kg	440,4	314	403	436	472	606
TOTAUX	Nombre total d'embryons obtenus	Nombre d'embryons	12,88	0	5	11	18,5	58
VIABLES	Nombre total d'embryons viables obtenus	Nombre d'embryons	6,934	0	2	6	10	32

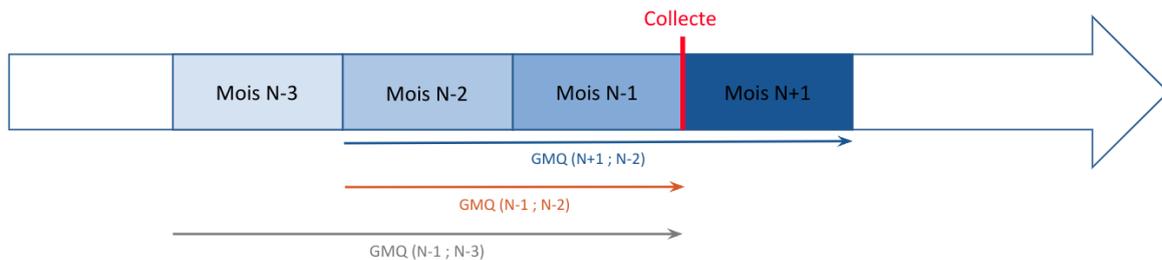
*On considère un embryon comme viable un embryon de qualité 1, 2 ou 3 (Figure 12, bibliographie partie 3.2.1.)

Le gain moyen quotidien (GMQ) correspond à la croissance d'un individu sur une période donnée. Les GMQ sont calculés de la façon suivante :

$$GMQ(t2; t1) = \frac{P(t2) - P(t1)}{(t2 - t1)}$$

Où le GMQ calculé est celui entre le temps t1 et le temps t2, P est le poids en grammes (au temps t1 ou t2) et t1 et t2 sont les temps en jours. On obtient un GMQ en g/j.

Figure 17 : Description des 3 variables de GMQ utilisées dans l'étude.



Trois mesures du GMQ situées aux abords de chaque collecte (moment N) ont été étudiées. Ainsi, le GMQ de la période comprise entre l'avant dernier mois avant la collecte et le premier mois après la collecte GMQ(N+1;N-2) ; le GMQ entre deux mois avant la collecte et le mois avant la collecte GMQ(N-1;N-2) et le GMQ entre le troisième mois avant la collecte et le mois après la collecte GMQ(N-1;N-3) ont été calculés. Ces trois mesures ont été utilisées pour étudier l'effet de la variation du GMQ autour de la récolte (GMQ(N+1;N-2)), pendant la phase de recrutement des follicules (GMQ(N-1;N-2)) ou pendant la phase de croissance de la génisse en station (GMQ(N-1;N-3)), respectivement, sur la production d'embryons.

Etant donné que les génisses sont pesées une fois par mois, nous disposons d'une mesure du poids par mois (qui ne correspond pas forcément avec les jours de collecte), mais cela permet de calculer ces trois GMQ pour toutes les génisses.

Les poids théoriques (Pth) à un instant x sont calculés de la façon suivante :

$$Pth(x) = Pnaiss + \frac{Pe - Pnaiss}{\hat{Age}} \times x \times 30,5$$

Où :

P_e : le poids d'entrée en station de la génisse en kg,

P_{naiss} le poids de naissance de la génisse en kg,

\hat{Age} : l'âge d'entrée en station en jours.

Le facteur 30,5 correspond au nombre moyen de jours par mois, et

x : l'instant auquel on souhaite calculer le poids théorique, en mois.

Le poids théorique à 6 mois est un paramètre utilisé dans les stations pour fixer l'objectif de croissance à l'entrée en station (à 6 mois). Il permet aussi de comparer les poids des génisses à âge égal. Ainsi il permet de comparer les individus recrutés aux objectifs attendus.

2.3.2. Variables qualitatives

2.3.2.1. Description des variables

Afin de simplifier l'étude, les variables quantitatives ont toutes été transformées en variables qualitatives, comme les années de collecte ou les trimestres, car le but n'était pas d'observer une relation entre ces variables, mais plutôt de regarder si pour telle année ou tel trimestre on a une différence avec une autre année ou un autre trimestre.

De même, pour les variables de poids et d'intervalle de collecte. En effet, réaliser une régression linéaire sur ces variables semble peu cohérent, car les effets observés sont plus des effets de seuil. C'est pourquoi des classes de poids ou de semaines pour les intervalles de collecte ont été créées.

Suite au calcul du GMQ, des intervalles de poids et de GMQ ont été créés sur la base des quartiles afin d'avoir une répartition homogène entre les classes de poids. Ainsi, 3 classes ont été créées afin d'avoir des effectifs suffisants par classe, pour ce faire, la première limite a été prise en calculant la moyenne entre le 1^{er} quartile et la médiane, puis la moyenne entre la médiane et le 3^{ème} quartile a été prise pour la deuxième limite.

Ce travail a permis de travailler seulement avec des variables qualitatives pour les variables explicatives. Cela permet de simplifier les statistiques. Ainsi, il a été possible d'étudier la dépendance des variables quantitatives (les variables réponses) aux variables qualitatives (les variables explicatives) à travers l'analyse de variance (ANOVA).

Tableau 5 : Description des variables qualitatives.

VARIABLE	SIGNIFICATION	NOMBRE DE MODALITÉS	MODALITÉS	EFFECTIFS
COL_NUM	Numéro de collecte, unique	467		
COL_RG	Rang de la collecte	3	1	163
			2	151
			3	153
Superfamille	Super famille de protocole de superovulation utilisé	2	Classique	148
			Protobo	319
COL_FSH2	Type de FSH utilisée et pourcentage de dose vache utilisée	2	PLUSET-50	148
			STIMUFOL-80	319
COL_ANNEE	Année de la collecte	7	2018	88
			2017	72
			2016	88
			2015	69
			2014	86
			2013	36

			2012	28
COL_TRIM	Trimestre de collecte	4	1	126
			2	116
			3	105
			4	120
I_COL2-COL1_CL	Classes d'intervalles entre les collectes de rang 1 et 2 en semaines	4	NA	316
			[5:6]	38
			7	35
			8	61
			>9	17
I_COL3-COL2_CL	Classes d'intervalles entre les collectes de rang 2 et 3 en semaines	4	NA	314
			[5:6]	32
			7	41
			8	60
			>9	20
GMQ_NM1_NM2_COL_CL	Classe de gain moyen quotidien entre les mois N-2et N-1 avant la collecte	4	<500	103
			[500;750[127
			[750;950]	118
			>950	119
GMQ_NP1_NM2_COL_CL	Classe de gain moyen quotidien entre les mois N-2 et N+1 autour de la collecte	4	<600	118
			[600;750[133
			[750;900[120
			>=900	96
GMQ_NM1_NM3_COL_CL	Classe de gain moyen quotidien entre les mois N-3 et N-1 avant la collecte	4	NA	4
			<650	123
			[650;750[87
			[750;850]	185
			>850	68
POIDS_TH_CL	Classe de poids théorique à la collecte	3	<420	183
			[420;450[96
			>450	188
POIDS_TH_6mois_CL	Classe de poids théorique à 6 mois	3	<150	62
			[150;180[205
			>180	197

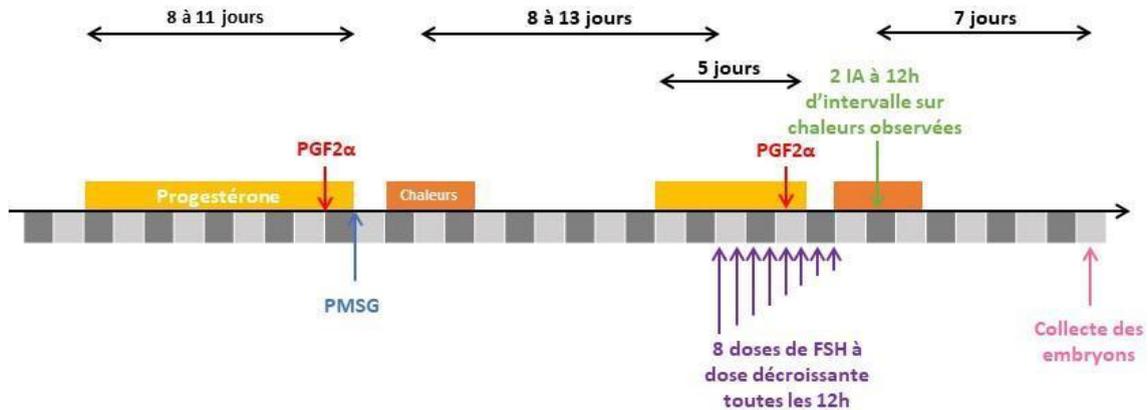
On a ici une banque de données de collectes réparties de façon homogène entre les rangs, avec 163 collectes de rang 1, 151 collectes de rang 2 et 153 collectes de rang 3. Pour la suite de

l'étude, seules les variables explicatives qualitatives et deux variables réponse quantitatives (le nombre total d'embryons et le nombre d'embryons viables) seront utilisées.

2.3.2.2. Description des protocoles

2.3.2.2.1. Protocole « classique »

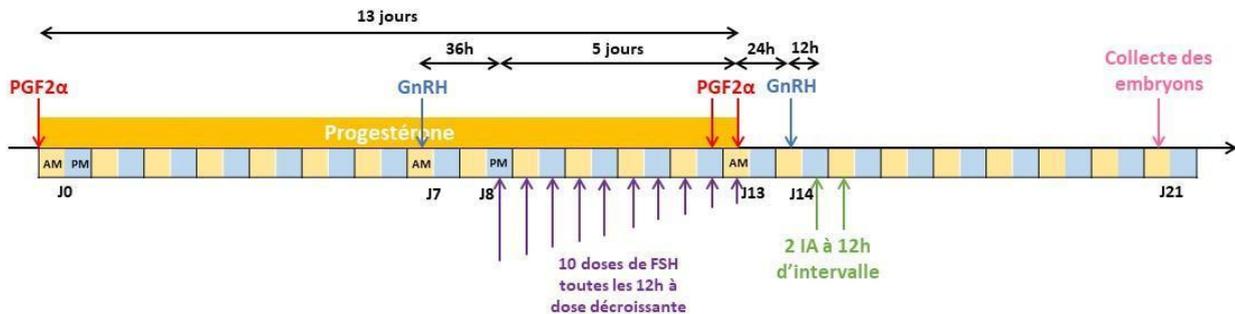
Figure 18 : Déroulé du protocole de superovulation dit « classique ».



Le protocole se base sur l'observation de chaleurs de référence, que l'on obtient par traitement hormonal. On se base donc sur l'observation des chaleurs visibles, cela implique une détection des chaleurs. Si les chaleurs ne sont pas détectées, cela fausse le protocole, qui doit être recommencé du début. En station, un dispositif d'aide à la détection des chaleurs est utilisé, avec des colliers pour limiter cette erreur.

2.3.2.2.2. Protocole « protobo »

Figure 19: Déroulé du protocole de superovulation dit « protobo ».



Ce protocole permet de s'affranchir de la surveillance des chaleurs. Même si en station, les chaleurs sont détectées par des colliers, le système n'est pas absolu. Ce protocole présente donc un réel avantage. Cependant, il y a plus d'injections à faire que pour le protocole dit « classique ». Il est ainsi plus envahissant pour la donneuse et plus contraignant pour la mise en pratique pour le personnel.

2.4. Exploitation des variables

2.4.1. Étude 1 : étude descriptive

L'étude descriptive est réalisée avec le logiciel excel. On utilise la fonction moyenne. Les résultats ont été présentés sous forme de diagrammes bâtons ou bien de courbes.

2.4.2. Étude 2 : étude statistique univariée

L'étude analytique a été réalisée à l'aide du logiciel R - package emmeans (Annexe 2).

L'ANOVA (analyse de variance) en modèle univarié a été réalisée pour étudier la dépendance des variables réponses (quantitatives) aux variables explicatives (qualitatives). Le niveau de confiance a été fixé à 95%. Ainsi, une différence a été considérée comme significative lorsque $p < 0,05$. On parlera de tendance lorsque $0,05 < p < 0,1$. On utilise aussi le test de Tuckey afin de comparer les classes entre elles et déterminer desquelles elles sont différentes, on a ainsi un "p" associé à chaque comparaison de classes.

Les résultats ont été présentés sous forme de boîtes à moustache avec les écarts types.

2.4.3. Étude 3 : étude statistique multivariée

Le but de ce modèle multivarié est donc de sélectionner les facteurs qui vont réellement influencer les paramètres étudiés (le nombre d'embryons total par collecte et le nombre d'embryons viables), en s'affranchissant des interactions entre les différents paramètres, et de déterminer la part réelle de l'influence de chacun des paramètres.

L'étude univariée précédemment réalisée aura permis de sélectionner les paramètres intéressants à utiliser et donc de faire une présélection. En effet, le fichier de base comporte énormément de facteurs et faire tourner le script avec autant de paramètres serait très long et fastidieux. Il a fallu donc effectuer une sélection, ce qui a été possible à partir de l'étude univariée.

Pour donner du sens à ce modèle, l'objectif a été d'expliquer au mieux les variations de production d'embryon, tout en utilisant un minimum de paramètres, d'avoir un modèle informatif avec le minimum de facteurs. Pour chaque modèle multivarié, on a pu calculer la vraisemblance du modèle, plus cette valeur était élevée, plus le modèle collait à la réalité. En effet, plus on met d'informations donc de facteurs dans un modèle, plus on considère ce modèle comme informatif. Cependant, on voulait ici utiliser un minimum de facteurs, tout en gardant le modèle le plus informatif possible, on s'est basé sur le principe de "Smaller is better". Pour cela, on a utilisé la valeur "Akaike information criterion" (AIC). L'AIC correspond donc au critère de vraisemblance pénalisé du nombre de données utilisées dans le modèle. Le modèle retenu est donc celui qui a l'AIC le plus faible, puisque c'est celui qui a la vraisemblance la plus élevée avec un minimum de facteurs.

On a testé dans le modèle uniquement les facteurs ayant un impact sur la production d'embryons ou qui tendaient à avoir un impact, donc les facteurs sélectionnés dans la partie précédente, sur l'étude statistique univariée.

Une nouvelle étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R - package emmeans (Annexe 3). Dans cette partie, le format papier en 2 dimensions ne permet pas de présenter les résultats du modèle multivarié sous forme graphique. Afin de présenter les résultats, un test de Tukey a été réalisé afin de permettre de comparer deux classes d'un facteur dans un modèle statistique. Ainsi, si en comparant 'a' - 'b', on compare le facteur b au facteur a, la valeur 'estimate' correspond à la différence de moyennes, et on a une valeur de p associée.

3. Résultats

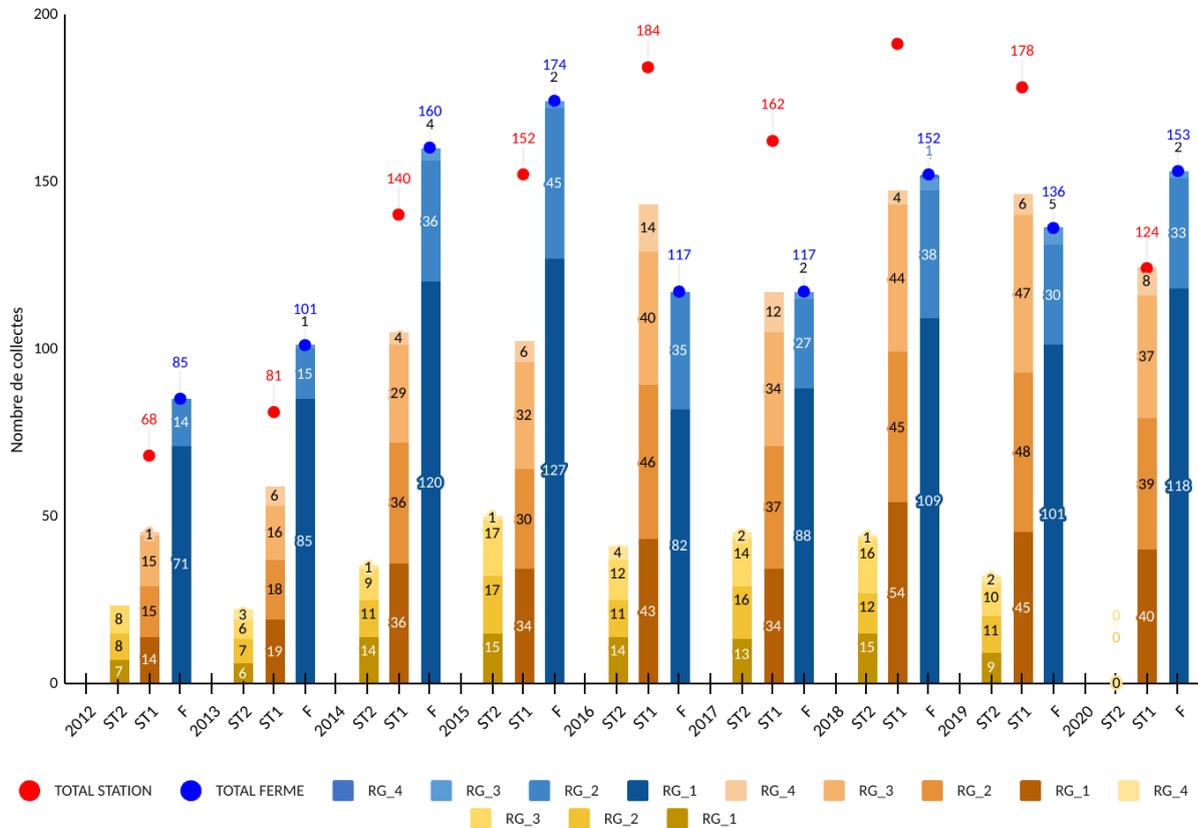
3.1. Étude 1 : Descriptif de l'activité en transfert embryonnaire (Fécondation *in vivo* uniquement) de la station de donneuses en race Normande

Dans cette partie, les données en transfert embryonnaire *in vivo* sur les génisses Normandes des stations de l'entreprise de génétique ont été étudiées (station 1 et la station 2 avant sa fermeture en 2019). Cette étude couvre la période de 2012 à 2020. Le but a été ici d'avoir un point de vue général sur l'activité de la station étudiée, d'objectiver et de quantifier d'éventuelles variations de production et de conduite de production.

3.1.1. Observations générales

3.1.1.1. Nombre de collectes

Figure 20 : Evolution du nombre de collectes d'embryons en ferme et en station sur la période de 2012 à 2020.



