

# PHOTOPÉRIODE, MÉTABOLISME ET REPRODUCTION : INTÉRÊT DU MODÈLE ÉQUIN

## PHOTOPERIOD, METABOLISM AND REPRODUCTION: ADVANTAGE OF THE EQUINE MODEL

Par Daniel GUILLAUME<sup>(1)</sup>, Juan SALAZAR-ORTIZ, Jean-Baptiste MENASSOL,  
Benoît MALPAUX et Philippe CHEMINEAU  
(Mémoire présenté le 21 janvier 2010)

### RÉSUMÉ

Chez les Équidés, les mises-bas ont lieu au printemps, conséquence d'une période sans ovulation commençant vers octobre pour s'achever fin avril. Pour les éleveurs, une avance de la première ovulation est capitale car elle augmente d'une part, le nombre de cycles utilisables et d'autre part, l'âge réel au moment de l'épreuve sportive ou de l'abattage. Chez les juments, l'avance maximale de la date de la première ovulation annuelle, sous nos latitudes, est obtenue avec un éclaircissement quotidien de 14 h 30, commençant vers le solstice d'hiver et pouvant être interrompu au bout de 35 jours longs (JL). Ce traitement est robuste : des accidents répétés n'altèrent pas son effet.

L'administration de mélatonine à des ponettes en inactivité hivernale, chaque soir ou sous forme d'implants sous-cutanés, supprime l'effet photostimulant des JL. Par contre, la pose des implants, aux alentours du solstice d'été, avance la première ovulation de l'année suivante comme chez des juments photostimulées, démontrant ainsi l'existence d'un rythme endogène annuel. Ces implants posés dans les mêmes conditions chez des juments non gravides n'induisent pas l'inactivité. Le rôle de la mélatonine semble donc limité au centrage du moment de la phase d'inactivité.

Chez des animaux maigres, en bonne santé, sous photopériode naturelle, l'inactivité est systématique et durable. Cette inhibition, liée à la sous-alimentation masque l'effet de la photostimulation. Par contre, 60 % des juments grasses cyclent toute l'année, les 40 % restants présentent une inactivité très courte correspondant à l'absence d'un ou deux cycles. Une réalimentation automnale ou hivernale des juments amaigries ne semble pas avoir d'effet sur la date de la première ovulation annuelle. La nutrition est la principale cause de l'arrêt hivernal de la cyclicité mais n'intervient pas sur sa reprise printanière. Le mécanisme qui induit à l'automne l'arrêt de la cyclicité est dû à l'interaction entre des jours courts et une balance énergétique négative. Cette interaction nutrition-photopériode est semblable-t-il généralisable à de nombreuses espèces des zones tempérées.

**Mots-clés :** photopériode, mélatonine, état corporel, chevaux.

(1) UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA/CNRS/Université de Tours/Haras Nationaux, F-37380 Nouzilly, France.

## SUMMARY

*Equidae are born in the spring. This is due to the fact that mares go through a period of anovulation from October to the end of April. For breeders, bringing forward the first ovulation presents an enormous advantage, as it increases the number of usable cycles in the mare and increases the actual age of the offspring at the time of sports performance or slaughter. In mares under our latitudes, the first ovulation can be moved to its earliest by using 14.5 h of daily light for 35 days, beginning around the winter solstice. This treatment is robust, as repeated accidents do not affect its outcome.*

*The administration of melatonin to pony mares during winter ovarian inactivity, either daily in the evening or with a subcutaneous implant, suppresses the photostimulating effect of long days (LD). On the other hand, the use of this implant around the summer solstice brings forward the first ovulation, as in photostimulated mares, thereby confirming the existence of an annual endogenous rhythm. These implants inserted under the same conditions in non-pregnant mares do not induced ovarian inactivity. Therefore, the role of melatonin seems limited to the timing of winter inactivity.*

*In thin but healthy mares subjected to the natural photoperiod, winter inactivity is systematic and long lasting. This inhibition, induced by the feed restriction, masks the effect of the photostimulation. On the other hand, 60% of fat mares have cycles all year long, and in the remaining 40%, the period of inactivity is very short, missing only one or two cycles. Increasing the feed in thin mares in autumn or winter seems to have no effect on the date of the first annual ovulation. Nutrition is the main cause of ovarian inactivity in winter, but it does not play a role in the resumption of activity in the spring. The mechanism inhibiting the cycles in autumn results from an interaction between short days and a negative energy balance. This nutrition-photoperiod interaction seems to be applicable to numerous species in temperate areas.*

**Key words:** photoperiod, melatonin, body condition, horses.

## GÉNÉRALITÉS SUR LA SAISON DE REPRODUCTION DES ÉQUIDÉS

Dans les conditions naturelles, une synchronisation des naissances est observée chez les chevaux (*Equus caballus*) comme chez la plupart des Mammifères des régions tempérées ou froides. Les poulinaages ont lieu pendant la saison la plus favorable pour la survie du jeune, généralement à la fin du printemps. De plus, pour la plupart des animaux vivant dans ces zones, à l'automne, à l'approche du froid, l'organisme privilégie l'énergie alimentaire disponible pour les fonctions de survie (thermorégulation, résistance aux maladies) au détriment, entre autres, de la fonction de reproduction (Nelson 1999). Les Équidés n'échappent pas à cette règle. À l'automne, la jument démarre une phase d'inactivité ovulatoire et l'étalon présente surtout une diminution de son comportement sexuel (Magistrini *et al.* 1987). De nombreuses juments ont une période sans ovulation qui débute très approximativement vers le mois d'octobre et s'achève à la fin du mois d'avril (Hughes *et al.* 1975). La durée de cette phase d'inactivité est extrêmement variable, elle dépend de l'âge de la jument et de son état physiologique. Elle est à tort souvent appelée inactivité ovarienne car pendant cette phase une croissance folliculaire peut persister, ce qui entraîne des chaleurs anovulatoires parfois très longues (jusqu'à deux mois) et rend également approximative la dénomination d'ancestrus. L'expression d'inactivité ovulatoire semble la plus appropriée bien que rarement utilisée. Nous utiliserons ici indé-

féremment soit le terme « ancestrus » soit le terme « inactivité ». La phase pendant laquelle la jument est cyclique est approximativement centrée sur les jours les plus longs de l'année; les chevaux sont donc classés dans les animaux dits de jours longs. Ce rythme annuel de reproduction constitue une adaptation écophysiologique très importante, particulièrement sous des climats arides et froids.