*La variable "TOTAL STATION" correspond au total de collectes obtenues dans les deux stations de l'entreprise de génétique.

** (F) fait référence aux résultats obtenus en ferme et (S) à ceux obtenus en station, RG = rang

Le nombre total de collectes en ferme et en station a augmenté jusqu'en 2015 pour ensuite se stabiliser jusqu'en 2020 à environ 150 collectes par an en station et 120 en ferme. A partir de 2016 le nombre de collectes en station a dépassé le nombre de collectes en ferme entre 2016 et 2019. Cela correspond à une concentration de l'activité de collectes en station.

En effet, les stations de collecte ont été créées pour donner suite aux débuts des génotypages des animaux et pour répondre à une demande d'augmentation de la production d'embryons. La création de ces stations permet aussi plus de confort pour les éleveurs face à la l'investissement de temps que représente l'administration des protocoles hormonaux de superovulation et la surveillance des vaches (venue en chaleur, insémination...). La concentration de toutes ces activités en station a pour objectif d'optimiser le rendement de la production d'embryons, ce qui correspond à la demande actuelle.

En 2020, la tendance s'inverse et le nombre de collectes en station devient plus faible que le nombre de collectes en ferme, avec une différence de 30 collectes environ. De nouveau, cette dernière est représentative de la politique actuelle de sélection où on se concentre sur un faible nombre de donneuses dont on est sûr de la valeur génétique, du fait de l'intensification de l'utilisation du génotypage.

La restriction du nombre de donneuses en station pourrait à terme faire diminuer la variabilité génétique, c'est pourquoi les collectes en ferme restent importantes. Elles permettent la conservation

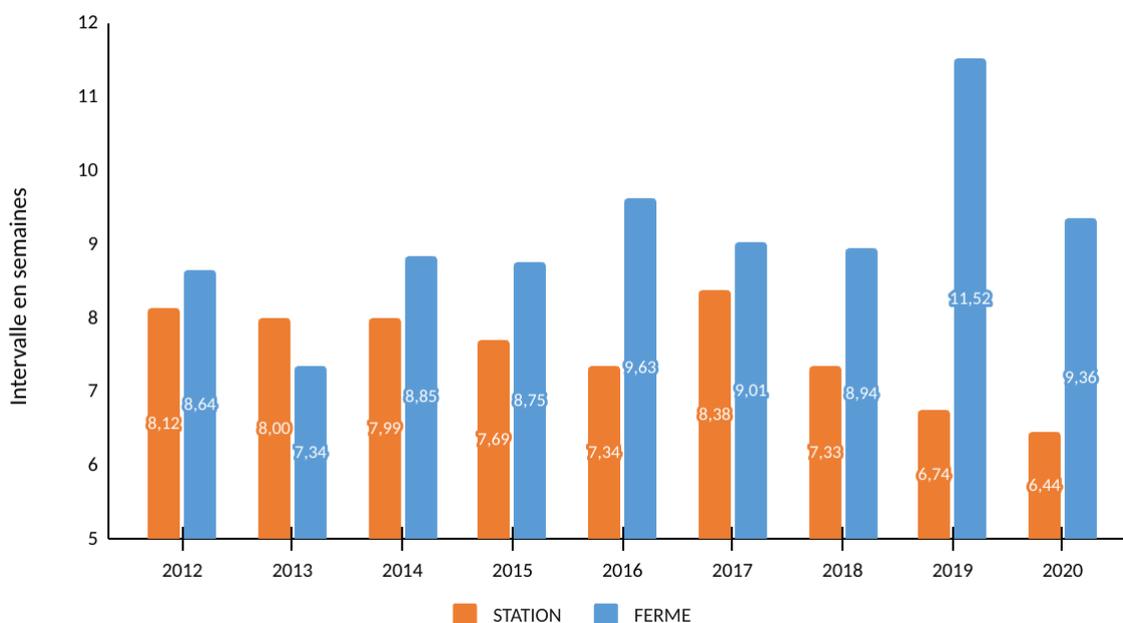
de la variabilité génétique. En ferme a aussi lieu la préparation de vaches receveuses d'embryons (activité qui n'est pas pratiquée en station).

Historiquement, l'entreprise possédait 2 sites d'accueil de donneuses d'embryons, la station 2 en Bretagne et la station 1 en Loire Atlantique. La fermeture de la station 2 en 2020 a provoqué la centralisation de la production d'embryons en station sur le site de la station 1. L'activité du site fermé était moins importante en race Normande mais avait une répartition entre les rangs similaire à celle du site 2. On peut expliquer cela par la situation géographique des sites, la station en Bretagne (site 2), accueillait des génisses en provenance d'élevage bretons surtout, où la race Prim'Holstein est largement majoritaire dans les élevages laitiers.

Ainsi la répartition des collectes entre les différents rangs était semblable dans les deux stations (des parts similaires entre les collectes de rang 1 à 3, puis un petit nombre de collectes de rang 4), tandis qu'en ferme, on note une prédominance des collectes de rang 1 qui représentent plus de 50% des collectes et les collectes de rang 3 sont largement minoritaires. Il s'agit d'un indicateur de la complexité de la mise en place des protocoles hormonaux (suivre le planning des injections, surveiller la venue en chaleur inséminer au bon moment, tout recommencer si pas de réponse au protocole...) pour les éleveurs, qui sont prêts à s'investir pour une collecte voire deux, mais rarement plus. En station cependant, les 3 collectes sont programmées systématiquement pour chaque génisse afin d'obtenir un maximum d'embryons, ce qui explique cette répartition.

3.1.1.2. Intervalle entre collectes

Figure 21 : Evolution de l'intervalle de collecte (tous rangs compris) sur la période de 2012 à 2020.



En ferme, les intervalles de collecte correspondent surtout à des intervalles entre les collectes de rang 1 et de rang 2 (peu de collectes de rang supérieur). L'intervalle varie entre 7,34 semaines et 11,52 semaines. Les résultats sont assez variables car il y a peu d'effectifs, en effet il y a peu de collectes de rang 2 en ferme.

En station, l'intervalle moyen diminue de 8,12 semaines en 2012 à 7,34 semaines en 2016, soit presque une semaine de moins de 2012 à 2016 ce qui correspond à une première politique de réduction de l'intervalle inter collectes de la société de génétique, puis l'intervalle entre collectes est augmenté à 8,38 semaines en 2017.

Un nouvel essai de réduction de l'intervalle est mis en place à partir de 2018 jusqu'en 2020 avec une réduction d'environ 2 semaines d'intervalle moyen en 2020 par rapport à 2017 (8,38 semaines en 2017 contre 6,44 semaines en 2020). Cette diminution volontaire répond à une demande

de réduction d'intervalle de génération, donc de produire plus dans un intervalle de temps plus faible. En réduisant l'intervalle de collectes, on peut augmenter le nombre de collectes dans la période où la génisse est en station, et donc augmenter le nombre d'embryons produits ou bien la faire retourner plus tôt dans son élevage, gestante.

Cependant, on peut se demander si le fait de réduire l'intervalle de collecte ne peut pas aussi diminuer la qualité et le nombre d'embryons obtenus et donc altérer la production d'embryons. En effet, en ferme, où on n'a pas observé de diminution d'intervalle de collecte, la production d'embryons n'a pas diminué.

3.1.1.3. Age à la collecte

Figure 22 : Evolution de l'âge des génisses et des taureaux à la collecte et du nombre d'embryons viables entre 2012 et 2020.

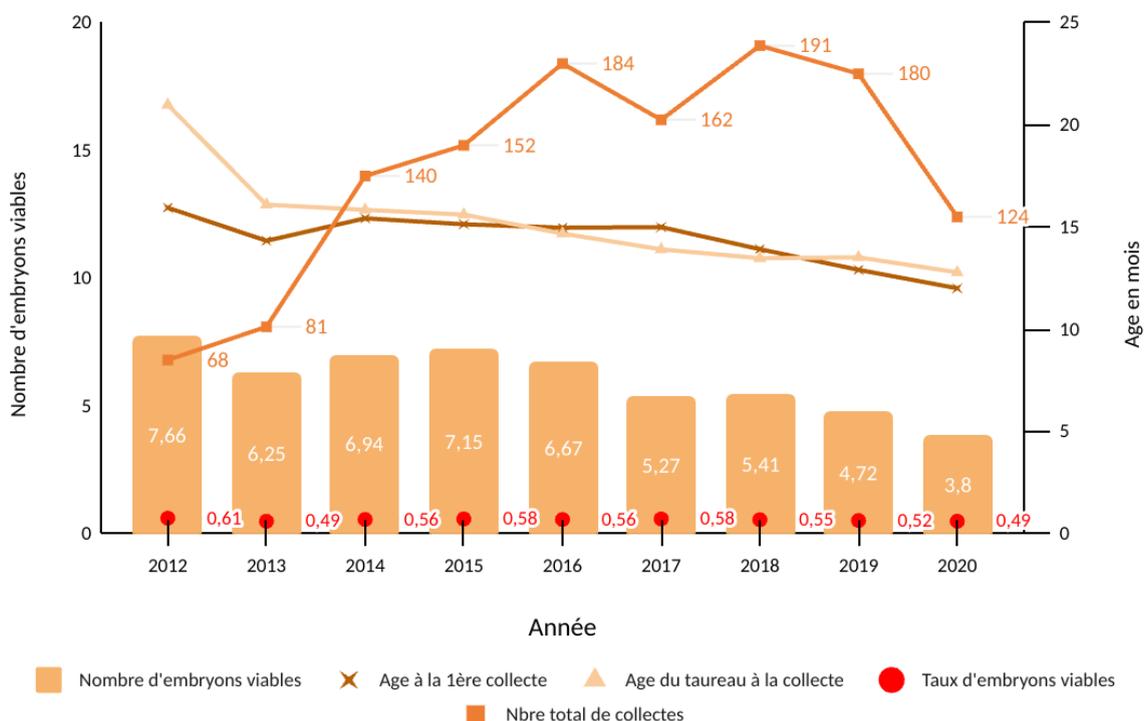
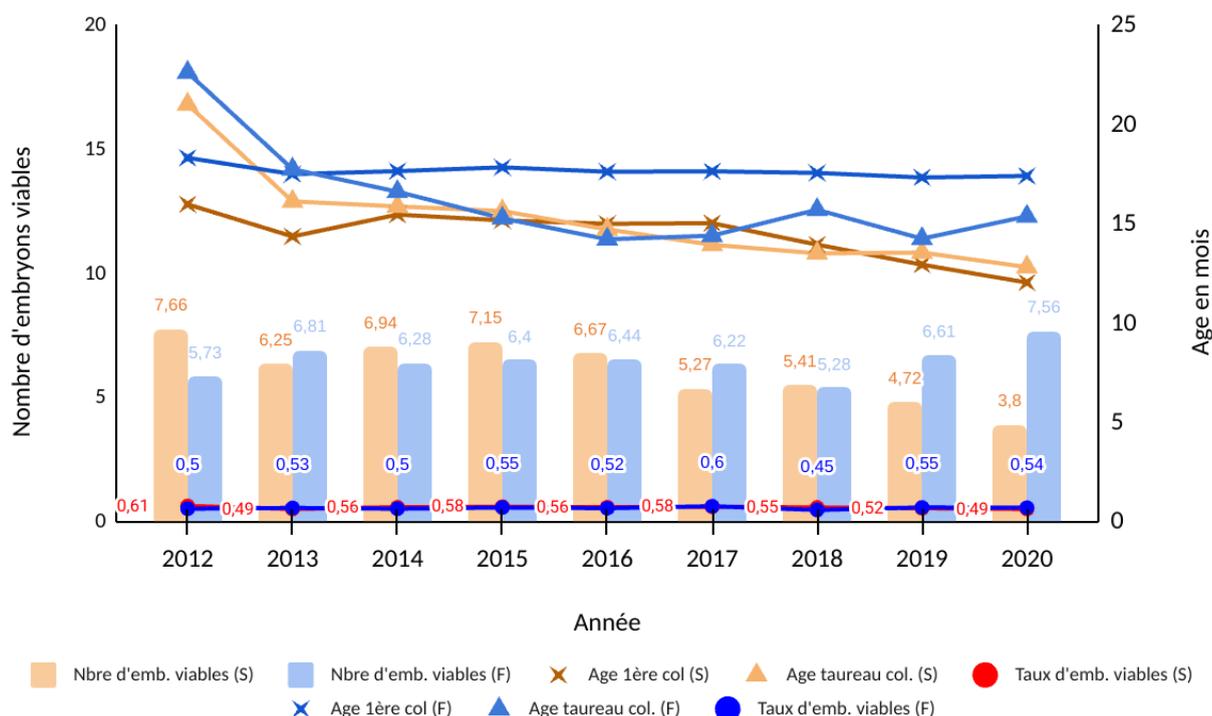


Figure 23 : Evolution de l'âge des génisses et des taureaux à la collecte et du nombre d'embryons viables en ferme et en station entre 2012 et 2020.



*(F) fait référence aux résultats obtenus en ferme et (S) à ceux obtenus en station

Les génisses sont collectées plus tôt en station qu'en ferme. Cela est dû à la différence de conduite entre les collectes en ferme et en station. L'âge actuel préconisé est de 12 mois en station tandis qu'il est de 17 mois en ferme.

L'âge moyen de collecte a diminué de façon continue de 2014 à 2020. En effet, il est passé d'environ 16 mois à 12 mois, alors qu'il est resté stable (environ 17 mois) en ferme. Les génisses en station ont été collectées de plus en plus jeunes afin de répondre à la politique de production de la station, mais aussi de réduire l'intervalle de génération.

L'âge du taureau a suivi la même évolution. Cependant, les données correspondant au taureau sont à considérer avec plus de prudence car il y a un manque d'informations sur la voie mâle dans certaines collectes. On parle donc seulement de tendance.

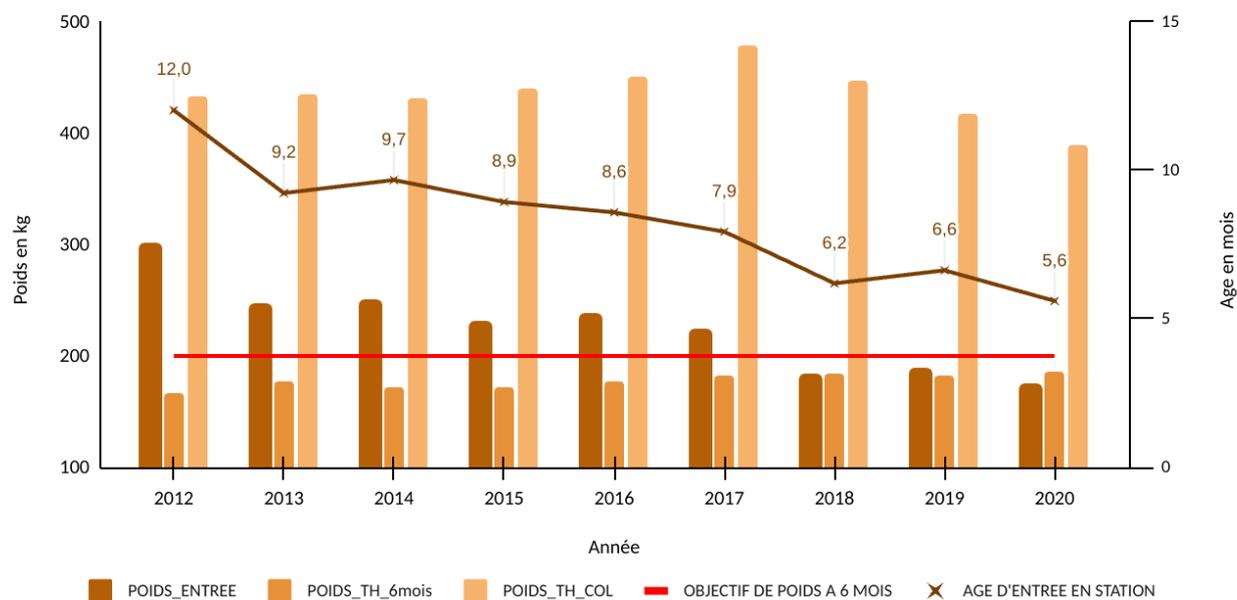
De plus, on peut remarquer une diminution du nombre moyen d'embryons viables par collecte en station (de 7,5 embryons en 2012 à moins de 4 en 2020), alors qu'il est resté stable entre 5 et 7,5 embryons en ferme.

Ainsi, l'intervalle moyen de collecte (Figure 25) ainsi que l'âge à la première collecte ont diminué en station. De façon conjointe à cette diminution, le nombre moyen d'embryons viables par collecte a diminué. Cependant, en ferme, où l'intervalle de collecte et l'âge de collecte n'ont pas diminué, le nombre d'embryons viables est resté stable.

On peut alors se demander si la diminution de l'âge à la collecte, conjointe à la diminution de l'intervalle de collecte ne serait pas responsable de la diminution de production d'embryons viables. Et si, finalement, la nouvelle politique de produire plus dans un intervalle de temps plus réduit n'est pas à l'origine de la baisse de production d'embryons en race Normande.

3.1.1.4. Poids des individus

Figure 24 : Evolution des poids d'entrée en station et des poids théoriques à 6 mois et de collecte en fonction des années, en station.



Le poids moyen d'entrée en station a diminué de façon conjointe avec l'âge d'entrée en station. En effet, les génisses rentraient en station avec 12 mois en 2012 contre 5,6 mois en moyenne en 2020. Par conséquent, le poids à l'entrée a baissé d'environ 300 kg en 2012 à environ 170 kg en 2020. Cela correspond à la nouvelle politique de la station de collecte, qui est de commencer par la production d'embryons *in vitro* avec des ovocytes ponctionnés par OPU, les génisses n'ont donc pas besoin d'être pubères dans le sens comportemental, et morphologique, mais seulement sur le plan physiologique pour les OPU.

Parallèlement, le poids théorique de collecte (poids calculé car les génisses sont pesées une fois par mois, ce qui ne correspond pas forcément avec la date de collecte) a diminué aussi depuis 2017 ce qui correspond aussi au fait que les génisses étaient collectées de plus en plus jeunes. Les génisses étant collectées plus jeunes, on peut supposer qu'elles étaient moins matures, voire pas pubères, car la puberté physiologique n'est pas définie par le poids, et il n'y a pas de vérification de la présence d'un corps jaune en station lors des collectes d'ovocytes par OPU pour vérifier si la génisse est cyclée. Le fait de collecter les génisses plus jeunes pourrait donc altérer la production d'embryons.