Pour les éleveurs la maîtrise de cette inactivité est un point capital pour deux raisons :

- le nombre de cycles utilisables. Les analyses de Langlois et Bouin (2004), portant sur plus de 500 000 mises à la reproduction, montrent clairement que les juments mises à la reproduction avant mai ont deux fois plus de chances d'être gestantes que celles mises à la reproduction en juin ou après. De plus, en France, un ancien arrêté fixant la saison de monte du 15 février au 15 juillet est encore partiellement suivi;
- l'âge au moment de la performance ou de l'abattage. D'un point de vue administratif, dans la plupart des pays, les sociétés régissant l'élevage ou l'utilisation des chevaux ont fixé au 1<sup>er</sup> janvier le changement d'une catégorie d'âge à la suivante : les poulains conçus pendant la même saison de reproduction ont donc le même âge administratif et ce, dans tous les États (Ginther, 1974). Pour diverses compétitions équestres ou courses, Langlois et Blouin (1997, 1998) ont clairement montré que les chevaux nés tôt dans l'année présentent significativement de meilleures performances que ceux nés tardivement. Ceci

est dû à la différence d'âge réel de ces chevaux, à laquelle doit se rajouter un effet « milieu ». Chez les poulains destinés à la boucherie, plus la naissance est précoce dans l'année, plus ils sont lourds lors du sevrage et de la vente à l'automne.

Ces contraintes économiques incitent donc les éleveurs à mettre leurs juments à la reproduction le plus tôt possible, c'est-à-dire en février, au plus profond de la phase d'inactivité du rythme annuel de reproduction.

Les bases zootechniques de la photostimulation de la jument ont été publiées au début des années 1980. Elles faisaient suite aux premiers travaux de Burkhardt (1947) ou Nishikawa (1959). Il semble que cette technique soit peu utilisée par les éleveurs, car la courbe de fréquence mensuelle des naissances de poulains en France présente un pic très important au cours du mois de mai (figure 1) (B. Langlois & C. Blouin, comm. pers.).

Pour aboutir à l'étalement et à l'avancée du moment des naissances, la compréhension des mécanismes de l'inactivité ovulatoire est indispensable pour permettre le développement de techniques favorisant l'avancement de la date de première ovulation.

Dans des conditions naturelles d'éclairement, la fonction de reproduction de la jument présente un rythme annuel qui est la conséquence d'un rythme endogène réglé par la photopériode; la cyclicité rend plus ou moins compte de ce rythme endogène selon l'influence de divers facteurs environnementaux: température, nutrition et état d'engraissement. La figure 2 présente les variations de la progestéronémie de juments de race lourde, ayant eu un poulain au printemps. Elles objectivent le rythme

annuel de reproduction de la jument; ce rythme est aussi nettement mis en évidence par les fluctuations des taux de LH plasmatiques chez la jument ovariectomisée (figure 2). Ces résultats ont été obtenus chez des juments témoins, maintenues en photopériode naturelle (Guillaume & Palmer, 1991a; Palmer & Guillaume, 1992; Guillaume *et al.* 1995).

Les phases de transition, d'entrée à l'automne et de sortie au printemps, de la période d'inactivité sont des phénomènes progressifs chez la jument. La détermination clinique du stade d'inactivité est généralement obtenue par l'examen échographique répété des ovaires ou par dosage de la progestérone plasmatique. Les juments présentant de petits ovaires fermes avec des follicules inférieurs à 15 mm de diamètre en janvier-février sont considérées comme en inactivité profonde. Celles chez lesquelles sont observés de gros ovaires avec des follicules supérieurs à 25 ou 30 mm, à la fin de février ou en mars, sont présumées être en phase de transition, définie comme étant la période précédant la croissance du follicule conduisant à la première ovulation. La jument est en inactivité lorsque la progestéronémie est indétectable dans un ou deux prélèvements hebdomadaires pendant au moins quatre semaines (Nagy *et al.* 1998a). Actuellement, il n'existe pas de méthode pour prévoir le début ou la fin de l'inactivité. Certaines juments peuvent présenter tardivement un début d'inactivité, en janvier ou février (Fitzgerald & Schmidt, 1995; Nagy *et al.* 1998b). L'activité folliculaire ne représente pas forcément le statut hypothalamo-hypophysaire ou le degré de l'inactivité. En effet, des juments développent plusieurs vagues de croissance de follicules anovulatoires avant la première ovulation de l'année, tandis que

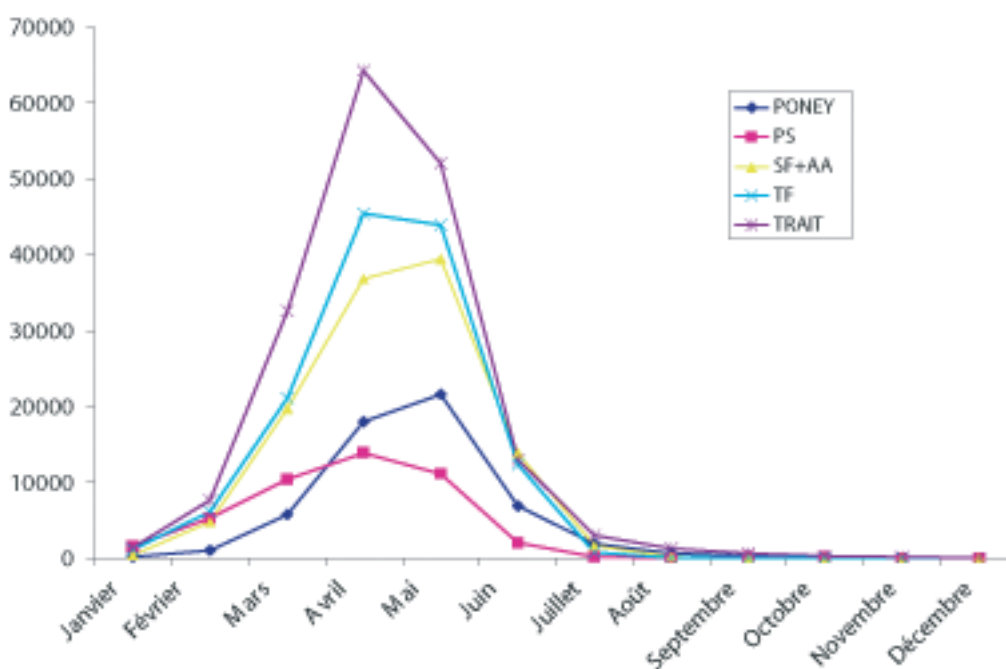
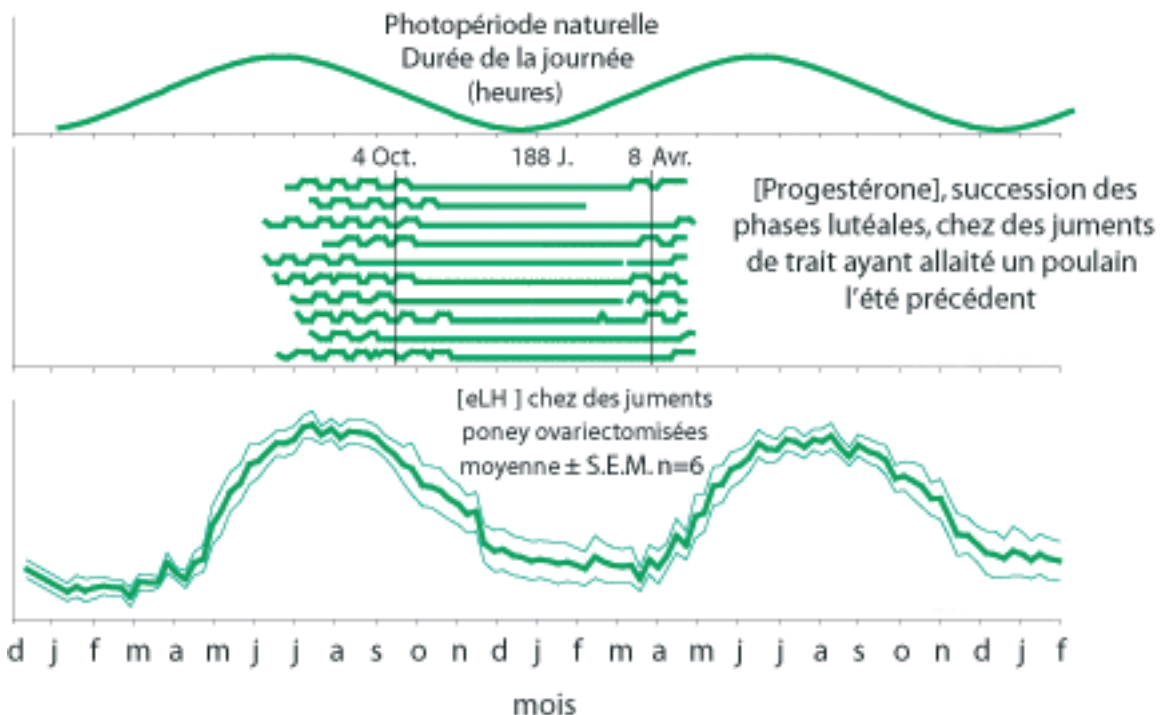


Figure 1: Courbe du total cumulé par mois, des naissances entre 1992 et 2002, chez les principales races de chevaux en France, d'après Langlois et Blouin (communication personnelle).



**Figure 2 :** Rythme annuel de reproduction chez la jument.

La partie supérieure de la figure représente les variations de la durée de la phase claire au cours des saisons. La partie médiane représente l'évolution du taux plasmatique de progestérone de 10 juments de trait, élevées au pré, ayant allaité un poulain l'été précédent. L'inactivité ovulatoire se traduit par un arrêt de la sécrétion de progestérone du 4 octobre au 8 avril (d'après Guillaume et al. 1995). La partie inférieure de la courbe représente les variations des concentrations de LH plasmatique chez 6 ponettes ovariectomisées maintenues en photopériode naturelle. La courbe obtenue correspond à une sinusoïde caractérisant le rythme annuel, avec un léger retard de phase par rapport à la sinusoïde de la longueur du jour (d'après Guillaume & Palmer, 1991).

d'autres ne montrent pas de croissance folliculaire significative avant celle du follicule ovulatoire (Ginther 1990). Pour cette raison, le terme d'inactivité ovulatoire est préférable à celui d'inactivité ovarienne. Lors de ces vagues de croissance, la capacité stéroïdogénique des gros follicules augmente (Seamans & Sharp, 1982; Davis & Sharp, 1991). De ce fait, dans cette phase de transition, des chaleurs erratiques anovulatoires, parfois de très longue durée, sont souvent observées. Roser *et al.* (1997) ont démontré que le taux plasmatique d'oestradiol (>10 pg/mL) est l'indicateur le plus fiable de la première ovulation de l'année. Lors d'un cycle normal, l'augmentation de l'échogénicité de l'utérus (aspect oedémateux en « quartiers d'orange ») et le développement folliculaire traduisent la production d'oestrogènes qui indiquerait une ovulation imminente mais ce n'est pas le cas chez les juments en phase de transition (Roser *et al.* 1997).