Cependant, il est à noter que le poids théorique à 6 mois est, quant à lui, resté stable, ce qui montre que, à âge égal, les animaux ne sont pas plus petits ou plus maigres, mais plutôt que la diminution des poids de collecte ou d'entrée en station correspond à un effet âge à la collecte.

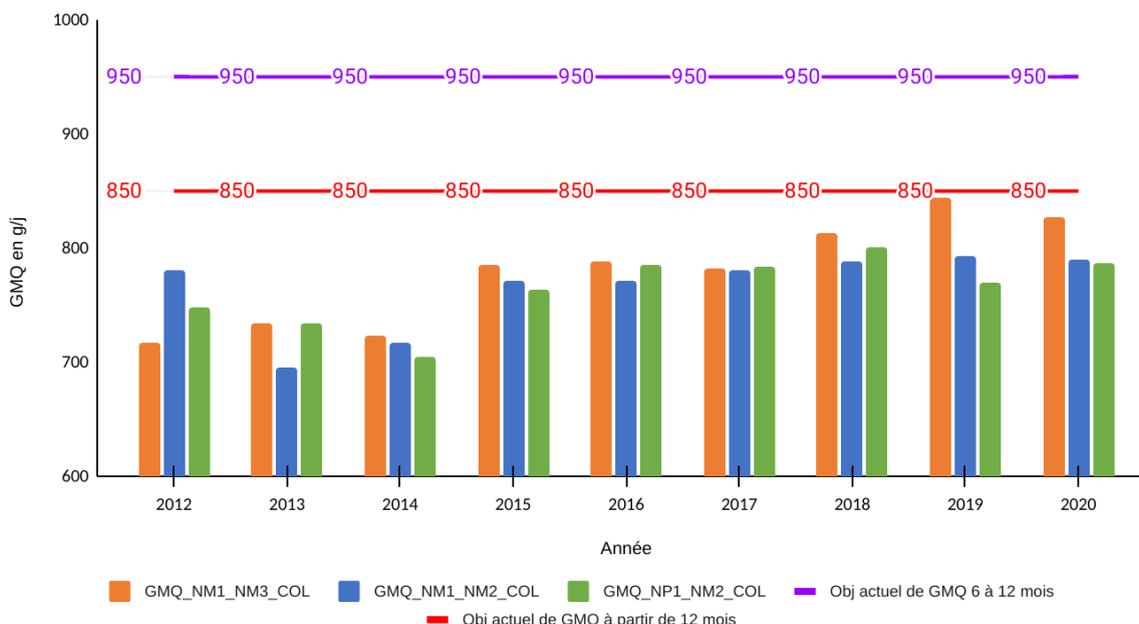
Enfin, l'objectif de poids à 6 mois a rarement été atteint en moyenne en station. Cela peut venir soit du fait que le gain moyen quotidien en station n'était pas assez important, soit du fait que les génisses n'avaient pas assez d'état lorsqu'elles entraient en station et que le problème se situerait plutôt du côté élevage avec des génisses qui ne sont pas assez poussées en croissance avant de rentrer en station. Cette deuxième hypothèse est la plus probable car, même quand les génisses entraient en station à 12 mois, le poids théorique à 6 mois n'était pas atteint.

Ces deux dernières observations posent question: en effet, la race Normande est une race reconnue moins précoce que la race Prim Holstein. La difficulté à atteindre cet objectif de poids à 6 mois pourrait aussi venir du fait que la race est moins précoce et donc, que cet objectif n'est pas adapté aux individus moyens de la race. Il serait intéressant de s'interroger sur le maintien de cet objectif et sur la sélection d'animaux pour une entrée précoce en station. En effet, en maintenant cet

objectif, la sélection des génisses devrait être plus sévère (seulement les animaux suffisamment précoces devraient être sélectionnés), afin d'être plus enclin à atteindre l'objectif de poids à 6 mois fixé par l'entreprise de reproduction, et qui répond à la demande de réduction d'intervalle de génération. Les génisses entrant actuellement à l'âge de 6 mois en station, l'essentiel de la croissance a été géré en élevage avant, par les éleveurs. Cette sélection plus sévère risque, à terme, de générer des animaux plus précoces dans la population. Il faudrait discuter avec le Herd studbook de la race sur cette éventualité.

3.1.1.5. Gain Moyen Quotidien (GMQ) autour de la collecte

Figure 25 : Evolution des GMQ des génisses autour de la collecte en station entre 2012 et 2020.



Les objectifs de poids théorique vus antérieurement s'accompagnent d'objectifs de gain moyen quotidien (GMQ) adaptés, c'est-à-dire, un GMQ plutôt élevé, afin de garantir la précocité nécessaire pour un programme de collecte précoce.

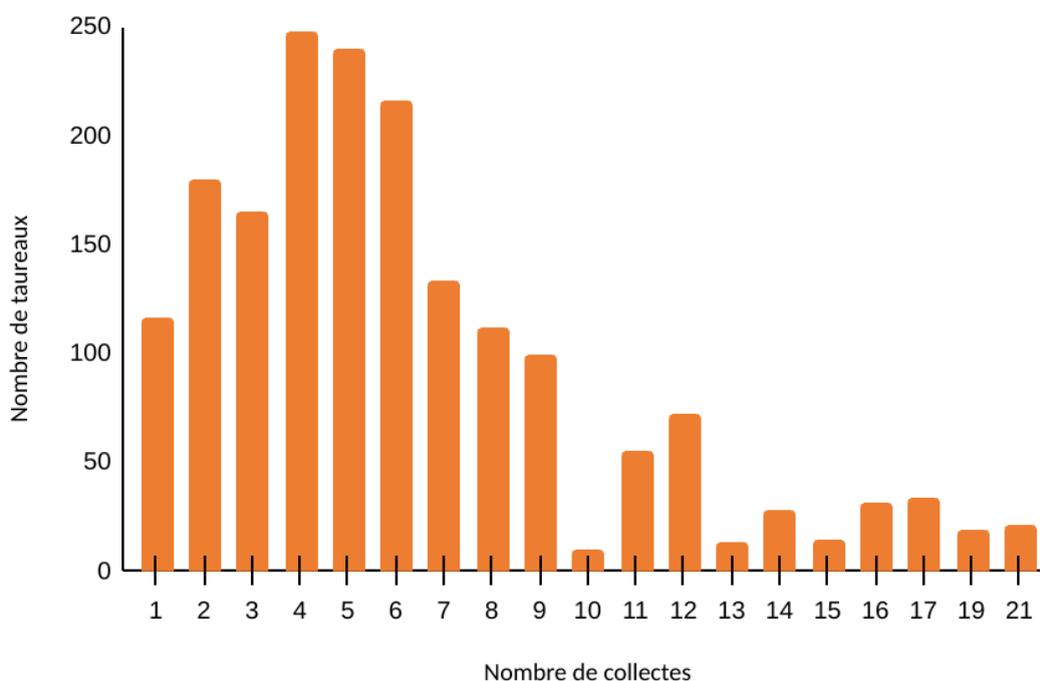
Ainsi, depuis 2015 le GMQ a globalement eu tendance à augmenter. En effet, il est passé d'environ 725 g/j à un GMQ d'environ 875 g/j. Cependant, malgré cette augmentation elle n'est pas suffisante. En effet, les objectifs actuels de GMQ sont à 950 g/j de 6 mois à 1 an et de 850 g/j après 1 an. En effet, pour une collecte d'ovocytes entre 6 et 15 mois, elles auraient dû avoir un GMQ beaucoup plus important. En 2020 le GMQ tendait à s'approcher de l'objectif mais ne l'a pas atteint. Les objectifs de GMQ n'étaient pas les mêmes en 2012, ce qui explique qu'il était historiquement plus faible.

Cet objectif de GMQ doit d'autant plus être élevé que l'âge d'entrée en station et l'âge de 1^{ère} collecte des génisses a diminué fortement depuis 2017 sans que le poids théorique à 6 mois n'est augmenté. Or, on n'observe pas une compensation suffisante en matière de GMQ.

Ainsi, en station, aux alentours de la collecte, le GMQ des génisses n'est pas suffisant par rapport aux objectifs fixés. On peut donc avoir deux cas de figure, soit en effet, les génisses ne gagnent pas assez en poids (alimentation non adaptée ou moindre conversion?), soit les objectifs sont trop élevés. On peut en effet supposer que les objectifs de GMQ sont calqués sur ceux des génisses Prim'Holstein, qui sont plus précoces et ont donc une croissance plus rapide au début.

3.1.1.6. Voie mâle

Figure 26: Evolution du nombre de collectes par taureaux.



On pourrait se demander aussi si la baisse du nombre d'embryons viables n'était pas due à une baisse de qualité de la semence. Cela nous amènerait à étudier la voie mâle. On étudie ici le nombre de collectes par taureau, afin de déterminer la pertinence d'étudier la voie mâle (on peut ici signaler que nous n'avons pas pu remonter les informations de la voie mâle sur chaque collecte).

Plus le nombre de collectes augmente, moins il y a de taureaux. Cela signifie que peu de taureaux ont fait plus de 10 collectes. Aucun taureau n'a fait plus de 21 collectes. La plupart des taureaux (plus de la moitié) ont fait moins de 10 collectes. Afin de réaliser une étude statistique, et d'étudier l'effet d'un caractère venant d'un mâle, il faudrait que les taureaux fassent au moins une vingtaine de collectes chacun, or, dans nos données, c'est rarement le cas. Ainsi, il n'est pas judicieux d'étudier la voie mâle, qui est trop éparse, et qui ne permet pas d'étude statistique. En effet, les effectifs de race en Normandie sont limités, il y a donc trop de taureaux pour la demande, ce qui explique cette répartition.

A RETENIR :

Il y a eu :

- une augmentation du nombre de collectes depuis 2012
- une diminution de l'intervalle de collectes de 8 semaines en 2012 à 6,5 semaines en 2020
- une diminution de l'âge à la première collecte de 16 mois en 2017 à 12 mois en 2020
- une diminution du nombre d'embryons viables de 7,5 à 4 embryons viables avec une diminution importante depuis 2016
- une diminution de l'âge d'entrée en station de 12 mois en 2012 à 5,5 mois en 2020
- une augmentation globale des GMQ de 2015 à 2020

3.1.2. Enjeux en race Normande

On a observé une diminution de la production d'embryons par collecte en race Normande. Elle a été observée depuis 2015 mais s'est accentuée à partir de 2019 (environ 3,5 embryons par collecte, soit réduite de moitié quasiment). Cette diminution est spécifique aux collectes en station en

race Normande. En effet, les mêmes contraintes d'intervalle de collecte et d'âge à la collecte ont été appliquées à la race Prim'Holstein sans avoir cette importante baisse d'embryons viables (données non publiées) .

On peut alors se demander : est-ce dû à une spécificité de la race Normande ? Est-ce que passer à un mode de productivité où il faut produire plus en moins de temps est forcément plus rentable qu'un mode de production moins intensif en race Normande ?

La race Normande est supposée être moins précoce en termes de puberté que la race Holstein, du fait de ses caractéristiques de race mixte, qui présente aussi des qualités de carcasse et qui nécessite un certain développement de la carcasse avant la puberté, les génisses rentrent donc possiblement trop jeunes en station, ce qui pose ensuite des problèmes de qualité d'ovocytes ou de nombre et de viabilité des embryons.

Enfin, on cherche aujourd'hui à répondre à des objectifs de production de plus en plus élevés, avec une collecte des animaux de plus en plus jeunes et dans un intervalle de temps de plus en plus court. Est-ce que ces objectifs ne sont pas trop ambitieux et finalement délétères pour la production d'embryons, du moins en race Normande ? Ces critères de production, appliqués à la race Holstein, donnent pourtant des résultats satisfaisants.

Cet ensemble de constats, bien que non concluants car cette étude est une étude rétrospective et plusieurs changements ont eu lieu simultanément sans un groupe contrôle, nous amène à se poser trois questions:

- 1) les objectifs de précocité fixés pour la race Prim Holstein, sont-ils trop ambitieux pour la race Normande de manière générale ?
- 2) serait-il possible d'obtenir des résultats acceptables pour ces objectifs en race Normande si la station adaptait ses critères de sélection et le régime alimentaire de ces génisses ?
- 3) si la deuxième question l'emporte, les éleveurs de cette race, seraient-ils prêts à modifier leur sélection génétique et leur conduite afin d'obtenir des individus suffisamment précoces pour répondre à ces objectifs ? Ce changement imposerait-il des pertes de qualité (du lait, de la carcasse pour cette race) ?

Suite à cet ensemble d'observations descriptives, nous avons souhaité explorer statistiquement l'impact de chacun de ces paramètres pris séparément (modèle univarié), afin de pouvoir sélectionner un ensemble de paramètres ayant un effet sur la production d'embryons, puis de s'affranchir des biais de confusion qui existent entre les différents paramètres, en réalisant une étude multivariée.

3.2. Étude 2: Modèle statistique univarié

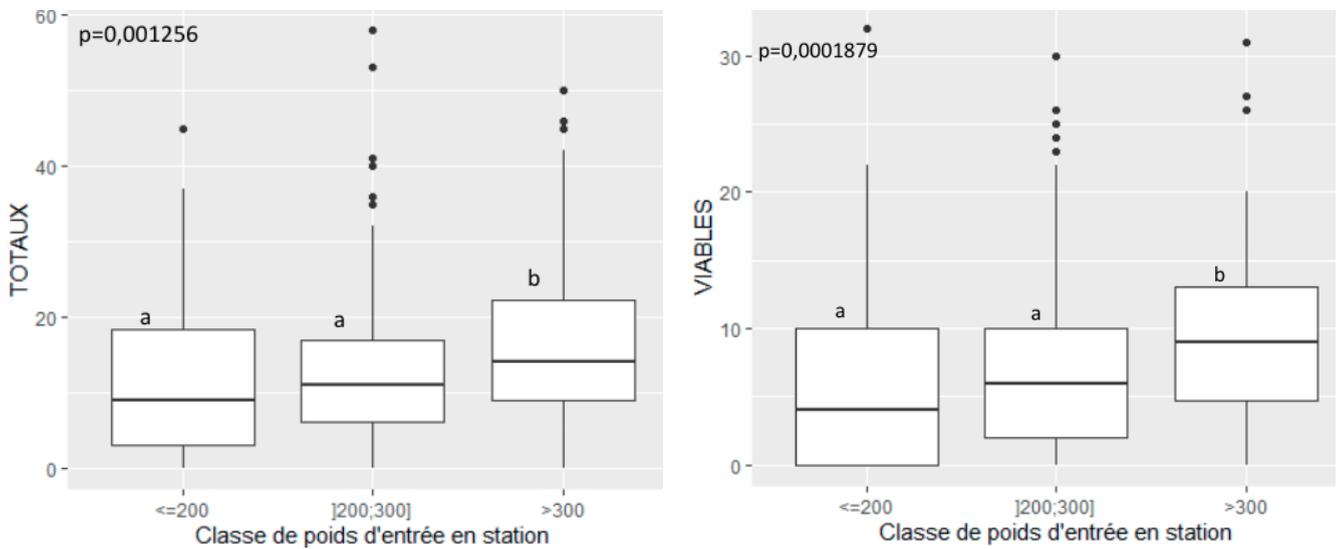
3.2.1. Facteurs intrinsèques

3.2.1.1. Poids

Nous avons pu voir dans la partie bibliographie que le poids influe sur l'âge à la puberté et toute la fonction de reproduction des génisses. On peut donc supposer que le poids peut influencer sur la production d'embryons.

3.2.1.1.1. Poids d'entrée en station

Figure 27: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la classe de poids d'entrée en station (en kg) de la donneuse.

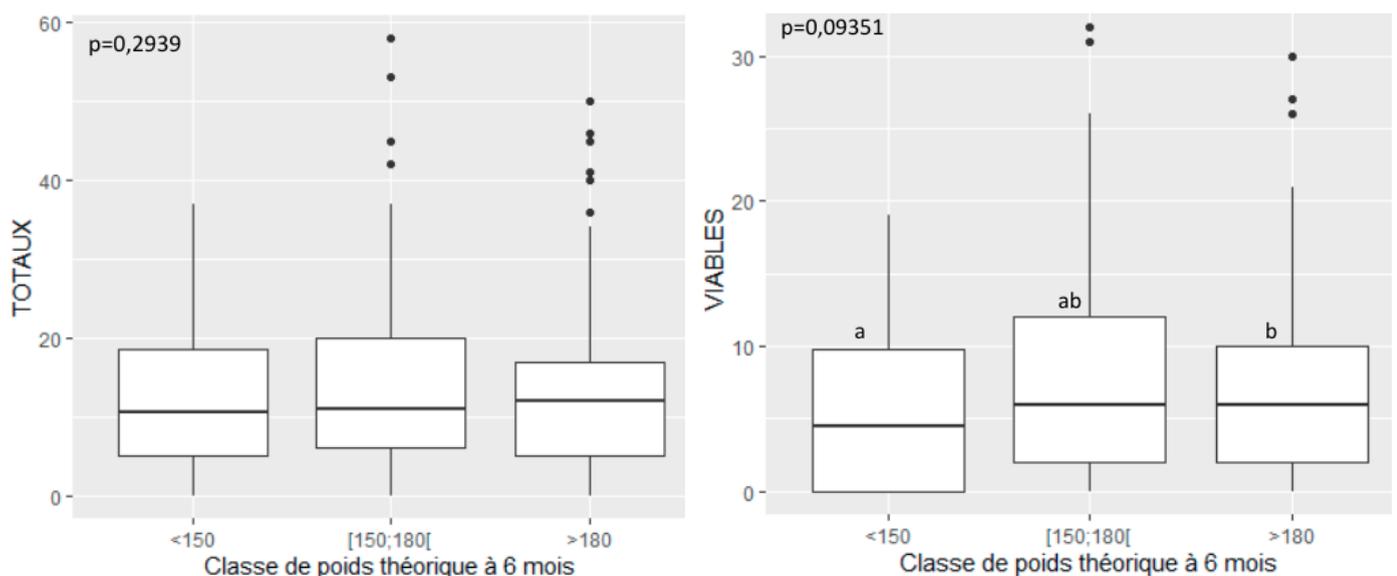


*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

Le poids d'entrée en station a eu un impact significatif sur la production totale d'embryons quel que soit le rang de collecte, mais aussi sur la production d'embryons viables ($p < 0,05$). Les génisses qui pesaient moins de 200 kg à l'entrée en station, produisaient en médiane 10 embryons au total, et environ 5 viables. Tandis que celles qui pesaient plus de 300 kg à leur entrée en station produisaient en médiane 15 embryons par collecte et presque 10 embryons viables. On peut parler d'un effet de seuil, c'est-à-dire que la production était significativement inférieure chez les génisses en-dessous de 300 kg à leur entrée en station.