En conclusion, les éleveurs ne disposent pas de paramètres fiables pour prédire la date de la première ovulation de l'année.

## PHOTOPÉRIODE ET MÉLATONINE CHEZ LES ÉQUINS.

### La photostimulation

L'effet d'un traitement dit de photostimulation, utilisant une photopériode artificielle reproduisant en hiver la photopériode d'été, est connu depuis de nombreuses années (Burkhardt 1947). Certains élevages l'utilisent couramment pour avancer la date de la première ovulation de leurs poulinières.

Chez les juments en inactivité, la photopériode qui permet d'avancer au mieux la date de la première ovulation, est obtenue sous nos latitudes par une durée d'éclairage de 14 h 30. Ce même effet peut être mimé par une heure d'éclairage située 9 h 30 après l'extinction des feux et ce, quelle que soit la durée de la nuit avant ce flash. Comme pour les autres espèces saisonnières, une période photosensible pendant la phase obscure est ainsi définie chez la jument (Kooistra & Ginther, 1975; Palmer *et al.* 1982; Scraba & Ginther, 1985).

Il est inutile de commencer le traitement photopériodique de jours longs artificiels avant le mois de décembre (Kooistra & Ginther, 1975), soit environ deux mois avant la date de la première ovulation escomptée. En effet, un état réfractaire à la photopériode stimulante (les jours longs) s'installe lorsque l'on maintient les juments en jours longs à partir du mois de juillet. Elles vont présenter une première ovulation plus tardivement que celles soumises à des jours longs à partir de décembre.

Notre étude (Guillaume *et al.* 2000) précise certaines limites et conditions d'application de ce type de traitement photopériodique commencé vers le solstice d'hiver. Un éclairage de 14h 30, d'environ 100 lux, peut être arrêté au bout de 35 jours, soit à la fin de janvier quand les jours naturels sont encore très courts, sans qu'aucune différence de la date de première ovulation ne soit observée par rapport aux animaux dont le traitement a été maintenu jusqu'en juin (**figure 3**). La durée du traitement classique de photostimulation peut donc être réduite de même que l'intensité lumineuse utilisée. Une intensité d'un lux suffit à inhiber l'augmentation nocturne de mélatonine et de ce fait, un éclairage de 10 lux, obtenu par une lampe à incandescence de 25 W, suffit pour obtenir une avancée de la première ovulation de l'année. Cependant, lorsque les trois paramètres du traitement sont réduits de façon combinée, à savoir une intensité réduite de 10 lux appliquée pendant uniquement

une heure au moment de la phase photosensible et pendant seulement 35 jours, la date de première ovulation n'est pas modifiée par rapport à celle de juments en photopériode naturelle. Ces traitements lumineux à minimum sont robustes et des incidents dans leur bon déroulement (retards ou oublis dans l'allumage des éclairages) compromettent peu leur efficacité (Legros *et al.* 2003).

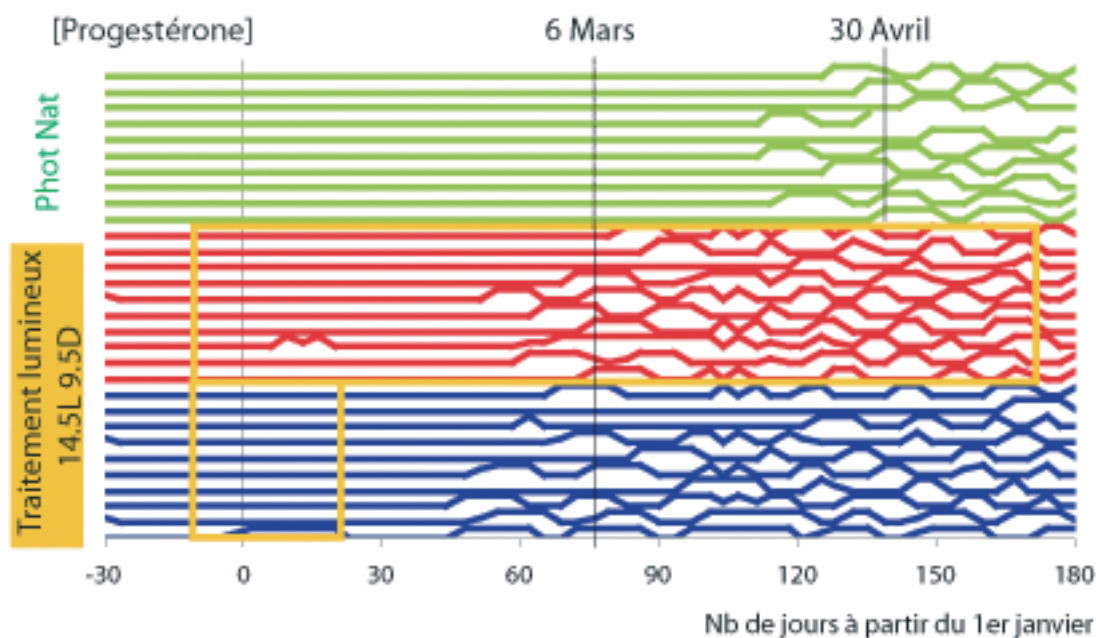
La photostimulation est donc une technique robuste, relativement facile à mettre en œuvre. La compréhension des mécanismes neurophysiologiques sous-jacents est principalement orientée vers l'action de la mélatonine.

## La mélatonine

### Mélatonine endogène

L'information « présence ou absence de lumière » est codée par des cellules ganglionnaires de la rétine, dont les axones se projettent directement dans les noyaux suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus; l'activité rythmique spontanée des neurones des NSC est ainsi entraînée par la lumière du jour par l'intermédiaire de cette voie rétino-hypothalamique. À partir de ces noyaux, les informations sont transmises à la glande pinéale par une voie polyneuronal complexe. Le dernier relais est constitué par les ganglions cervicaux supérieurs (GCS) dont les

### Durée du traitement lumineux



**Figure 3:** Effet d'un traitement de photostimulation (représenté par un cadre jaune) commencé vers le solstice d'hiver et interrompu 35 jours plus tard à la fin de janvier, c'est-à-dire pendant la période de jours courts naturels (courbes en bleu). A comparer avec l'effet d'un traitement de photostimulation commencé vers le solstice d'hiver et maintenu jusqu'en juin (courbes en rouge). Chacune des courbes représente les variations de la progestéronémie d'une ponette et montre l'alternance des phases lutéale et folliculaire ou d'inactivité ovulatoire hivernale (d'après Guillaume *et al.* 2000).



neurones postganglionnaires noradrénergiques innervent les pinéaloctes et déterminent leur sécrétion de mélatonine. Cette hormone agit notamment sur la production de GnRH par l'hypothalamus. Ce schéma général proposé par Klein (1985) a partiellement été vérifié chez les chevaux.

La connexion rétino-hypothalamique a été révélée par la technique du transport axonal antérograde : la peroxydase de Raifort injectée dans le corps vitré de l'œil droit est identifiée dans les neurones des NSC, ces projections étant principalement controlatérales. La participation des GCS a été montrée par les effets de leur ablation, en hiver, chez des ponettes en inactivité ovulatoire (Sharp *et al.* 1979) : leur exérèse n'a pas eu de répercussion sur la date de la première ovulation, mais celle-ci, de même que la mue de printemps, a été retardée de plus de deux mois, un an après. Sharp *et al.* (1980) ont provoqué, chez des ponettes, la libération de mélatonine par l'injection d'un analogue de la noradrénaline, l'isoprotérénol mais les mécanismes de synthèse et de libération de la mélatonine par les pinéaloctes n'ont pas été étudiés chez les Équidés.

La glande pinéale est bien impliquée dans les variations saisonnières de la fonction de reproduction des Équidés. Chez des juments pinéalectomisées, le traitement photopériodique est sans effet sur le moment de la première ovulation, alors que celle-ci est avancée chez les témoins (Grubaugh *et al.* 1982). Pinéalectomisées pendant l'hiver, les juments présentent une activité ovarienne cyclique significativement plus tardive que les juments témoins pendant la deuxième saison qui suit l'opération.

La mélatonine est libérée pendant la nuit (**figure 4**) en une quantité dépendant de la durée de celle-ci (Sharp *et al.* 1980; Kilmer *et al.* 1982; Colquhoun *et al.* 1987; Guillaume & Palmer, 1991b). Elle est sécrétée à un rythme constant, de l'ordre de 0,7 ng/kg de poids vif par minute, que les nuits aient une durée de 13 h 30 ou de 9 h 30 (Guillaume *et al.* 1995).

Un rythme endogène de sécrétion de la mélatonine n'est observable que chez des animaux maintenus à l'obscurité permanente (Kilmer *et al.* 1982; Guillaume *et al.* 1997). Il dépend du rythme endogène des NSC. La sécrétion de mélatonine s'adapte immédiatement aux perturbations du rythme d'éclairément, lorsque celles-ci interviennent aux alentours des horaires de nuit habituels (Spadetta *et al.* 1995).

Les ânesses, qui ont une inactivité hivernale comparable à celle des juments, présentent des taux très élevés de mélatonine dans le sang (Guillaume *et al.* 2006b) Toutefois, les taux plasmatiques nocturnes de mélatonine sont indécélables chez certaines juments, ce qui laisserait supposer que chez ces sujets, l'inactivité hivernale est sans relation avec la mélatonine (Fitzgerald & Schmidt, 1995). Par ailleurs, selon nos observations, chez 110 ponettes, 35 % ont présenté une concentration plasmatique nocturne de mélatonine inférieure à 10 pg/ml, 30 %, une concentration comprise entre 10 et 20 pg/ml et 35 %, entre 20 et 130 pg/ml (Guillaume *et al.* 2006b). Les concentrations plasmatiques de mélatonine ne sont donc certainement pas le reflet des niveaux efficaces agissant sur l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. On peut supposer que la route de la mélatonine, pour atteindre ses récepteurs centraux, n'est pas la circulation san-