3.2.1.1.2. Poids théorique à 6 mois

Figure 28: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la classe de poids théorique (en kg) à 6 mois de la donneuse.



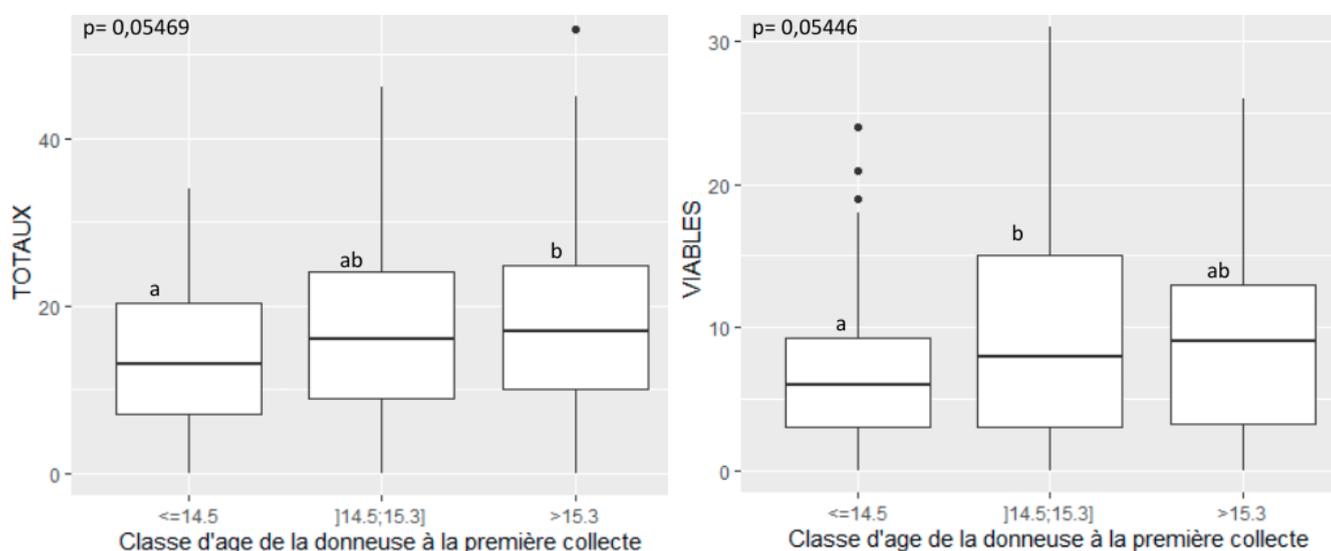
*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

Dans notre étude, le poids théorique à 6 mois n'a pas eu d'effet significatif sur le nombre total d'embryons, ni sur le nombre d'embryons viables par collectes. Cependant, une tendance se dessine sur le nombre d'embryons viables. Le nombre d'embryons viables a eu tendance à être plus faible lorsque le poids théorique à 6 mois était inférieur à 150 kg et supérieur à 180 kg. En effet, si les génisses sont trop petites, cela peut affecter la qualité des embryons, de même si les génisses sont trop grasses. D'après notre étude il serait donc préférable d'avoir des génisses en station qui à 6 mois pèsent entre 150 et 180 kg.

3.2.1.2. Âge de la donneuse à la première collecte

Afin d'étudier l'effet de l'âge de la donneuse sur le nombre total d'embryons collectés et le nombre d'embryons viables, nous avons étudié uniquement les collectes de rang 1. Ce choix a permis de s'affranchir de l'effet du rang de collecte tout en étudiant l'âge le plus précoce auquel une génisse peut être collectée en station.

Figure 29: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la classe d'âge en mois de la donneuse lors de la première collecte.



*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

Le nombre total d'embryons récoltés a eu tendance à augmenter avec l'âge. En effet, lorsque les génisses avaient moins de 14,5 mois, la médiane était à 13 embryons récoltés tandis que lorsqu'elles avaient plus de 15,3 mois, la médiane était à 17 embryons. Il y a donc eu une tendance à récupérer 4 embryons de plus lorsque les génisses étaient collectées un mois plus tard.

Pour les embryons viables, lorsque les génisses avaient moins de 14,5 mois, la médiane était à 6 embryons alors que lorsqu'elles avaient entre 14,5 et 15,3 mois la médiane était à environ 8 embryons. Il n'y a pas eu de différence significative entre la classe d'âge comprise entre 14,5 et 15,3 mois et la classe d'âge de plus de 15,3 mois. Selon les résultats obtenus, la production d'embryons viables en première collecte a été optimale lorsque les génisses avaient plus de 14,5 mois.

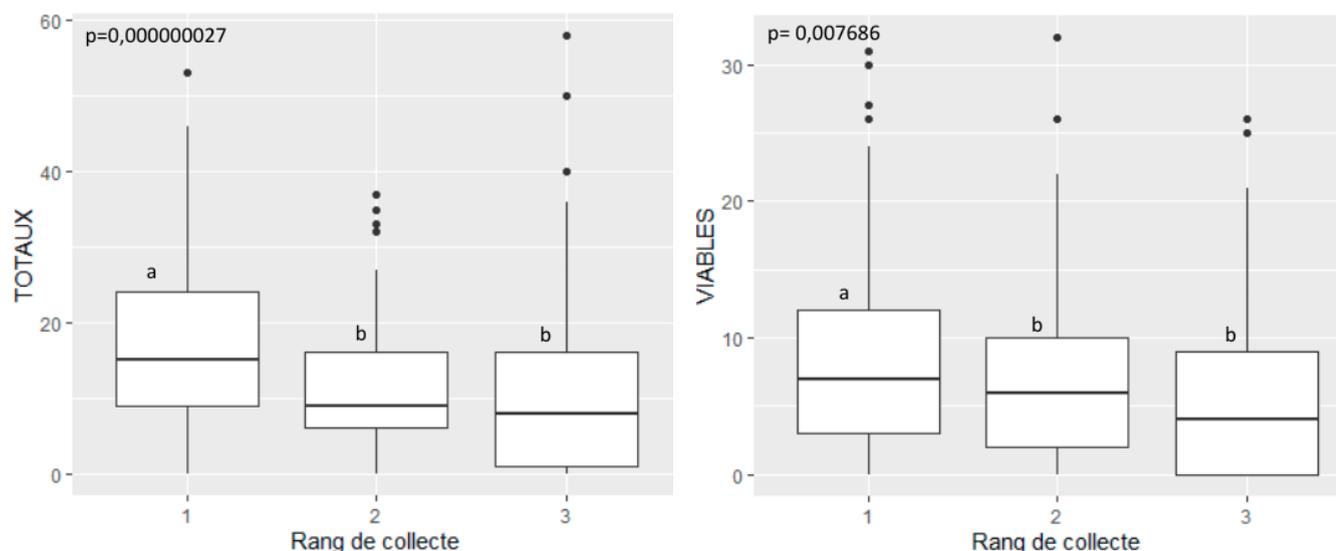
Les génisses d'âge inférieur ou égal à 14,5 mois ont produit moins d'embryons que les génisses les plus âgées (>15,3 mois). De plus, elles ont produit moins d'embryons viables que les génisses à un âge intermédiaire (entre 14,5 et 15,3 mois). Ces résultats suggèrent une tendance à l'augmentation de la quantité d'embryons avec l'âge mais une stagnation de la qualité des embryons récoltés à partir de 14,5 mois. Dans les conditions environnementales auxquelles ces génisses sont soumises pour la préparation à la première collecte, collecter des génisses d'un âge inférieur à 14,5 mois aurait tendance à être moins optimale en quantité et en qualité.

3.2.1.3. Rang de collecte

Étudier le rang de collecte est important car il peut nous renseigner sur l'intérêt de réaliser des collectes répétées mais aussi sur la possibilité de rattraper une mauvaise production en première collecte par de meilleures collectes en 2^{ème} ou 3^{ème} séances.

Dans notre étude nous avons sélectionné seulement les génisses ayant eu 3 collectes ou plus. Nous n'avons pas étudié les collectes de rang 4 car les effectifs étaient insuffisants pour ce rang.

Figure 30: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) récoltés en fonction du rang de collecte.



*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

La première collecte (tous intervalles de collecte confondus) a permis d'obtenir significativement plus d'embryons que la deuxième et la troisième collectes ($p < 0,05$), que ce soit en nombre ou en qualité. La médiane était à 15 embryons récoltés dont 7 viables pour le rang 1, ce qui était significativement différent des rangs 2 (10 embryons totaux et 6 embryons viables) et 3 (9 embryons totaux et 4 embryons viables).

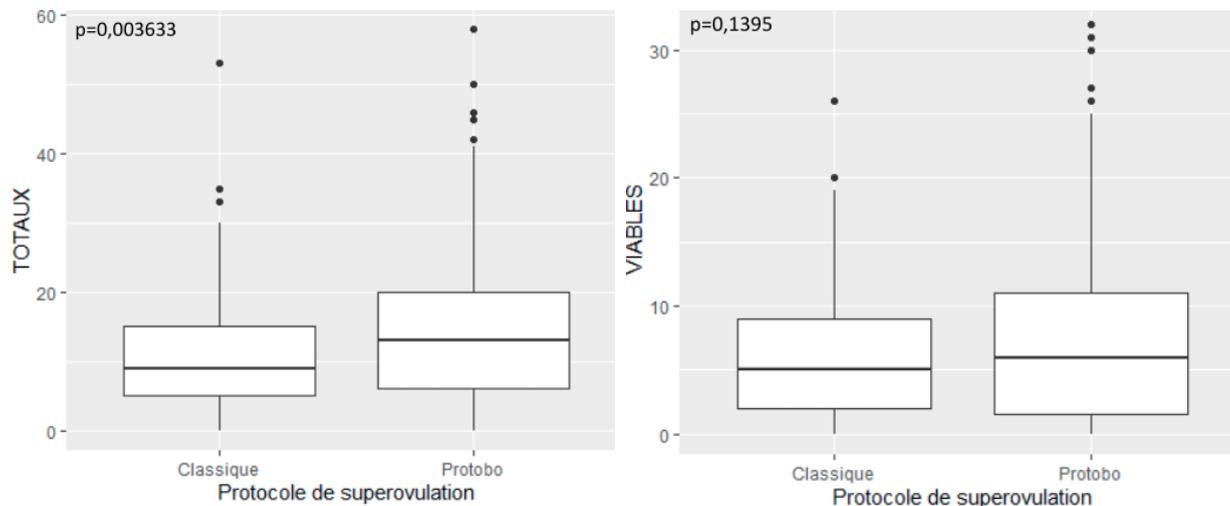
Cette donnée est intéressante puisqu'elle permet de vérifier qu'on obtient, en moyenne, moins d'embryons totaux et viables dans la deuxième et la troisième collecte comparativement à la première.

3.2.2. Facteurs extrinsèques

3.2.2.1. Type de protocole

Les protocoles sont décidés par l'opérateur, selon la génisse et ses précédentes collectes. On peut supposer qu'il y a un certain biais à ce niveau, car la répartition des protocoles selon la génisse n'est pas aléatoire.

Figure 31: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction du protocole de superovulation utilisé.



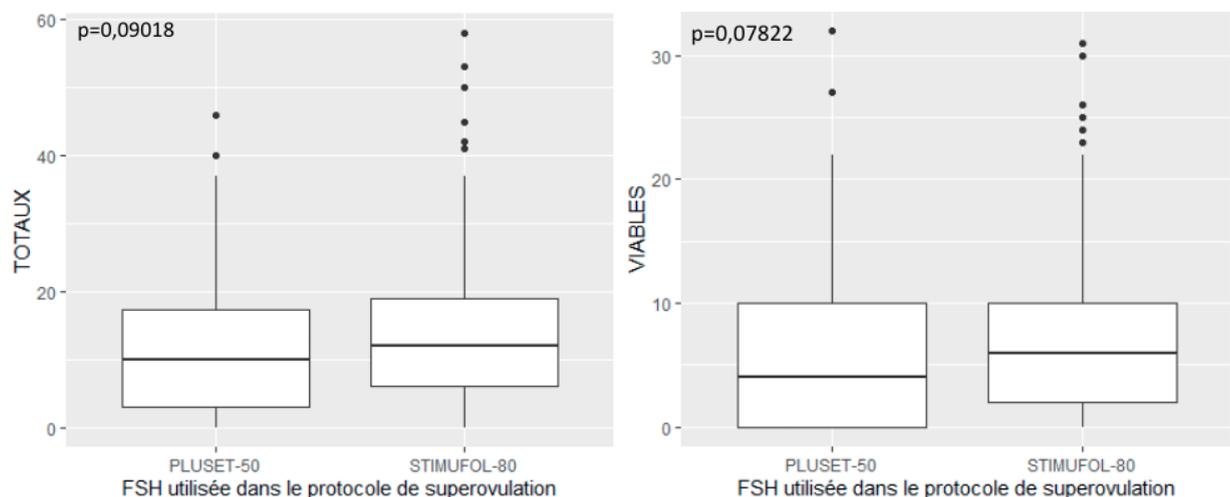
Des résultats significatifs sont obtenus seulement pour le nombre total d'embryons ($p < 0,05$). Sur le nombre d'embryons viables, les protocoles ne présentaient pas de différence significative ($p > 0,05$). Cependant, le protocole protobo a déclenché une production plus importante d'embryons totaux (13 embryons pour le protobo contre 9 pour le protocole classique), sans pour autant qu'il y ait plus d'embryons viables.

La longueur de la barre de la boîte à moustache pour le protocole protobo est plus grande que celle du protocole classique. Cela témoigne des résultats plus variables pour le protocole protobo. En effet, d'après les expériences des opérateurs en station (données non publiées résultant d'une observation empirique), le protocole protobo a tendance à déclencher soit des ovulations multiples très importantes, soit des ovulations nulles. Les résultats sont très hétérogènes, tandis que pour le protocole classique, certes les résultats sont peut-être moins bons (en nombre), mais il assure une réponse constante au traitement de superovulation et, *in fine*, la même quantité d'embryons viables.

3.2.2.2. Dose de FSH utilisée

En station, deux types de FSH sont utilisés dans les protocoles de superovulation, soit le PLUSET à hauteur de 50% de la dose vache, soit le STIMUFOL à hauteur de 80% de la dose vache, cette différence correspond à une différence de conditionnement. En effet, le PLUSET est conditionné en 2 flacons tandis que le STIMUFOL est conditionné en un unique flacon.

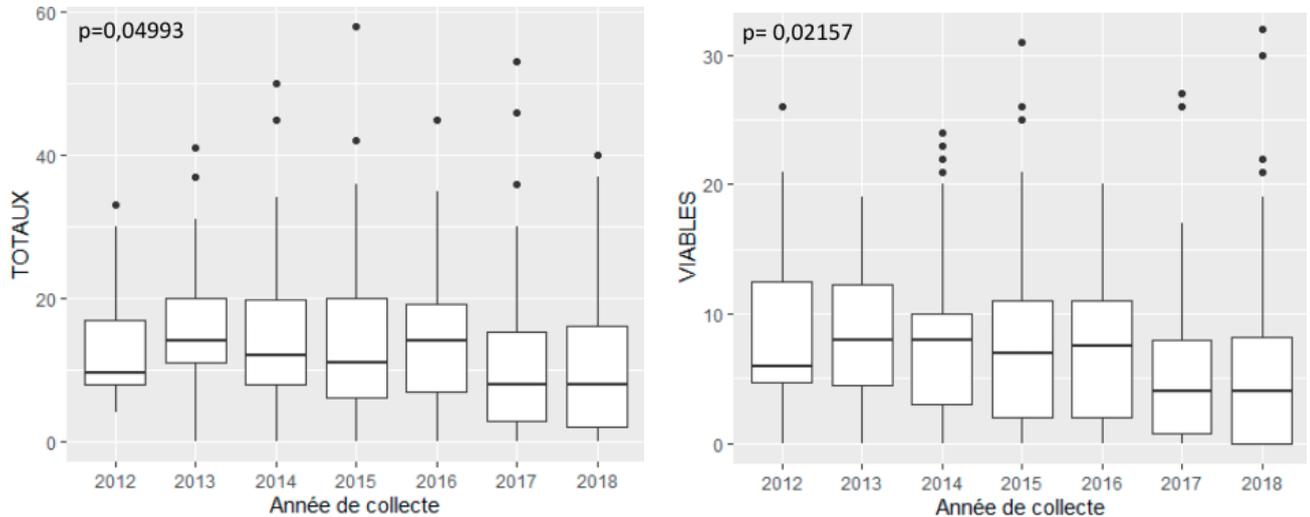
Figure 32 : Nombre d'embryon total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de la dose de FSH utilisée dans le protocole de superovulation.



Les résultats n'ont pas été significatifs, cependant, une tendance s'est dessinée, notamment pour le nombre d'embryons viables. Le STIMUFOL à hauteur de 80% de la dose vache a déclenché une production plus importante d'embryons viables, avec une médiane de 6 embryons viables contre 4 embryons viables pour le PLUSET en dose 50% de la dose vache.

3.2.2.3. Année de collecte

Figure 33 : Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de l'année de collecte.



*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

Le test ANOVA de comparaison globale des moyennes est significatif, cependant, le test de Tukey qui compare les moyennes 2 à 2 n'est pas significatif. En effet, globalement, la production d'embryons varie selon les années, mais les écarts entre années ne sont pas suffisants pour que le test de Tukey soit significatif. De plus, le test de Tukey est moins puissant d'un point de vue statistique que le test ANOVA, ce qui peut aussi expliquer ces résultats.