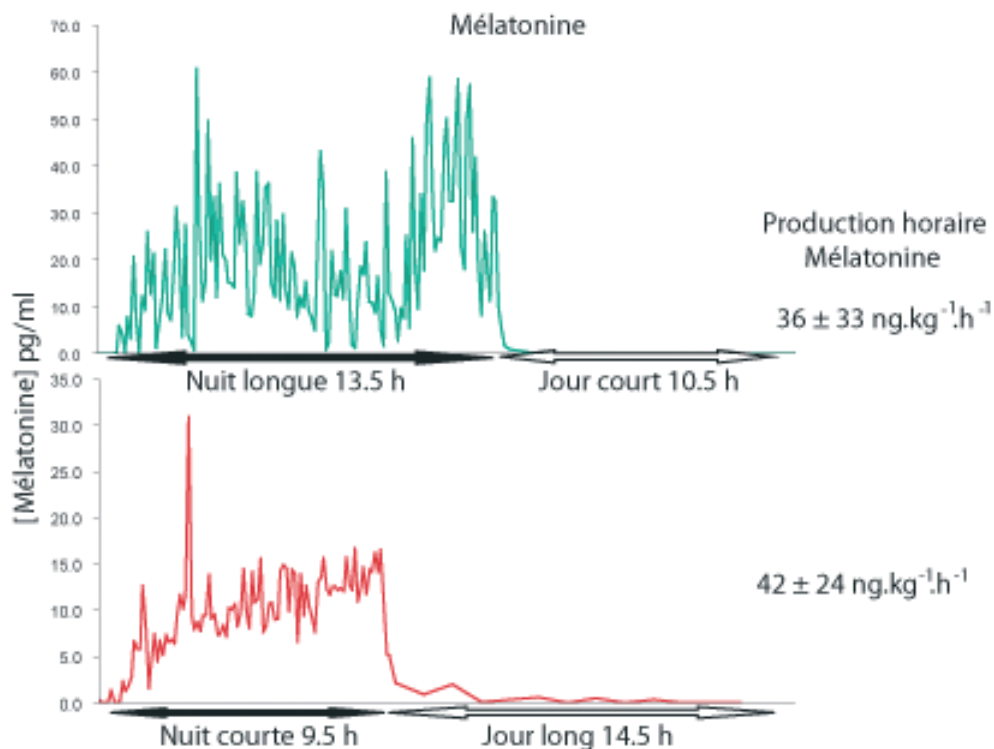


Figure 4 : Sécrétion de mélatonine par une ponette lors d'une nuit longue de 13 h 30 de durée et d'une nuit courte de 9 h 30 (d'après Guillaume *et al.* 1995).

guine mais probablement le liquide cérébrospinal *via* le troisième ventricule. Cette hypothèse est soutenue par Tricoire *et al.* (2003) chez la brebis où les concentrations de mélatonine sont nettement plus élevées dans le troisième ventricule que dans le sang périphérique (Rollag *et al.* 1978; Skinner & Malpaux, 1999), la mélatonine agissant sur l'hypothalamus médiobasal (Malpaux *et al.* 1993).

Stankov *et al.* (1991) ont étudié la localisation des récepteurs de la mélatonine dans le diencéphale des chevaux. La densité la plus élevée est retrouvée dans la pars tuberalis et l'éminence médiane. Un marquage plus faible est décelé dans le noyau suprachiasmatique et l'aire préoptique. Il s'agit de récepteurs spécifiques, de haute affinité, dont les propriétés et la répartition se sont avérées identiques à celles des récepteurs mis en évidence dans deux autres espèces, le mouton et le lapin. Aucune étude n'a été entreprise chez les Équidés pour caractériser les propriétés de ces récepteurs ni leur influence sur la cyclicité.

#### Mélatonine exogène

Chez les Équidés, nous avons mis en évidence le rôle de la mélatonine dans le transfert du signal photopériodique. L'administration quotidienne par voie orale, de 12 mg pour 250 kg de poids vif de mélatonine, quatre heures avant une nuit courte, à des ponettes en inactivité ovulatoire, supprime l'effet photostimulant des jours longs (Guillaume & Palmer, 1991b) L'administration, à partir du solstice d'hiver, d'implants sous-cutanés qui maintiennent des taux élevés de mélatonine plasmatique pendant environ trois mois, retarde également la première ovulation annuelle de ponettes photostimulées (Guillaume *et al.* 1995a).

#### La composante endogène du rythme annuel de reproduction

Les données actuelles permettent de conclure qu'un rythme endogène de reproduction existe également chez les Équins comme chez les Ovins (Karsch *et al.* 1989). Chez les juments, l'ablation de la glande pinéale ou des ganglions cervicaux supérieurs n'entraîne pas la disparition du rythme de reproduction (Sharp *et al.* 1979; Grubbaugh *et al.* 1982). Cependant, la date de la première ovulation de l'année qui suit l'ablation est significativement retardée.

L'installation d'un état réfractaire à une photopériode ou à un traitement de mélatonine constitue un des éléments de la démonstration de l'existence d'un rythme endogène annuel. L'état réfractaire à la photopériode est l'état physiologique dans lequel se trouve l'animal lorsque la photopériode à laquelle il est soumis, cesse d'agir. Des juments en inactivité ovulatoire, maintenues en jours courts (8 h de lumière/16 h d'obscurité) à partir du solstice d'hiver jusqu'au printemps, présentent une sortie de la phase d'inactivité approximativement synchronisée de celle des juments en photopériode naturelle (Palmer *et al.* 1982). Un état réfractaire à la photopériode inhibitrice s'installe donc lorsque la jument est artificiellement maintenue en jours courts artificiels, à partir du solstice d'hiver. De même, les

juments soumises à un traitement de mélatonine supprimant l'effet de la photostimulation (mélatonine administrée le soir ou sous forme d'implants), à partir du solstice d'hiver jusqu'à la fin du printemps, présentent une première ovulation approximativement synchronisée de celle des juments témoins maintenues en photopériode naturelle ou en jours courts : la fin de l'inactivité ovulatoire est liée à l'installation d'un état réfractaire au traitement de mélatonine (Guillaume & Palmer, 1991; Guillaume *et al.* 1995a). Inversement, un état réfractaire à la photopériode stimulante s'installe lorsque le traitement photopériodique (16 h de lumière/8 h d'obscurité) est commencé en été (Kooistra & Ginther, 1975; Scraba & Ginther, 1985). Dans ce cas, les juments manifestent une inactivité ovulatoire hivernale en jours longs artificiels. La mise en évidence d'un état réfractaire aux deux photopériodes opposées révèle indirectement l'existence d'un rythme endogène circannuel et le rôle de la photopériode est limité à celui d'un synchroniseur de ce rythme endogène.

Au cours d'une expérience utilisant des juments de trait, adultes et gestantes, élevées de façon extensive, nous avons administré à huit d'entre elles des implants de mélatonine à partir du solstice d'été, de façon à en maintenir des taux élevés jusqu'au printemps de l'année suivante et ce, peu de temps avant la date de mise bas supposée (Guillaume *et al.* 1995a). La cyclicité des juments ainsi traitées s'est arrêtée à l'automne, au même moment que chez les juments témoins. Par contre, la première ovulation au printemps de l'année suivante a été significativement avancée de deux mois par rapport à celle des juments témoins. Chez les juments ainsi traitées, les jours courts mimés par la mélatonine exogène ont commencé en juin. L'installation de l'état réfractaire à la mélatonine est beaucoup plus précoce chez le lot traité que chez le lot témoin. L'avancée de la première ovulation au printemps est due à l'avance du rythme endogène annuel, avance déterminée par la perception plus précoce de l'hiver à travers les nuits artificielles de longue durée imposées pendant l'été.