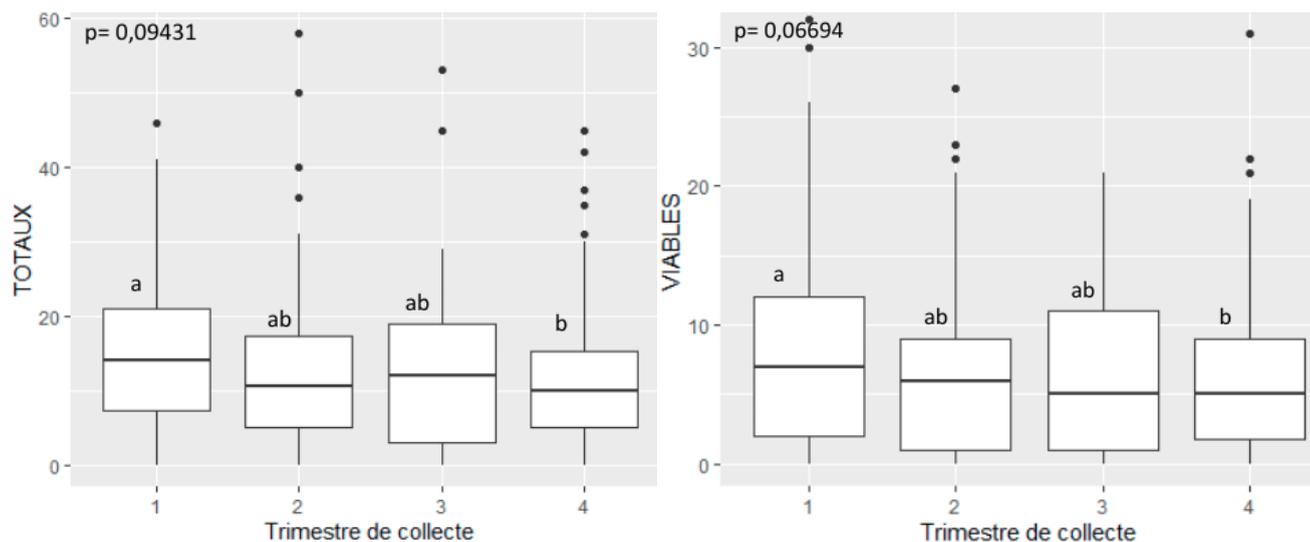
Lorsqu'on étudie la collecte d'embryons selon les années, on peut voir qu'elle a été relativement constante entre 2013 et 2016 à environ 13 embryons totaux et 7 embryons viables, pour ensuite diminuer de 15 à 9 embryons totaux et de 7 à 4 embryons viables. La production a donc globalement diminué à partir de 2016.

On peut donc supposer soit qu'il y a un effet de l'année de collecte, un effet par exemple du climat, ou d'autres facteurs externes, ou bien que l'effet année est en fait dû aux changements de conduite dans la production d'embryons, comme ceux qu'on a pu voir plus tôt (raccourcissement d'intervalle de collecte, OPU avant les collectes *in vivo*, etc...).

3.2.2.4. Trimestre de collecte

En lien avec les effets temps, nous avons voulu voir si on retrouvait une différence entre les différents trimestres de l'année. Cette question est motivée par des aspects liés aux effets de la température sur la production. On peut en effet supposer que lorsque les individus sont soumis à un stress thermique, par des hautes températures comme par des basses températures, la fonction de reproduction pourrait en être affectée.

Figure 34: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction du trimestre de collecte.



*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

Le "p" associé au test ANOVA est seulement associé à une tendance ($0,05 < p < 0,1$) tandis que certains "p" du test de Tukey sont clairement significatifs. On peut expliquer cela par le fait qu'un groupe peut être significativement différent d'un autre, sans que ce paramètre explique à lui seul les variations inter groupes.

Le trimestre 1 correspond aux mois de janvier février mars, le trimestre 2 aux mois d'avril mai juin, le trimestre 3 aux mois de juillet août septembre et le dernier trimestre aux mois d'octobre novembre et décembre.

Le trimestre 1 a donné les meilleurs résultats, en embryons totaux et en embryons viables, avec une médiane à 15 embryons totaux et 7 embryons viables. La production la plus faible a été observée en trimestre 4 (octobre, novembre, décembre) avec une médiane à 10 embryons totaux et 5 embryons viables, soit 5 embryons totaux et 2 embryons viables en moyenne en moins par collecte par rapport au trimestre 1.

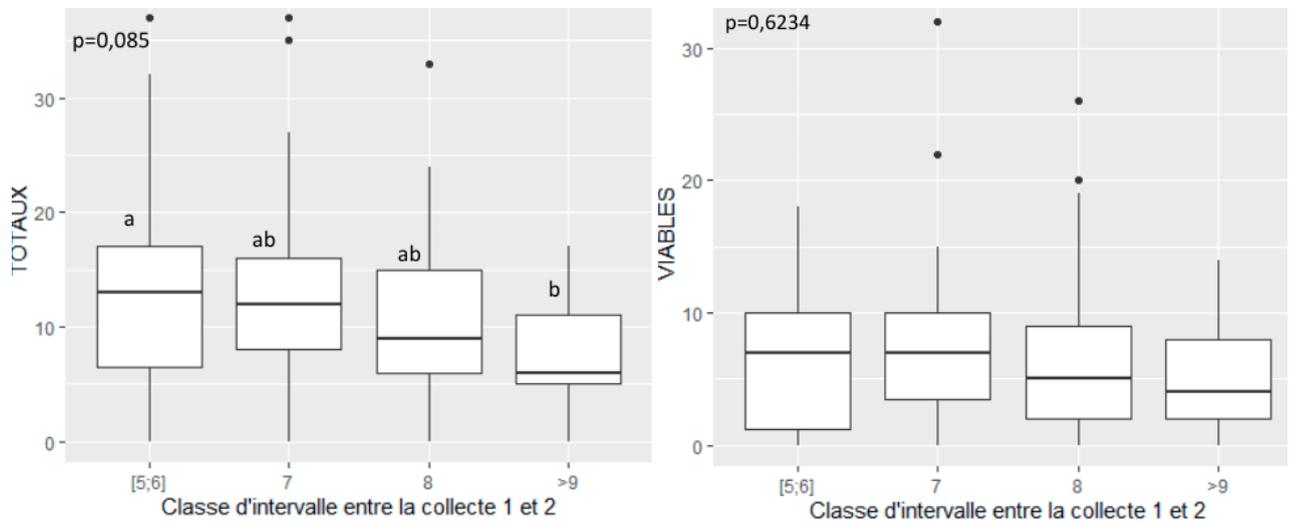
On pourrait aussi conseiller, étant donné les résultats, de concentrer un maximum des collectes de janvier à septembre, afin d'optimiser la production et d'optimiser les coûts de production.

3.2.2.5. Intervalle de collecte

Nous avons pu observer dans la partie 3.2.1.3. que la production d'embryons est impactée par le rang de collecte. Afin de s'affranchir de l'effet du rang, et d'étudier seulement l'effet de l'intervalle de collecte, il faut étudier l'effet de l'intervalle de collecte entre deux collectes du même rang. On a séparé donc l'étude de l'intervalle de collecte entre le rang 1 et 2 et l'intervalle de collecte entre le rang 2 et 3.

3.2.2.5.1. Intervalle entre les collectes 1 et 2

Figure 35: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) produits en fonction de la classe d'intervalle de collecte en semaines entre les collectes de rang 1 et 2



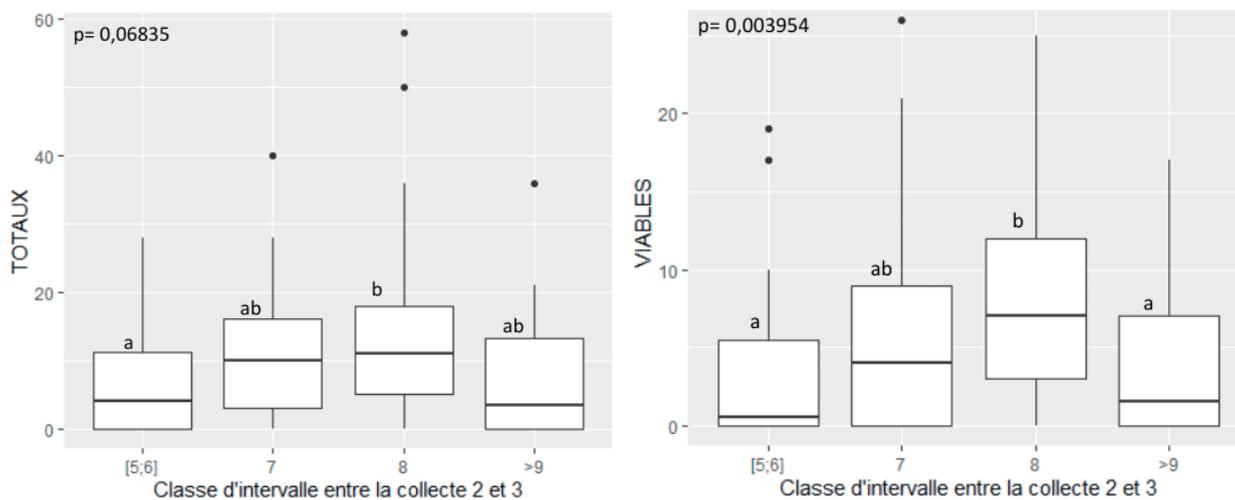
*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

On peut observer une tendance à une diminution du nombre d'embryons récoltés avec l'augmentation de l'intervalle entre collectes. Cette différence n'était significative que pour la comparaison entre un intervalle inférieur à 5-6 semaines et un intervalle supérieur à 9 semaines. Aucun effet significatif n'a été observé sur le nombre d'embryons viables obtenus. En effet, pour le nombre d'embryons totaux, on est passé d'environ 13 embryons lorsque l'intervalle de collecte était de 5 ou 6 semaines, à 9 embryons lorsque l'intervalle de collecte était de 8 semaines et à 6 embryons lorsque l'intervalle de collectes était supérieur à 9 semaines, soit une réduction de moitié du nombre moyen d'embryons entre l'intervalle de 5-6 semaines et l'intervalle de 9 semaines.

Ainsi, pour avoir un maximum de productivité, mais aussi dans un minimum de temps, pour répondre aux objectifs de production, il faut rester idéalement sur un intervalle de 5 ou 6 semaines entre les collectes de rang 1 et de rang 2.

3.2.2.5.2. Intervalle entre les collectes 2 et 3

Figure 36: Nombre d'embryons total (gauche) et viables (droite) collectés en fonction de l'intervalle de collecte entre les collectes de rang 2 et 3.



*Des lettres différentes signifient un écart significatif avec le test de Tukey : $p < 0,05$.

Sur l'intervalle entre les collectes de rang 2 et 3 on observe la tendance inverse, en effet, une différence significative a été observée sur le nombre d'embryons viables obtenus ($p < 0,05$) et seulement une tendance a été observée sur le nombre d'embryons total ($p = 0,068$). De plus, pour les intervalles compris entre 5 et 8 semaines, la production d'embryons avait tendance à augmenter. Pour les embryons viables, on a obtenu une différence significative entre un intervalle à 5-6 semaines et un intervalle à 8 semaines, avec environ 6 embryons viables produits en plus par collecte lorsqu'on passait à 8 semaines d'intervalle. Puis lorsque l'intervalle passait à plus de 9 semaines, la production a chuté de 5 embryons viables environ par collecte. Cependant, comme dans l'analyse précédente, les génisses collectées à un intervalle supérieur à 9 semaines, sont, en général, celles ayant présenté un problème de santé. Celui-ci aurait pu impacter la qualité des ovocytes et/ou des embryons.

A RETENIR :

- Les génisses de moins de 14,5 mois pour leur 1ère collecte produisent moins d'embryons que celles de plus de 14,5 mois.
- La production d'embryons en rang 1 est plus importante qu'en rang 2 et 3.
- Les génisses qui arrivent en station avec un poids supérieur à 300 kg produisent plus d'embryons sur 3 collectes que celles qui arrivent avec un poids plus faible.
- Les deux protocoles utilisés sont équivalents pour la production d'embryons viables, malgré un nombre total plus élevé avec le "protobo".
- Le STIMUFOL utilisé à hauteur de 80% de la dose vache aurait déclenché une production plus importante d'embryons viables que le PLUSET utilisé à hauteur de 50% de la dose vache.
- La production d'embryons en trimestre 1 (janvier, février, mars) est plus importante qu'en trimestre 4 (octobre, novembre, décembre).
- Pour une production d'embryons optimale, il faut 5-6 semaines entre les collectes de rang 1 et 2 et 8 semaines entre les collectes de rang 2 et 3.

3.3. Étude 3 : Modèle statistique multivarié

Nous avons utilisé le script en choisissant des facteurs parmi ceux précédemment étudiés dans l'étude univariée. Les intervalles de collecte n'ont pas été intégrés dans les modèles, car chaque collecte possédait soit un intervalle entre la collecte de rang 1 et 2, soit un intervalle entre les collectes de rang 2 et 3, il aurait donc fallu faire l'étude, en fonction du paramètre choisi, soit sur les collectes de rang 2, soit sur les collectes de rang 3. Nous avons inclus uniquement un paramètre de poids, qui est la classe de poids d'entrée en station, car les génisses sont systématiquement pesées à leur entrée en station, ce qui n'est pas toujours le cas à leurs 6 mois, il s'agit en effet d'un poids calculé. Nous avons calculé l'AIC du modèle en prenant comme variable réponse le nombre d'embryons viables, qui était le paramètre qui nous intéressait le plus, et qui était le plus important dans la production. Les résultats suivants ont été obtenus (tous les modèles existants n'ont pas été testés. Pour des raisons de cohérence, on a essayé de garder à chaque fois au moins un facteur 'temporel' : le trimestre, l'année ou le rang, et un facteur impliquant le protocole de superovulation : superfamille de protocole ou FSH utilisée).

Tableau 6 : Présentation d'une partie des modèles multivariés testés et AIC associé.

	COL_RG	COL_TRIM	COL_ANNEE	Superfamille	COL_FSH	POIDS_ENTREE_CL	AIC
Modèle 1	+	+	+	+	+	+	1698,4
Modèle 2	+	+	-	+	+	+	1694,8
Modèle 3	+	+	+	+	-	-	1701,2
Modèle 4	+	+	-	+	+	-	1689,5
Modèle 5	-	+	+	+	+	+	1705,7

Selon les critères précédents, le modèle le plus approprié est celui comprenant :

- le rang de collecte
- le trimestre de collecte
- la famille de protocole utilisé
- le type de FSH utilisée

Il s'agit du modèle le plus vraisemblant, tout en étant le plus économe en facteurs explicatifs. Cela signifie que tous les autres facteurs étudiés sont finalement corrélés à ces 4 critères et que dans notre modèle, ces 4 facteurs à eux seuls expliquent les variations de nombre d'embryons obtenus en collecte. Les autres paramètres qui avaient des résultats significatifs sont en fait une combinaison de ces 4 facteurs. On réalise de nouveau l'étude, en ajustant le modèle sur les facteurs du modèle multivarié.

3.3.1. Rang de collecte

- Effet sur le nombre total d'embryons :

Tableau 7 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du rang.

Contrast	Estimate	p-value
1-2	4,43	0,0007
1-3	6,01	<0,0001
2-3	1,58	0,3619

La valeur 'p' du modèle est de $p=0,000000267$.

On obtient les mêmes résultats que pour le modèle univarié, avec des résultats un peu moins contrastés. On obtient en moyenne plus d'embryons totaux en collecte de rang 1 avec en moyenne 4,5 embryons en plus que pour les collectes de rang 2 et 6 embryons en plus en collecte de rang 1 que pour les collectes de rang 3. On n'obtient pas de différences significatives pour les collectes de rang 2 et 3.

- Effet sur le nombre d'embryons viables :

Tableau 8: Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du rang.

Contrast	Estimate	p-value
1-2	1,186	0,2733
1-3	2,095	0,0093
2-3	0,909	0,4440

La valeur 'p' du modèle est de $p=0,013307$.

Une différence significative a été observée sur le nombre d'embryons viables obtenus sur des collectes de rang 1 comparées aux collectes de rang 3 avec en moyenne 2 embryons viables en plus pour les collectes de rang 1. Nous n'avons pas observé de différence significative entre les collectes de rang 1 et 2 alors qu'on observait une tendance dans le modèle univarié . On peut ici soulever l'importance de réaliser un modèle multivarié afin de s'affranchir des biais de confusion.

3.3.2. Trimestre de collecte

On rappelle ici que le trimestre 1 correspond aux mois de janvier, février, mars; le trimestre 2 aux mois d'avril, mai, juin ; le trimestre 3 aux mois de juillet, août, septembre et le trimestre 4 aux mois de octobre, novembre et décembre.

- Effet sur le nombre total d'embryons

Tableau 9: Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du trimestre de collecte.

Contrast	Estimate	p-value
1-2	1,750	0,5009
1-3	3,046	0,0795
1-4	2,930	0,0823
2-3	1,296	0,7557
2-4	1,180	0,7862
3-4	-0,116	0,9997

La valeur 'p' du modèle est de $p=0,0520082$.

Le nombre total d'embryons par collecte n'a pas été significativement différent entre les trimestres. Seulement une tendance a été observée entre le trimestre 1 et le trimestre 3 (on obtient en moyenne 3 embryons de plus en trimestre 1 qu'en trimestre 3 ($p \leq 0,1$)). De même, lorsqu'on compare le trimestre 1 au trimestre 4 on obtient aussi en moyenne 3 embryons en plus en trimestre 1 qu'en trimestre 4 ($p \leq 0,1$)).

Ainsi, on a tendance à obtenir plus d'embryons lorsque les collectes sont réalisées dans la période janvier-février-mars.

- Effet sur le nombre d'embryons viables

Tableau 10 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du trimestre de collecte.

Contrast	Estimate	p-value
1-2	0,915	0,6698
1-3	1,394	0,3258
1-4	2,186	0,0313
2-3	0,480	0,9418
2-4	1,271	0,4031
3-4	0,791	0,7776

La valeur 'p' du modèle est de $p=0,048932$.

Lorsqu'on compare le trimestre 1 et le trimestre 4 on obtient environ 2 embryons viables en plus par collecte lorsqu'on collecte en trimestre 1 que quand on collecte en trimestre 4.

Ainsi, les résultats sont significativement meilleurs en trimestre 1 en matière d'embryons viables ($p < 0,05$).

3.3.3. Protocole de collecte

3.3.3.1. Famille de protocole

- Effet sur le nombre total d'embryons

Tableau 11 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du type de protocole de superovulation utilisé.

Contrast	Estimate	p-value
Classique-protobo	-3,31	0,0038

On obtient en moyenne 3 embryons de plus sur la collecte totale lorsqu'on utilise le protocole protobo que lorsqu'on utilise le protocole classique. Cela représente un vrai gain qui est important à considérer pour la rentabilité du système.

- Effet sur le nombre d'embryons viables

Tableau 12 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du type de protocole de superovulation utilisé.

Contrast	Estimate	p-value
Classique-protobo	-1,49	0,0434

On obtient aussi plus d'embryons viables lorsqu'on utilise le protocole protobo, avec en moyenne 1,5 embryons viables en plus qu'avec le protocole classique.

Avec le protocole protobo, on obtient donc plus d'embryons de manière générale, mais aussi plus d'embryons viables. Si les coûts de protocole sont les mêmes, le protocole protobo représente un véritable avantage économique, puisqu'avec 3 collectes en moyenne par donneuse, cela représente en moyenne 4 embryons viables en plus.

3.3.3.2. Dose de FSH utilisée

- Effet sur le nombre total d'embryons

Tableau 13 : Comparaison des moyennes d'embryons totaux par collecte en fonction du type de FSH utilisé.

Contrast	Estimate	p-value
PLUSET50-STIMUFOL80	-3,79	0,0004

On obtient en moyenne 4 embryons en moins sur la collecte totale lorsqu'on utilise le PLUSET à 50% de la dose recommandée que lorsqu'on utilise le STIMUFOL à 80% de la dose recommandée. Cela représente une différence considérable qui semble logique, en effet, lors de l'utilisation du PLUSET, seulement 50% de la dose vache est utilisée, alors que pour le STIMUFOL, on utilise 80% de la dose.

Ces résultats suggèrent qu'afin d'optimiser la production du nombre total d'embryons, il faudrait utiliser uniquement le STIMUFOL en dose 80% de la dose recommandée pour les vaches.

- Effet sur le nombre d'embryons viables

Tableau 14 : Comparaison des moyennes d'embryons viables par collecte en fonction du type de FSH utilisé.

Contrast	Estimate	p-value
PLUSET50-STIMUFOL80	-1,94	0,0044

On retrouve des résultats similaires pour le nombre d'embryons viables. On a environ 2 embryons viables de plus par collecte si on utilise du STIMUFOL en dose 80% que du PLUSET en dose 50%.

La FSH utilisée, et probablement plus particulièrement la dose de FSH utilisée a donc un effet non seulement sur le nombre total d'embryons, mais aussi sur leur viabilité, ce qui représente aussi un avantage économique.

A RETENIR

- Le modèle multivarié retient 4 critères : le rang de collecte, le trimestre de collecte, le protocole de superovulation utilisé et la FSH utilisée
 - Le trimestre 1 est meilleur en termes d'embryons viables que le trimestre 4
- Le protocole protobo est plus efficace que le protocole classique en nombre d'embryons total et en nombre d'embryons viables
- On obtient de meilleurs résultats en utilisant le STIMUFOL à hauteur de 80% de la dose vache

Afin de poursuivre les pistes d'amélioration de la production d'embryons en race Normande en station de donneuse, nous allons nous focaliser sur un aspect plus économique de la production d'embryons en station, appliqué aux résultats obtenus.

3.4. Étude 4 : étude économique

Nous sommes ici dans un contexte de production. Le but est d'optimiser la production tout en réduisant les coûts de production. A ces fins, il existe plusieurs leviers d'action, comme les protocoles de superovulation, le temps passé en station, les schémas de production.

On se posera donc la question suivante : comment réduire les coûts de production, tout en optimisant la production, ou du moins, en conservant un niveau de production acceptable?

3.4.1. Protocoles de superovulation

Deux familles de protocoles de superovulation sont utilisées dans la station de reproduction étudiée. Le coût des protocoles dépend du nombre d'injections, mais aussi des spécialités utilisées.

Tableau 15: Nom des spécialités médicamenteuses utilisées dans les protocoles de superovulation.

Nom de la molécule utilisée	Nom de la spécialité correspondante
GnRH	RECEPTAL ND
Prostaglandine	ESTRUMATE ND
Progestérone	PRID ND
FSH	STIMUFOL ND ou PLUSET ND

Nous avons dans un premier temps calculé les coûts des deux protocoles (protobo et classique). On ne prend pas en compte le prix de l'injection en elle-même, cependant, on peut noter que les protocoles ne comportant pas les mêmes nombres d'injection, il peut être engendré un coût

supplémentaire, de l'ordre de quelques dizaines de centimes par injection, pour le protocole comportant le plus d'injections.

Le protocole protobo est composé de:

- 3 injections de prostaglandine
- une mise sous progestérone (pose de PRID)
- 2 injections de GnRH
- 10 doses de FSH à dose décroissante

La FSH utilisée peut être de 2 types : soit un flacon entier de STIMUFOL, soit un demi flacon de PLUSET (un flacon est utilisé pour 2 génisses).

Le flacon d'ESTRUMATE (prostaglandine) ne pouvant pas être ponctionné plus de 4 fois, on considère qu'un flacon entier est utilisé par protocole.

Coût du protocole protobo en utilisant du STIMUFOL :

- + 1 ESTRUMATE : 6,60€
 - + 1 PRID : 14,47€
 - + 1 STIMUFOL : 89,49
 - + 1 RECEPTAL : 9,54 €
- = 120,10 €

Coût du protocole protobo en utilisant du PLUSET :

- + 1 ESTRUMATE : 6,60€
 - + 1 PRID : 14,47€
 - + ½ PLUSET : 84,56€
 - + 1 RECEPTAL : 9,54 €
- = 115,17 €

Le protocole classique est composé de :

- Une injection de GnRH
- 2 mises sous progestérone
- 2 injections de prostaglandine, ici on a seulement deux injections de prostaglandine, donc on considère qu'un flacon peut être utilisé pour deux protocoles, on utilise un demi flacon.
- 8 injections de FSh à doses décroissantes

De même que pour le protocole précédent, on a 2 types de FSH que l'on peut utiliser dans les protocoles : soit un flacon entier de STIMUFOL, soit un demi flacon de PLUSET.

Le protocole classique se base sur l'observation de chaleurs de référence, il faut donc aussi considérer que les génisses restent plus longtemps en station, le temps d'observer ces chaleurs de référence, ce qui représente un coût aussi, cependant, le temps est variable, et difficile à quantifier, du fait de la variabilité inter individus. De plus, l'observation de ces chaleurs représente un coût aussi, qui ne sera ici pas pris en compte car les génisses sont équipées de colliers détecteurs de chaleurs, et on peut considérer que leur prix à l'achat est largement amorti.

Coût du protocole classique en utilisant du STIMUFOL:

- + 1 RECEPTAL : 9,54 €
 - + ½ ESTRUMATE : 3,30 €
 - + 1 STIMUFOL : 89,49 €
 - + 2 PRID : 28,94 €
- = 131,27€

Coût du protocole classique en utilisant du PLUSET:

- + 1 RECEPTAL : 9,54 €
 - + ½ ESTRUMATE : 3,30 €
 - + ½ PLUSET: 84,56 €
 - + 2 PRID : 28,94 €
- = 126,34 €

On calcule le prix moyen par embryon (Tableau 16), en partant du fait qu'on utilise le même protocole (parmi les 4 étudiés) pour les 3 collectes.

Tableau 16 : Prix moyen par embryon viable engendré par le protocole de superovulation.

	Nombre de collectes par combinaison	Nombre moyen d'embryons obtenus pour les 3 collectes	Coût du protocole / collecte (€)	Prix moyen du protocole par embryon (€)
Protobo + STIMUFOL	177	24,4	120,10	14,8
Protobo + PLUSET	142	18,3	115,17	18,9
Classique + STIMUFOL	142	18,7	131,27	21,1
Classique + PLUSET	6	24	126,34	15,8

On peut donc conclure que le protocole protobo utilisé avec du stimufol est le protocole le moins coûteux. En moyenne, le protocole protobo coûte moins cher (16,85 € par embryon viable) que le protocole classique (18,45 € par embryon viable). Dans la partie statistique, nous avons de plus conclu que le protocole protobo est meilleur en termes de nombre d'embryons viables obtenus, qui est le réel paramètre qui nous intéresse dans la production d'embryons. Le protocole protobo permet donc l'obtention de plus d'embryons viables tout en étant moins cher que le protocole classique, il permet donc une plus grande rentabilité que le protocole classique. Les résultats obtenus en utilisant le protocole classique avec du PLUSET sont à modérer en raison du faible effectif (seulement 6 collectes utilisant cette combinaison, contre 142 à 177 collectes pour les autres combinaisons).

Nous avons pu voir dans la partie statistique que les résultats en termes d'embryons viables sont meilleurs en utilisant la FSH sous forme de STIMUFOL à hauteur de 80 % de la dose vache. Cependant, on a une différence de 4,93€ entre les deux produits (prix centrale). On peut donc se demander si cette différence de prix est compensée par le prix des embryons? On obtient en moyenne 1,5 embryons en plus en utilisant le STIMUFOL en dose 80 qu'en utilisant le PLUSET en dose 50. Un embryon de race Normande étant vendu entre 300 et 400€ en moyenne, cela représente un bénéfice entre 450 et 600€. Il paraît donc bien plus rentable d'utiliser le STIMUFOL à hauteur de 80% de la dose vache que le PLUSET à 50% de la dose vache.

3.4.2. Schémas de collecte

Nous avons pu mettre en évidence dans la partie statistiques que les collectes de rang 3 étaient significativement moins bonnes que les collectes de rang 1 et 2, nous nous sommes donc posé la question de la rentabilité de cette collecte, en effet, si cette collecte n'améliore pas clairement la collecte globale d'embryons par génisse, est-il utile d'un point de vue économique de la réaliser?

Les objectifs de production en race Normande en station de donneuse est de 18-20 embryons par génisse, répartis en 3 collectes.

Dans la partie statistiques, nous avons obtenu les résultats suivants (avec le protocole protobo et le protocole classique confondus) (Tableau 17).

Tableau 17 : Nombre médian d'embryons viables obtenus selon le rang dans le contexte de notre étude.

Rang	Nombre médian d'embryons viables
1	7
2	5,5
3	3,5

Si on retire la collecte de rang 3, on perd en moyenne la valeur de 3,5 embryons. Cependant, on diminue la période improductive de la génisse d'au moins 5 semaines, on retire 5 semaines de coûts d'entretien de la génisse en station, et le coût d'un protocole. Il faut donc étudier et comparer les prix des 3,5 embryons comparé au prix de 5 semaines de production en plus.

En ce qui concerne les frais engendrés par une collecte d'embryons ainsi que les frais d'élevage, ils sont difficiles à évaluer réellement en station, on se basera donc sur la grille tarifaire fournie par l'entreprise de génétique pour les collectes réalisées en ferme (Annexe 4). On adapte les tarifs à la collecte en ferme, c'est-à-dire qu'on considère ici que les frais sont les mêmes pour une collecte si on collecte 1 embryon ou 20 embryons.

On réalise la comparaison en simplifiant au maximum : on considère que tous les embryons obtenus sont viables et congelables.

Pour la collecte de rang 3 : on a une médiane à 3,5 embryons qu'on peut vendre entre 1050 et 1400€ si on les vend tous (prix unitaire entre 300 et 400€). A cela il faut déduire les frais engagés pour la réalisation de cette 3ème collecte:

- le prix du protocole de superovulation → environ 123€
 - les frais de collecte (frais d'ouverture de chantier + la collecte) →210€
 - les frais d'élevage pendant 5 semaines →estimés à 2€ par jour →70€ en tout
- = 403€

Lors de l'obtention des embryons, il existe plusieurs solutions pour l'éleveur, qui ont différents coûts.

- Pose des embryons gratuite dans l'élevage d'où provient la donneuse
- Pose des embryons sur des receveuses provenant d'un autre élevage
- Pose des embryons sur des receveuses d'un autre élevage, avec récupération des femelles obtenues lorsqu'elles sont nées
- Vente directe des embryons à l'entreprise de reproduction entre 200 et 250€

Afin de pouvoir comparer et de pouvoir évaluer un réel bénéfice économique, on va considérer que l'entreprise de génétique rachète les embryons à l'éleveur. En effet, les bénéfices associés à la récupération de génisses nées d'embryons sont difficilement évaluables et ne constituent pas des bénéfices seulement d'ordre financier.

Nous avons pu voir que les frais engendrés pour la collecte des 3,5 embryons sont de 403€, auxquels il faut rajouter les frais de rachat des embryons à l'éleveur (entre 200€ par embryon non sexé), soit 700€, ce qui revient à un coût total de 1103€ pour produire ces 3,5 embryons supplémentaires, soit, un coût de 315€ par embryon de 3ème collecte. Or d'après les données de l'entreprise de reproduction, un embryon de race Normande se vend entre 300 et 400€ (Annexe 5). Lorsqu'on a 3,5 embryons par collecte, la vente de ses embryons générerait entre 1050 et 1400€. Les frais engendrés par la collecte de rang 3 ne sont donc pas toujours couverts par la vente des embryons. On se pose donc la question de la rentabilité de cette collecte.

On a ici considéré que les frais de collecte sont fixes, qu'importe le nombre d'embryons collectés. Si on collecte plus d'embryons, les frais de collecte par embryon diminuent. Ce sont les frais

de rachat des embryons à l'éleveur qui augmentent si le nombre d'embryons augmente. On peut donc se demander à partir de combien d'embryons la collecte de rang 3 est rentable pour l'entreprise dans le cas où l'entreprise rachète tous les embryons de l'éleveur pour les revendre par la suite ?

En posant l'équation :

$$\text{Frais coll.} + \text{Frais rachat} \times \text{Nbre d'embr.} + \text{Nbre d'embr.} \times \text{Frais congél. conserv.} \geq \text{Prix vente} \times \text{Nbre d'embr.}$$

Avec les frais de collectes à 403€, les frais de rachat à 200€, les frais de congélation et conservation à 25€ et le prix de vente à 300€.

On trouve que le nombre d'embryons doit être supérieur ou égal à 5,4 (soit 6 embryons) pour que la 3ème collecte soit rentable pour l'entreprise de reproduction, dans le cas où l'éleveur n'a pas de receveuses au moment de la collecte, et où on ne les pose pas sur des receveuses d'un autre élevage, et où les embryons sont revendus 300€. S'ils sont revendus à 400€ la collecte est rentable à partir de 3 embryons et donc rentable dans les conditions actuelles de production.

Ainsi, dans les conditions actuelles de production, la collecte de rang 3 n'est rentable pour l'entreprise de reproduction que si le nombre d'embryons viables obtenus est supérieur à 5 embryons. Ainsi, la collecte de rang 3 n'est rentable que:

- Si la donneuse est connue pour être une bonne donneuse d'embryons (on peut dans ce cas s'attendre à ce qu'elle produise plus de 5 embryons), quel que soit le prix de vente de l'embryon,
- Si la donneuse a un très bon niveau génétique et que les embryons valent 400€, dans ce cas la collecte est rentable à partir de 3 embryons obtenus, et attendre d'une génisse qu'elle produise au moins 3 embryons paraît un risque acceptable à prendre,
- Si les embryons ne sont pas rachetés par l'entreprise et sont posés directement sur des génisses receveuses

4. Limites

4.1. Étude 1 : étude descriptive

Le but de notre étude descriptive était de décrire l'évolution des paramètres étudiés en station et en ferme entre 2012 et 2020, afin d'avoir une vision globale de la situation, de poser une problématique, mais aussi de commencer à dégager des pistes de réponse. Par exemple, à partir de 2020, il y a eu une réduction des intervalles de collectes et en même temps le début de collectes en OPU des génisses avant les collectes *in vivo*. L'un de ces deux paramètres pourrait être responsable de la chute de production concomitante observée. Mais dans ce contexte, il est impossible de pouvoir imputer une modification de la production à l'un ou l'autre des facteurs, ou bien à l'action conjointe des deux facteurs, étant donné qu'on réalise une étude simplement descriptive, sans comparaison statistique des moyennes.

4.2. Étude 2 : étude statistique univariée

La principale limite de notre étude statistique univariée réside dans le fait qu'on se situe dans un contexte de production : pour conduire une étude statistique rigoureuse, si on veut étudier un paramètre, il faut faire varier uniquement ce paramètre, tout en prenant un groupe de contrôle, dans lequel le paramètre ne varie pas, afin de pouvoir comparer. Il faut aussi avoir des effectifs suffisants afin de ne pas manquer de puissance statistique. Dans notre étude, nous n'avons aucune de ces conditions. En effet, dans un contexte de production, on peut être amenés à faire varier plusieurs paramètres en même temps. Dans notre cas, on a eu conjointement une réduction de l'intervalle de collecte, une réduction de l'âge des donneuses, ainsi que la réalisation d'OPUs avant les premières collectes d'embryons. Il a donc fallu sélectionner des périodes de "stabilité", durant lesquelles on notait une relative stabilité dans les conditions de production, et sans OPU préalables aux collectes d'embryons *in vivo*. Ceci a considérablement réduit les effectifs de notre étude, en passant d'un fichier de 2477 collectes à 467 collectes. Cela peut entraîner un manque de puissance statistique. Par

exemple, on présente dans notre étude seulement les résultats significatifs, on n'a eu aucun résultat significatif concernant les GMQ, ce qui peut s'expliquer notamment par le fait que dans le cadre de la production étudiée, l'alimentation est très surveillée et contrôlée, avec une faible variabilité de GMQ donc. On peut imaginer qu'étant donné l'importance de la croissance des individus sur la fonction de reproduction, avec plus d'effectifs, et en faisant varier les modalités d'alimentation, on aurait pu observer des résultats significatifs.

De plus, on étudie ici la période de 2012 et 2018 pour pouvoir réaliser notre étude statistique. Cependant, la diminution de la production d'embryons que l'on cherche à expliquer, puisque plus drastique, a lieu à partir de 2019. On cherche donc à déterminer les facteurs qui influent la production d'embryons entre 2012 et 2018 pour trouver des pistes d'explication et les appliquer aux années suivantes. On n'étudie donc pas directement la période concernée par les observations de terrain, ce qui peut constituer un facteur limitant de notre étude.

4.3. Étude 3 : étude statistique multivariée

On peut ici de nouveau soulever le problème du manque d'effectif dans notre étude. On retient seulement 4 paramètres dont on est sûr que indépendamment les uns des autres, ont un effet sur la production d'embryons. On peut supposer qu'avec plus d'effectifs, on aurait pu objectiver plus de paramètres influant la production d'embryons.

4.4. Étude 4 : étude économique

La principale limite de l'étude économique réside dans le fait que les coûts réels de production d'embryons sont maintenus confidentiels par l'entreprise de reproduction. On peut seulement en avoir une estimation à l'aide des tarifs exercés en ferme. L'étude reste possible grâce à cette estimation mais manque de précision, elle permet cependant d'avoir une première approche globale sur les coûts de production, et au moins d'avoir un ordre d'idée de la rentabilité des différentes étapes de production. De plus, toutes les charges liées au salariat des personnes qui réalisent les soins sur place sont de même, difficiles à appréhender, ce qui rend aussi moins précise notre étude.