Au cours de cette expérience, deux juments non gestantes ont été traitées par erreur. Elles n'ont pas présenté d'inactivité ovulatoire hivernale. Ce n'est donc pas la mélatonine qui induit l'inactivité. L'absence d'effet inhibiteur direct de la mélatonine a, par la suite, été vérifiée (Peltier *et al.* 1998).

## PHOTOPÉRIODE ET BALANCE ÉNERGÉTIQUE

### Rôle de l'alimentation sur l'inactivité ovarienne des juments

Les saisons sont caractérisées par d'importantes variations de la quantité d'énergie solaire reçue. Ceci se traduit, pour les animaux, par des variations synchronisées de la durée d'éclairement ou photopériode, de la température et de la quantité d'aliments disponibles. Ainsi, les juments élevées au pâturage dans des conditions extensives disposent d'une quantité d'aliments maximale au printemps, qui décroît dès le mois d'août, pour être

minimale en hiver. Leur activité de reproduction se trouve en phase à la fois avec le rythme annuel de la photopériode, le rythme annuel de la disponibilité en aliments et le rythme annuel des températures. En dehors d'expériences spécifiques, il est impossible de discerner l'effet propre de chaque paramètre sur la reproduction.

#### *Sur le début de l'inactivité*

Pour la plupart des animaux vivant dans les zones tempérées ou froides, à l'automne, à l'approche du froid, l'organisme privilégie l'énergie alimentaire disponible pour les fonctions de survie (thermorégulation, résistance aux maladies) au détriment, entre autres, de la fonction de reproduction. La mélatonine serait un des éléments clef de cette régulation saisonnière de la balance énergétique (Nelson 1999). Le mécanisme qui, à l'automne, induit l'arrêt de la cyclicité en inhibant les sécrétions du GnRH et de la LH, est mal connu dans l'espèce équine. L'inactivité ovulatoire hivernale était supposée être due à l'absence du signal stimulateur que sont les jours longs. Or, nous venons d'exposer que l'activité ovulatoire persiste en hiver même sous un traitement pharmacologique de mélatonine (Guillaume *et al.* 1995 ; Peltier *et al.* 1998 ; Fitzgerald & McManus, 2000). L'inhibition de l'activité cyclique pendant l'hiver est donc induite par un autre mécanisme et pourrait résulter de l'interaction de la photopériode avec d'autres facteurs de l'environnement. Cette interaction pourrait expliquer que le début de la saison de reproduction varie d'une jument à l'autre en fonction de leur âge et leur état corporel (Driancourt & Palmer, 1982 ; 1983). Les jeunes juments de trois à quatre ans (Koskinen & Katila, 1991), les juments adultes maigres (Gentry *et al.* 2002c) et celles qui ont allaité un poulain pendant l'été précédent (Koskinen *et al.* 1991) montrent systématiquement une période d'inactivité ovulatoire hivernale. Au contraire, une proportion importante de juments adultes, âgées de plus de cinq ans, (Gentry *et al.* 2002c ; Koskinen *et al.* 1991), présentent des cycles toute l'année. Elles montrent un état d'engraissement plus important que celles en œestrus (Fitzgerald & McManus, 2000). Croissance et lactation entraînant un accroissement des besoins énergétiques provoquent l'arrêt des cycles ovulatoires à l'automne, au moment où la photopériode décroît (Wade & Schneider, 1992 ; Beam & Butler, 1999).

#### *Sur la fin de l'inactivité*

Tous les éleveurs de chevaux en sont persuadés, l'importance et la qualité de l'alimentation jouent un rôle prépondérant, à la fois pour la préparation de la mise à la reproduction et pour son succès. Malheureusement, nous disposons de peu de données pour quantifier l'influence de l'alimentation ou de l'état d'engraissement sur la fin l'œestrus hivernal. Elles proviennent soit d'études épidémiologiques, soit d'expériences de supplémentation et sont obtenues, le plus souvent, sur de faibles effectifs soumis à des régimes pendant des durées trop courtes. La date de la première ovulation, au printemps, chez des juments recevant une alimentation complémentaire de granulés est plus précoce que celle observée chez des juments non supplémentées

(Van Niekerk & Van Herden, 1972). Il en est de même chez les juments qui prennent du poids au début du printemps (Ginther 1974) ou qui présentent une note d'état supérieure à la note moyenne, alors que la date de la première ovulation est significativement plus tardive chez les juments dont la note est inférieure à la note moyenne (Henneke *et al.* 1984). Durant la phase de transition, un apport énergétique élevé diminue l'intervalle entre le début de cet apport et la première ovulation chez les juments maigres mais reste sans effet chez les juments montrant un état d'engraissement modéré ou important (Kubiak *et al.* 1987). La qualité des protéines influence également le début de la saison de reproduction : chez les juments dont la ration contient des protéines de haute qualité, la sécrétion de FSH augmente et l'ovulation se produit approximativement trois à six semaines plus tôt que chez celles recevant des protéines de qualité inférieure (Van Niekerk & Van Niekerk, 1997). La mise à l'herbe durant la phase de transition, au printemps, sur des pâtures de bonne qualité semble stimuler l'activité ovarienne (Carnevale & Ginther, 1997). Cet effet stimulant d'une alimentation riche en protéines, au printemps, sur l'activité ovulatoire ressemble au « flushing » décrit chez les petits ruminants (Landau *et al.* 1996). Par ailleurs, Mc Daniel *et al.* (1979) ont mis en évidence un effet additif de la supplémentation alimentaire et de l'allongement artificiel de la photopériode au début de l'année, sur la reprise de l'activité de reproduction.