Dans notre étude, on se place du point de vue de l'entreprise, le point de vue le plus judicieux à adopter est donc le point de vue financier, les coûts de production sont les éléments les plus pertinents afin d'étudier la rentabilité du système. Cependant, la rentabilité et le gain ne sont pas évaluables seulement par leur aspect financier direct. En effet, les effets de l'amélioration des races est aussi visible à plus long terme, ce qui est donc compliqué à intégrer à notre étude économique. Lorsqu'on améliore une race en sélectionnant des gènes qui sont destinés à cela, on obtient des génisses qui sont plus performantes en termes de production pour l'éleveur, cela représente donc aussi un gain économique pour ce dernier. Les collectes d'embryons en station de reproduction permettent de diminuer les intervalles de génération, en diminuant l'intervalle de génération, on diminue le temps qu'il faut pour diffuser ces gènes, et cela représente aussi un gain économique, difficilement évaluable, pour l'éleveur.

5. Discussion

5.1. Étude 2 : étude statistique univariée

Les protocoles utilisés aujourd'hui sur les génisses de race Normande sont ceux utilisés sur les génisses Prim'Holstein. Ces protocoles sont-ils adaptés à la race Normande? Est-ce que les objectifs de production intensifs prévus sur les génisses Holstein sont calquables sur les génisses de race Normande?

Notre étude ne permet pas de répondre totalement à ces questions, on peut supposer qu'il s'agit d'un manque d'effectif qui entraîne un manque de puissance statistique, mais aussi et surtout l'absence de lot de contrôle pour chaque variation de paramètre. Mais elle permet un début de réponse.

La stratégie actuelle de la station de reproduction consiste à collecter des animaux très jeunes, et de plus en plus jeunes afin de diminuer l'intervalle de génération et de réduire la période improductive des génisses. Selon les résultats obtenus concernant l'âge à la première collecte, et sans modifier la stratégie de préparation des génisses (notamment en matière de poids théorique à 6 mois et de GMQ) il serait plus indiqué de collecter les génisses entre 14,5 et 15,3 mois afin d'être le plus en accord avec les objectifs de production.

Ainsi, collecter les génisses très jeunes réduit certes la période improductive de la génisse, cependant, si elles ont tendance à produire moins d'embryons viables, ceci peut impacter la viabilité économique, voire technique, de la stratégie mise en place.

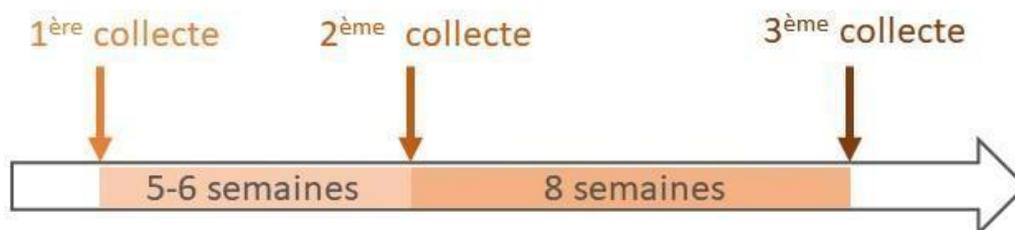
Pour chaque individu, on prévoit aussi 3 collectes. On obtient, en moyenne, toujours moins d'embryons totaux et viables dans la deuxième et la troisième collecte comparativement à la première. Par contre, la réalisation de 3 collectes permet de s'approcher de l'objectif numérique de production par génisse (objectif actuel = 20 embryons viables / génisse). Cependant, compte tenu de l'intervalle entre collectes (au minimum 5 semaines), chaque collecte supplémentaire provoquera une présence de 5 semaines supplémentaires en station, ce qui peut avoir un impact économique.

On collecte les animaux toute l'année sans discontinuer, or nous avons pu voir que la production d'embryons varie selon le trimestre de collecte. Le trimestre avec les moins bons résultats est le trimestre 4 (octobre, novembre et décembre). On pourrait supposer que cette baisse de production a lieu par un effet de répercussion des conditions climatiques qui sont moins adaptés aux bovins en été. Les ovocytes qui sont produits à ce moment-là sont donc peut-être de moins bonne qualité que ceux produits avec de meilleures conditions climatiques. Les résultats sont meilleurs en trimestre 1 ce qui peut être expliqué par le fait que les conditions climatiques les mois d'avant sont plus adaptées aux bovins. Chebel *et al.* (2004), ont montré qu'une exposition à une température supérieure à 29°C pendant 50 à 20 jours avant insémination réduisait le taux de gestation de 8,3%, et que l'exposition à un stress thermique post-insémination ne changeait pas les taux de gestation. C'est donc bien la qualité de l'ovocyte qui est mise en jeu en cas de stress thermique.

L'intervalle entre les différentes collectes (rang 1 et 2 puis rang 2 et 3) joue aussi son rôle dans le nombre d'embryons produits. On peut signaler que d'après l'analyse des informations du fichier, lorsque l'intervalle entre collectes est supérieur à 9 semaines, c'est que la génisse a eu un souci de santé (infectieux ou métabolique) généralement, on peut donc supposer que ce souci de santé a pu avoir un impact sur la production d'embryons, avec une production d'embryons divisée par deux, et donc que ce n'est plus seulement l'intervalle de collecte qui influe la production d'embryons, mais l'état de santé de la génisse.

Cependant, lorsque les génisses ne présentent pas de problème de santé, d'après nos résultats les résultats obtenus pour les génisses de race Normande en station de donneuse, il faudrait attendre 5 à 6 semaines avant de réaliser la 2^{ème} collecte, puis attendre 8 semaines entre la collecte 2 et la collecte 3 (Figure 36). Ceci permettrait de retrouver, en troisième collecte, les mêmes niveaux de production obtenus en première collecte.

Figure 37: Délais entre les collectes pour obtenir une production optimale d'embryons pour les génisses de race Normande en station selon les résultats obtenus entre 2012 et 2018.



Toujours dans un souci économique, il serait intéressant de vérifier l'impact économique de ces deux semaines supplémentaires de repos, et de voir si cet impact est compensé par une amélioration suffisante de la production d'embryons.

La croissance des génisses est aussi très encadrée dans le cadre de la production d'embryons, puisqu'elle conditionne en partie l'apparition de la puberté. Le poids des génisses est représentatif de cette croissance, et à âge égal, le but pour maintenir les objectifs actuels de production est d'avoir une croissance plus importante. L'analyse du poids, et en particulier le poids d'entrée de la génisse en station a montré que les génisses entrées en station plus jeunes sont plus légères (et le poids théorique à 6 mois reste assez proche). Ce constat suggère l'importance de veiller à ce que les génisses soient en bon état avant l'arrivée en station et idéalement avec un poids théorique à 6 mois plus élevé. En effet, même si elles reçoivent un flushing lorsqu'elles arrivent en station, qui est censé booster leur métabolisme (Barbey *et al.*, 2009), la croissance autour du sevrage est primordiale dans l'acquisition d'une puberté précoce. Une piste pour pallier ces poids d'entrée en station non homogènes serait d'adapter la diète à chaque génisse, en fonction de son poids actuel et des objectifs de poids, ou bien de ne faire entrer en station que des génisses ayant déjà passé le palier de 300 kg, de sélectionner les individus sur leur poids d'entrée en station. De plus, d'après Barbey *et al.* (2009), le GMQ pallier afin d'avoir une puberté plus précoce était de 800 g/j, or, les GMQ moyens observés en station sont en-dessous de cette recommandation. On peut alors supposer que même si une partie des génisses est peut-être déjà pubère en arrivant en station, elles ne le sont pas toutes. Il serait donc intéressant d'augmenter les GMQ.

Enfin, afin de maintenir une production élevée, les protocoles de superovulation devraient être optimisés. Les deux protocoles ont des résultats différents, on obtient plus d'embryons totaux avec le protocole protobo, mais autant d'embryons viables qu'avec le protocole classique. Ainsi, si on obtient le même nombre d'embryons viables avec les deux protocoles, l'intérêt de l'un ou l'autre ne passe pas par l'amélioration de la production, mais par l'analyse des moyens disponibles de la station:

- Pour une station possédant des outils de détection automatique de chaleurs et du personnel qualifié pour observer des chaleurs, le protocole classique pourrait être plus intéressant.
- Pour une station, ne possédant pas les moyens d'observation des chaleurs, le protocole Protobo pourrait être une solution adaptée.

Afin d'aller plus loin dans cette réflexion, une station non encore dotée d'outils de détection des chaleurs, pourrait faire une analyse économique en mettant dans la balance le coût des traitements, l'investissement ou non sur des outils de détection des chaleurs, le coût des traitements et de la main d'œuvre, afin de vérifier, l'intérêt économique de l'un et de l'autre. De plus, en matière de bien-être animal, il serait intéressant d'intégrer la multiplication des interventions sur l'animal sur la balance. En effet, le protocole classique implique 15 manipulations (pose et retrait de dispositif de distribution de progestérone et injections), et le protocole protobo en implique 17 ((pose et retrait de dispositif de distribution de progestérone et injections), en plus des deux inséminations artificielles et de la collecte d'embryons.

Une autre piste de recherche serait d'essayer de phénotyper plus finement les femelles afin d'identifier précocement, celles qui répondent bien en quantité, mais aussi en qualité, au protocole Protobo afin de ne l'appliquer que sur des femelles avec ce type de profil.

A RETENIR :

Conduite à tenir selon les résultats pour optimiser les résultats dans les conditions actuelles de production :

- Première collecte entre 14,5 et 15,3 mois
- Maintenir un intervalle de 5 semaines entre la 1ère et la 2ème collectes mais augmenter l'intervalle de collecte à 8 semaines entre les collectes de rang 2 et 3
- Sensibiliser les éleveurs sur l'importance d'avoir des génisses en bon état avant l'entrée en station

Alternativement, dans une optique de maintenir les objectifs de précocité actuels, il faudrait :

- Sélectionner des génisses plus précoces (avec un poids théorique à 6 mois plus élevé)
 - Augmenter le GMQ en station
- A partir de la 2ème collecte, n'utiliser le protobo que sur des génisses ayant bien répondu en 1ère collecte.

5.2. Étude 3 : étude statistique multivariée

Le modèle multivarié permet de s'affranchir des biais de confusion. Il permet en effet de prendre en compte le fait que les paramètres peuvent être liés entre eux. Par exemple, le poids d'entrée des génisses en station est clairement lié à l'âge d'entrée de la génisse en station. La question est donc de savoir lequel des deux paramètres est vraiment responsable de la variation et a vraiment de l'effet sur les paramètres étudiés, par exemple ici si c'est le poids qui influe sur la production d'embryons ou bien l'âge. En effet, dans le contexte de production étudié, nous n'avons pas pu faire (pour revenir à notre exemple) un groupe d'étude avec un âge constant et des poids variables ou bien un groupe avec des individus de poids constants mais des âges variables afin de pouvoir imputer la variation d'un paramètre à l'un ou l'autre des deux paramètres.

Ici, pour expliquer toutes les variations de production, nous avons retenu 4 facteurs non corrélés entre eux (le rang de collecte, le trimestre de collecte, le type de protocole utilisé et la FSH utilisée). En faisant de nouveau l'étude statistique, on a pu affiner les résultats déjà obtenus en étude univariée, on peut voir que les écarts ont augmenté.

Les résultats obtenus avec l'étude multivariée, en particulier avec le rang de collecte, confirment que la collecte de rang 3 est moins bonne que les deux premières. Il se pose alors la question de l'intérêt économique, si les deux premières collectes ont été conséquentes, de réaliser cette collecte. En effet, cela augmente le temps d'improductivité de la génisse, et son temps en station.

Concernant les protocoles de superovulation, dans l'étude multivariée, on obtient un résultat significatif pour le nombre d'embryons viables, alors qu'il ne l'était pas dans l'étude univariée. En effet, on obtient en moyenne 1,5 embryon viable en plus lorsqu'on utilise le protocole protobo que dans le cas du protocole classique. On peut alors se dire que le protocole protobo est plus avantageux, puisqu'il engendre une production plus importante d'embryons. Cependant, il implique plus de manipulations des animaux (16 manipulations contre 13 pour le protocole classique). On peut aussi se questionner sur les coûts du protocole, afin de les comparer au protocole classique.

Enfin, la FSH ayant les meilleurs résultats est le STIMUFOL utilisée à 80% de la dose vache, cela semble cohérent car en effet, lorsque le PLUSET est utilisé, il est utilisé à 50% de la dose vache. La FSH permettant la croissance des follicules, si on utilise 80% d'une dose contre 50% de la même dose, on peut supposer qu'on obtiendra de meilleurs résultats avec une dose plus importante, du moins sur le nombre total d'embryons. On pourrait aussi supposer qu'une augmentation de la quantité de follicules produits lors d'une ovulation pourrait nuire à la qualité des ovocytes obtenus, et donc de la qualité des embryons obtenus par la suite. Cependant, nous avons observé dans notre étude que le STIMUFOL à 80% de la dose vache donnait aussi un nombre plus important d'embryons viables. En utilisant cette FSH, on obtient donc un plus grand nombre d'embryons, et de meilleure qualité. Encore une fois on peut donc se poser la question du prix de ces molécules, afin de voir s'il est avantageux de n'utiliser que le STIMUFOL en dose 80% pour augmenter la rentabilité de la production.

A RETENIR :

- Pour optimiser la production d'embryons :
 - Collecter les génisses au maximum en trimestre 1
 - Limiter les collectes en trimestre 4
- Evaluer l'intérêt de la collecte de rang 3 selon le nombre d'embryons collectés en 1ère et 2ème collectes et la qualité génétique de la donneuse
 - Utilisation exclusive du protocole protobo
 - Utilisation exclusive du STIMUFOL en dose 80%

5.3. Étude 4 : étude économique

Le protocole protobo permet une réponse meilleure à la superovulation en termes d'embryons viables lorsqu'on a une vue d'ensemble. Cependant, il a été rapporté lors d'observations des réponses à la superovulation des génisses par les opérateurs, qu'il y a plus de cas de collectes nulles à 0

embryons en utilisant ce protocole: lorsqu'il fonctionne, la réponse à la superovulation est très bonne, mais s'il ne fonctionne pas, il arrive plus régulièrement qu'avec le protocole classique qu'il n'y ait aucune réponse (Tableau 18).

Tableau 18 : Pourcentage de collectes nulles en fonction du protocole de superovulation utilisé.

	Protocole protobo	Protocole classique
Collectes à 0 embryons (%)	10,3	2,4

Il faut donc être prudent en utilisant ce protocole, qui présente des avantages de rentabilité et de production importante d'embryons viables. En effet, si la donneuse est une femelle très intéressante d'un point de vue génétique, est-il judicieux d'utiliser le protocole protobo et de prendre plus de risque de n'avoir aucun embryon, même s'il est plus avantageux d'un point de vue de coût de production?

On pourrait ainsi conseiller d'utiliser en première collecte le protocole protobo, afin d'identifier les donneuses qui n'ont pas du tout répondu au traitement, et utiliser sur ces dernières le protocole classique en seconde collecte. On aurait de cette façon un moyen de concilier productivité et rentabilité.

Le STIMUFOL utilisé à hauteur de 80% de la dose vache apparaît aussi comme la meilleure FSH utilisée afin d'avoir la meilleure rentabilité. Cependant, cela entraîne plus de difficultés logistiques d'un point de vue du conditionnement que le PLUSET. En effet, pour le PLUSET, on utilise un flacon pour 2 génisses, tandis que pour le STIMUFOL, on utilise 80% du flacon, on se retrouve donc avec 20% d'un flacon qui est plus difficilement réutilisable.

PISTES D'AMÉLIORATION DE LA RENTABILITÉ DES PROTOCOLES:

- Utilisation du protocole protobo sur toutes les génisses en 1ère collecte, puis utilisation du protocole classique sur les génisses qui n'ont pas répondu au protobo pour les collectes suivantes
- Utilisation exclusive du STIMUFOL à hauteur de 80% de la dose vache

Les conditions du calcul économique ne sont pas les conditions réelles et pas forcément représentatives de la réalité, en effet, la majeure partie du temps, une partie des embryons est posée sur des receveuses en ferme directement, sans être congelés. Le gain réel de cette opération n'est pas calculable dans notre étude car nous n'avons pas les données de taux de gestation qui suit la pose des embryons.

De plus, l'entreprise de reproduction garde des droits sur certains des produits obtenus par pose d'embryons, et notamment sur les mâles. En effet, dans le cas d'embryons mâles obtenus et posés chez des partenaires, l'entreprise de reproduction rachète les mâles afin d'obtenir des taureaux à haute valeur génétique qui sont ensuite utilisés dans des schémas de sélection. Ces taureaux obtenus permettent aussi une diversification génétique de la race, il représentent un véritable intérêt pour les coopératives de reproduction, et surtout actuellement, où il tend à y avoir de moins en moins de taureaux laitiers en ferme : les taureaux ne présentent pas un réel intérêt chez les éleveurs laitiers, où l'essentiel de la reproduction se fait par insémination artificielle avec des paillettes de spermes achetées en coopératives de reproduction.

L'éleveur quant à lui obtient des femelles à haute valeur génétique, qui sont en principe plus performantes que la génération d'avant, il s'agit d'une façon de valoriser la race et le travail de sélection qui est fait en amont. Le coût économique de production de ces embryons est calculable pour l'éleveur en se basant sur les coûts de production, cependant, il est difficile de le comparer au gain acquis par l'éleveur. En effet, le gain majeur est génétique, et s'acquiert sur le long terme, il est difficilement mesurable et quantifiable.

Conclusion

D'après l'étude bibliographique réalisée, la race Normande a potentiellement les mêmes capacités que la race Prim'Holstein en termes de production d'embryons et de précocité de puberté. En théorie, on devrait donc pouvoir calquer les schémas de production d'embryon en race Prim'Holstein sur les génisses de race Normande. Cependant, en pratique, les résultats de production sont moins bons à partir du moment où on calque ces objectifs sur la race. Entre 2019 et 2020, on objective une baisse de la production d'embryons conjointe à la diminution de l'intervalle de collecte et l'ajout d'OPUs avant les 3 collectes d'embryons *in vivo* systématiques.

Suite à l'étude statistique réalisée entre 2012 et 2018, nous avons pu dégager un ensemble de paramètres pouvant expliquer les modulations de la production d'embryons dans les conditions étudiées sur les génisses de race Normande en station de donneuse, tels que le rang de collecte, l'âge de la donneuse à la collecte, le poids d'entrée en station, le poids théorique à 6 mois, le trimestre de collecte, l'année de collecte, le protocole de superovulation utilisé, la FSH utilisée dans le protocole, et l'intervalle de collecte entre les collectes de rang 1 et 2 et les collectes de rang 2 et 3. On peut supposer que ces paramètres peuvent en partie apporter un début de réponse à la baisse de la production d'embryons objectivée à partir de 2019. La diminution de l'intervalle de collecte entraînant une diminution de la production d'embryons sur les génisses de race Normande en station, on peut supposer que la baisse de l'intervalle de collecte entre 2019 et 2020 est en partie responsable de la baisse de la production d'embryons. A partir de cela, on peut postuler que les objectifs donnés en production d'embryon en race Prim'Holstein ne sont pas applicables totalement en race Normande, mais qu'ils sont à adapter afin de ne pas avoir de diminution de production. S'ils ne sont pas adaptables, la sélection des génisses qui entrent en station devrait être revue, et être fortement appuyée sur la précocité des animaux.

De plus, nous avons pu remettre en question la réalisation systématique d'une collecte de rang 3 sur les génisses de race Normande. Les résultats de la collecte sont en effet significativement moins bons que les deux autres collectes, et nous avons pu mettre en évidence qu'elle n'est avantageuse économiquement pour l'entreprise de reproduction uniquement si elle donne plus de 5 embryons (moyenne entre 2012 et 2018 à 3,5 embryons) ou si elle est réalisée sur des génisses de très grande valeur génétique.

Enfin, après notre étude économique et statistique, nous avons pu montrer que le protocole protobo est plus efficace que le protocole classique et il est de plus moins coûteux. Étant donné qu'il donne lieu à plus de collectes "blanches" (sans embryons), il est recommandé de l'utiliser en première collecte. S'il donne lieu à une collecte blanche, on peut utiliser le protocole classique en seconde collecte.

Liste des références bibliographiques

BARBEY S., HESLOUIS S., LARROQUE H., GALLARD Y. (2009) Etude des facteurs influençant l'âge à la puberté dans un croisement Holstein x Normande *In Rencontre Recherche Ruminants 2-3* décembre 2009, Paris, p.16.

BLONDIN P., VIGNEAULT C., NIVET A.L., SIRARD A.L. (2012) Improving oocyte quality in cows and heifers - What have we learned so far? *Animal Reproduction Science* vol. 19, n° 3, 281-289.

BO G.A., BARUSELLI P.S., CHESTA P.M., MARTINS C.M. (2006) The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* vol. 65, 89-101.

BONI R. (2012) Ovum pick-up in cattle: a 25 yr retrospective analysis. *Animal Reproduction Science* vol. 9, n° 3, 362-369.

CHAUBAL S.A., FERRE L.B., MOLINA J.A., et al. (2007) Hormonal treatments for increasing the oocyte and embryo production in an OPU-IVP system. *Theriogenology* vol. 67, 719-728.

CHEBEL R.C., SANTOS J.E.P., REYNOLDS J.P., et al. (2004) Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* vol. 84, n°3-4, 239-255.

DUITTOZ A.H., TILLET Y., LE BOURHIS D., SCHIBLER L. (2016) The timing of puberty (oocyte quality and management). *Animal Reproduction* vol. 13, n° 3, 313-333.

FRANCE GENETIQUE ELEVAGE (2022) Données nationales de contrôle laitier 2020. *In France Génétique élevage*. [<http://fr.france-genetique-elevage.org/>] (consulté 04/10/2022)

FUNSTON R.N., SUMMERS A.F. (2013) Effect of Prenatal Programming on Heifer Development. *Veterinary Clinic of North America : Food Animals Practice* vol. 29, 517-536.

GALLI C., CROTTI G., NOTARI C., et al. (2001) Embryo production by Ovum Pick Up from live donors *Theriogenology* vol. 55, 1341-1357.

HAGEMANN L.J., BEAUMONT S.E., BERG M., et al. (1999) Development during single IVP of bovine oocytes from dissected follicles: interactive effects of estrous cycle stage, follicle size and atresia. *Molecular Reproduction and Development* vol. 53, 451-458.

INSTITUT DE L'ELEVAGE (2022) Données d'élevage en race Normande. *In Institut de l'Élevage*. [<https://idele.fr/>] (consulté le 10/07/2022)

JULIA J., TAVEAU J-C. (2013) Physiologie et pathologie de la reproduction de la vache : élaboration de ressources pédagogiques en ligne à partir d'images échographiques de l'appareil génital. Thèse de médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

LE COZLER Y., PECCATTE J-R., PORHIEL J-Y., et al. (2009) Pratiques d'élevages et performances des génisses laitières : état des connaissances et perspectives. *INRA Animal Production* vol. 22, n°4, 303-316.

MERTON J.S., DE ROOS A.P.W., MULLAART E., et al. (2003) Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology* vol. 59, 651-674.

MIHM M., GOOD T.E.M., IRELAND J.L.H., et al. (1997) Decline in Serum Follicle-Stimulating Hormone Concentrations Alters Key Intrafollicular Growth Factors Involved in Selection of the Dominant Follicle in Heifers. *Biology of Reproduction* vol. 57, 1328-1337.

MONNIAUX D., CARATY A., CLEMENT F., et al. (2009) Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Animal Production* vol. 22, n°2, 59-76.

- MORAN C., QUIRKE J.F., ROCHE J.F. (1989) Puberty in Heifers: a Review. *Animal Reproduction Science* vol. 18, 167-182.
- NIVET A.L., BUNEL A., LABRECQUE R., *et al.* (2012) FSH withdrawal improves developmental competence of oocytes in the bovine model. *Reproduction* vol. 143, 165-171.
- Outil d'étude REPROSCOPE. In Institut de l'élevage - IDELE. [http://164.177.30.205/pentaho/api/repos/:public:reproscope:accueil_reproscope.wcdf/generatedContent?&userid=public_user&password=Repr0sc0pe_Pu] (consulté le 04/10/2022).
- PERRY G.A. (2016) Factors affecting puberty in replacement beef heifers. *Theriogenology* vol.86, 373-378.
- PETYIM S., BAGE R., HALLAP T., BERGQVIST A-S., *et al.* (2003) Two different schemes of twice weekly ovum pick up in dairy heifers: effect on oocyte recovery and ovarian function. *Theriogenology* vol. 60, 175-188.
- PHILLIPS P.E., JAHNKE M.M. (2016) Embryo Transfer (Techniques, Donors, and Recipients). *Veterinary Clinician of North America : Food Animals* vol. 32, 365-385.
- QUINTON H. (2015) Présentation Agro Paris Tech, communication interne.
- REINDERS J.M.C., VAN WAGTENDONK-DE LEEUW A.M. (1996) Improvement of a MOET program by addition of *in vitro* production of embryos after Ovum Pick Up from pregnant donors heifers. *Theriogenology* vol. 45, 354.
- RIUS A.G., CONNOR E.E., CAPUCO A.V., *et al.* (2005) Long-Day Photoperiod that Enhances Puberty Does Not Limit Body Growth in Holstein Heifers. *Journal of Dairy Science* vol. 88, 4356-4365.
- RIZOS D., BURKE L., DUFFY P., *et al.* (2005) Comparisons between nulliparous heifers and cows as oocyte donors for embryo production *in vitro*. *Theriogenology* vol. 63, 939-949.
- ROUSSEAU E., DUBOIS P.J. (2015) Les origines de la vache Normande. In Les Biodiversitaires [<http://lesbiodiversitaires.over-blog.fr/>] (consulté le 17/11/2022).
- SEVE J., ROUSSELET M.T. (1750) La vache du Cotentin - Illustration de l'histoire générale des animaux, des végétaux et des minéraux. Eds Buchoz P.J., Leng P In *Les Quadrupèdes de France*, partie I, Paris, chez l'auteur.
- SIRARD M.A., GRAND F.X., LABRECQUE R., *et al.* (2018) ASAS-SSR Triennial Reproduction Symposium: The use of natural cycle's follicular dynamic to improve oocyte quality in dairy cows and heifers. *Journal of Animal Science* vol. 96, n° 7, 2671-2976.
- STRINGFELLOW D.A., SEIDEL S.M. (2011). Manuel IETS (International Embryo Transfer Society) A procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedures 4ème ed. Champaign (Illinois), International Embryo Transfer Society.
- WATSON A.J. (2007) Oocyte cytoplasmic maturation: a key mediator of oocyte and embryo developmental competence. *Journal of Animal Science* vol. 85, Suppl E, E1-E3.

Annexe 2 : Script R pour l'étude statistique univariée (Exemple des classes de poids d'entrée en station)

```
EchCollecte x | Script analyse.R x
1 #Chargement des packages
2
3 library(readr)
4 library(tidyr)
5 library(dplyr)
6 library(corrgram)
7 library(car)
8 library(emmeans)
9 library(MASS)
10 library(ggplot2)
11
12
13 #Chargement des données
14
15 EchCollecte <- read_delim("Excel/EchCollecte.csv", delim=";", escape_double = FALSE, trim_ws = TRUE)
16 colnames(EchCollecte)[c(21,23)]<-c("ICo1Co12","ICo12Co13")
17 EchCollecte <- EchCollecte %>% replace_na(list(TOTAUX=0,VIABLES=0))
18 EchDonneuse <- read_delim("Excel/EchDonneuse .csv", delim=";", escape_double = FALSE, trim_ws = TRUE)
19
20
21 #Modèle univarié
22
23 LM1 <- lm(VIABLES~as.factor(POIDS_ENTREE_CL),data=EchCollecte)
24 summary(LM1)
25
26 Anova(LM1)
27
28 pairs(emmeans(LM1,'POIDS_ENTREE_CL'))
29
```


Annexe 3: Script R pour l'analyse statistique multivariée

```
EchCollecte x Script analyse.R x
Source on Save
89
90 #modèle multivarié
91
92 LMM1 <- lm(VIABLES~as.factor(COL_RG)+as.factor(COL_TRIM)+as.factor(Superfamille)+as.factor(COL_FSH2),data=EchCollecte)
93 summary(LMM1)
94
95 Anova(LMM1)
96
97 pairs(emmeans(LMM1,'COL_FSH2'))
98
99 stepAIC(LMM1,direction='both')
100
101
102 LMM111 <- lm(TOTAUX~as.factor(COL_RG)+as.factor(COL_TRIM)+as.factor(Superfamille)+as.factor(COL_FSH2),data=EchCollecte)
103 summary(LMM111)
104
105 Anova(LMM111)
106
107 pairs(emmeans(LMM111,'COL_FSH2'))
108
109 stepAIC(LMM111,direction='both')
110
111
112 LMM11 <- lm(VIABLES~as.factor(COL_RG)+as.factor(Superfamille)+as.factor(COL_FSH2)+as.factor(POIDS_ENTREE_CL),data=EchCollecte)
113 Anova(LMM11)
114 pairs(emmeans(LMM11,'COL_RG'))
115
116 LMM12 <- lm(VIABLES~as.factor(COL_RG)+as.factor(Superfamille)+as.factor(COL_FSH2)+as.factor(POIDS_ENTREE_CL),data=EchCollecte)
117 Anova(LMM12)
118 pairs(emmeans(LMM12,'Superfamille'))
119
120 LMM13 <- lm(VIABLES~as.factor(COL_RG)+as.factor(Superfamille)+as.factor(COL_FSH2)+as.factor(POIDS_ENTREE_CL),data=EchCollecte)
121 Anova(LMM13)
122 pairs(emmeans(LMM13,'COL_FSH2'))
123
```


Annexe 4 : Grille tarifaire des collectes *in vivo* en ferme

NOS PRESTATIONS ET TARIFS EN TRANSPLANTATION EMBRYONNAIRE	
Nos prestations en élevage	Prix Unitaire HT
La production d'embryons in vivo	
L'ouverture de chantier	140 €
La collecte d'embryons	70 €
L'identification SNP Donneuse	30 €
L'embryon viable de qualité 1 et 2 (1 ^{er} au 10 ^e par donneuse)	76 €
L'embryon viable de qualité 1 et 2 (11 ^e au 20 ^e par donneuse)	38 €
La congélation et la conservation de l'embryon	25 €
Le transfert de l'embryon à l'état frais	40 €
La bissection de l'embryon	70 €
Le déplacement pour transfert frais dans un autre élevage	50 €
La décongélation d'embryons	
Le forfait déplacement	50 €
Le transfert direct	40 €
Le sexage du fœtus entre 55 et 110 jours de gestation	
Le forfait déplacement (remise de 20 € si > 15 constats / déplacement)	50 €
Le constat de sexage	12 €
Le constat simple	7 €
Coût par embryon	
Collecte avec 4 embryons posés en frais	176,00 €
Collecte avec 8 embryons, 4 frais + 4 congelés	138,50 €
Collecte avec 15 embryons, 6 frais + 9 congelés	110,33 €

Annexe 5 : Fiche technique d'un embryon à vendre par l'entreprise de génétique



PAPEL sexé x ORAN 1607

300 €
/ Embryon

Index du produit à naître

ISU	TP	TB	LAIT	STMA	REPRO	MO	MA	AP	MU
172	0,8	0	1260	1,5	0,5	2,1	1,9	1,1	0,6

- Embryons de PAPEL sexé : +173 ISU; +1303 lait avec des taux & +1,6 MO
- Produit à naître très complet associant production et morphologie
- Mère par ORAN indexée +2,6 MO avec 86pts et CC4
- Montage assurant 100% produits A2A2

GÉNO SANTÉ

SANTE	ACETO	RLI	RLNI
0,3	0,2	0,5	0,5

PAPEL
NEOPPS x MYKONOS

ISU	TP	LAIT	MO	MA	AP
173	3	1303	1,6	1,5	1

Naisseur de la mère :
GAEC DES MARETTES (50)





PAPEL

1607
FR5014171607

ED	ISU	TP	TB	LAIT	MP
04/22	171	-1,4	-4,3	1216	33

STMA	REPRO	MO	MA	FT	AP
1,2	1	2,6	2,2	1,3	1,2

ORAN

MARYLOU

Pointage		
3a	3m	NG 86pts
CC4		

Lactation				
L3	303 J	7 593	39,5	32,2

IBADAN

GIROUETTE

Lactation				
L2	305 J	7 815	45,1	34,6

VITRIOL

Amélie KAUFFMANN - Animatrice investisseurs génétique | 06 07 83 04 66 | amelie.kauffmann@evolution-xy.fr

Membre **innoVal**

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE LA PRODUCTION D'EMBRYON *IN VIVO* ET ANALYSE ÉCONOMIQUE DU MODÈLE DE PRODUCTION D'EMBRYONS EN STATION DE REPRODUCTION SUR DES GÉNISSES DE RACE NORMANDE ENTRE 2012 ET 2020

AUTEUR : Aurélie PEN

RÉSUMÉ :

L'étude rétrospective de la production d'embryons en station a été réalisée en partenariat avec une entreprise de reproduction dans le but de caractériser et de trouver des pistes de réponses à une baisse de production *in vivo* d'embryons en 2020.

Les études statistiques ont été réalisées à partir d'un fichier regroupant toutes les collectes d'embryons réalisées entre 2012 et 2020 sur les génisses de race Normande en station. Nous avons commencé par une étude statistique descriptive afin de caractériser la production d'embryons en station, puis avons réalisé une étude statistique univariée afin de sélectionner des paramètres intéressants à retenir dans l'étude multivariée, réalisée afin de s'affranchir des biais de confusion. Enfin, nous avons mis en place une étude économique afin de mettre à profit les résultats préalablement obtenus dans un contexte de production.

Nous avons pu objectiver une baisse de la production d'embryons en 2020 dans la station étudiée, conjointe à une réduction de l'intervalle de collecte, une diminution de l'âge à la première collecte et à l'ajout d'OPU avant les collectes *in vivo*. L'étude statistique univariée réalisée entre 2012 et 2018 a montré que les paramètres qui influent la production d'embryons sont le poids d'entrée en station, le poids théorique à 6 mois, l'âge de collecte, le rang de collecte, le trimestre et l'année de collecte, la famille de protocole de superovulation ainsi que la dose de FSH utilisée dans le protocole. Le modèle multivariée qui décrit le mieux la production d'embryons dans les conditions étudiées est celui utilisant le rang de collecte, le trimestre de collecte, le protocole de superovulation et la dose de FSH. L'étude économique pose la question de la rentabilité en station de la collecte de rang 3, ou du moins de sa réalisation uniquement sur des génisses de très haute valeur génétique. Elle questionne aussi l'utilisation de protocole classique, qui est plus coûteux et moins efficace en termes de production d'embryons que le protocole protobo.

MOTS CLÉS :

IN VIVO, PRODUCTION D'EMBRYON, REPRODUCTION, RACE BOVINE, NORMANDE, GÉNISSE

JURY :

Président : Pr Alain FONTBONNE

Directrice de thèse : Dr Ailine DE PAULA REIS

Examineur : Pr Andrew PONTER

RETROSPECTIVE STUDY OF THE EMBRYO PRODUCTION AND ECONOMIC ANALYSIS OF THE PRODUCTION MODEL IN A REPRODUCTION STATION ON NORMANDE BREED HEIFERS BETWEEN 2012 AND 2020

AUTHOR: Aurélie PEN

SUMMARY:

The retrospective study of on-station embryo production was carried out in partnership with a breeding company with the aim of characterising and finding possible answers to a drop in in vivo embryo production in 2020.

The statistical studies were carried out using a file containing all the embryo collections carried out between 2012 and 2020 on Normande breed heifers on station. We started with a descriptive statistical study to characterise the production of embryos on station, then a univariate statistical study to select interesting parameters to be retained in the multivariate study, carried out to avoid confounding bias. Finally, we carried out an economic study in order to use the results previously obtained in a production context.

We observed a decrease in embryo production in 2020 in the station studied, in conjunction with a reduction in the collection interval, a decrease in the age at first collection and the addition of OPU before in vivo collections. The univariate statistical study carried out between 2012 and 2018 showed that the parameters influencing embryo production were station entry weight, theoretical weight at 6 months, collection age, collection rank, collection quarter and year, superovulation protocol family as well as the FSH dose used in the protocol. The multivariate model that best describes embryo production under the conditions studied is the one using collection rank, collection quarter, superovulation protocol and FSH dose. The economic study raises the question of the profitability on station of rank 3 collection, or at least of its implementation only on heifers of very high genetic value. It also questions the use of the classical protocol, which is more expensive and less efficient in terms of embryo production than the protobo protocol.

KEYWORDS:

IN VIVO, EMBRYO PRODUCTION, REPRODUCTION, BOVINE BREED, NORMANDE, HEIFER

JURY:

Chairperson: Pr Alain FONTBONNE

Thesis Director: Dr Aline DE PAULA REIS

Reviewer: Pr Andrew PONTER