La température est un autre facteur saisonnier qui pourrait avoir un effet sur la reproduction. L'analyse des résultats obtenus dans un élevage de pur-sang en Australie a montré une différence significative sur la date de la première ovulation au printemps, d'une année à l'autre, qui semble liée la température ambiante (Guerin & Wang, 1994). Leur action pourrait être une conséquence de la balance énergétique qui privilégie la thermorégulation à la reproduction. Une autre hypothèse fait appel à l'action de la prolactine dont la sécrétion est influencée par la température (Gebbie *et al.* 1999). L'action de la température ambiante est trop faible pour que sa manipulation soit utilisable sur le terrain par l'éleveur.

#### *Nos expériences récentes*

Nous avons réalisé deux expériences chez des juments poneys de type Welsh afin de mettre en évidence l'effet, sur l'inactivité ovulatoire, de différents niveaux d'apport d'énergie alimentaire et donc d'état d'engraissement.

Dans un premier temps, nous avons vérifié si l'état d'engraissement pouvait interagir avec la photostimulation (Guillaume *et al.* 2002 ; Guillaume *et al.* 2001). Lors de cette expérience, nous avons montré que chez des juments maigres, continuant légèrement à perdre du poids, une photostimulation classique de 14h 30 d'éclairement par jour à partir du solstice d'hiver, n'avancait pas la date de la première ovulation annuelle. Il semble donc que l'effet stimulateur de la lumière ne compense pas l'influence négative de l'état de maigreur.

Une seconde expérience a été réalisée pour quantifier l'influence de l'alimentation sur la durée de l'inactivité et vérifier si le pas-



sage d'une alimentation restreinte à une alimentation abondante, à l'automne, permettait d'avancer la reprise de la cyclicité (Salazar-Ortiz & Guillaume, 2005) Trente juments poneys ont été réparties en trois lots pendant trois ans : un lot recevait une ration à base de granulés du commerce et de paille ou lot gras (G), un second avait une alimentation à base de luzerne déshydratée et de paille ou lot maigre (M) et les animaux du troisième lot V (V pour variable) recevaient une alimentation tantôt comme le lot G, tantôt comme le lot M, de façon à mimer la variation de l'énergie fournie par une prairie naturelle, mais avec quelques mois d'avance. Les rations étaient fréquemment réajustées pour garder les animaux en bonne santé et dans l'état souhaité. Le nombre de juments présentant une inactivité hivernale différait significativement d'un lot à l'autre au cours des second et troisième hivers. Dans le lot G, 60 % des juments n'ont pas présenté d'œstrus ; les 40 % restant ont manifesté une inactivité de très courte durée, correspondant à l'absence d'un ou deux cycles. Au contraire, toutes les juments du lot M ont montré une longue période d'inactivité hivernale. Chez les juments ayant présenté une inactivité, la date d'apparition de l'œstrus, celle de sa fin et donc sa durée étaient significativement différentes entre le lot G et les deux autres M et V. Ces caractéristiques temporelles de l'inactivité ovulatoire étaient significativement corrélées avec l'épaisseur de gras sous-cutané mesurée par échographie, avec les taux plasmatiques de la GH, de l'insuline et du glucose mesurés toutes les heures pendant 48h. Ils ne montraient pas de corrélation avec le taux de mélatonine. Dans le lot V, deux juments sur 10 n'ont jamais présenté d'inactivité. Elles n'ont pas atteint, lors des différentes phases de l'expérience où elles ont subi le régime de restriction, le niveau d'amaigrissement qui aurait déclenché l'œstrus. Pour les huit juments présentant une inactivité, l'amélioration de l'alimentation, en automne ou en début d'hiver, n'a pas eu d'effet sur la date moyenne de la première ovulation.

Cette absence de réponse aux changements de régime est en contradiction avec plusieurs études faites lors de la remise à l'herbe des juments (Van Niekerk & Van Herden, 1972 ; Ginther 1974 ; Mc Daniel *et al.* 1979 ; Carnevale & Ginther, 1997). Dans ces études de terrain, on a confondu l'effet du niveau global de l'alimentation et celui d'une augmentation momentanée du régime. Dans notre étude, la qualité des protéines n'a pas été prise en compte dans les phases d'amélioration du régime, alors qu'elle a probablement une influence sur le début de la saison de reproduction (Van Niekerk & Van Niekerk, 1997). La restriction alimentaire semble être la principale cause de l'œstrus. Lors des deux expériences commencées en été, la baisse de l'état corporel n'a été significative qu'à la fin du premier hiver. Les effets de l'alimentation sur l'inactivité ovulatoire du premier hiver sont faibles. L'intensité de cette inactivité hivernale est la conséquence de l'état corporel, non pas au moment de l'hiver, mais à une période bien antérieure.

L'interaction de la photopériode et de l'alimentation est un mécanisme physiologique commun à d'autres espèces de Mammifères des zones tempérées ou froides. Elle a été mise en

évidence chez la brebis (Hulet *et al.* 1986 ; Forcada & Abecia, 2006) ou chez la chèvre (Zarazaga *et al.* 2005). Chez la brebis Ile-de-France, nous démontrons clairement son existence. Elle module le rythme annuel de sécrétion de la LH et de l'ovulation (J.-B. Menassol, comm. pers.).

### Hypothèses sur les mécanismes endocriniens et neuroendocriniens

Les mécanismes endocriniens sous-jacents à l'interaction nutrition-photopériode sont actuellement peu étudiés. La possibilité d'induire un cycle durant l'inactivité hivernale par des injections de GnRH (Mc Kinnon *et al.* 1997) démontre que l'inhibition saisonnière de la reproduction est localisée en amont de la sécrétion de la GnRH. Il convient donc de se poser les deux questions suivantes : 1) quelles sont les hormones ou métabolites périphériques qui transmettent l'information de l'état corporel au système nerveux central et 2) comment cette information est-elle transmise et/ou interprétée différemment d'une saison à l'autre ? Chez la jument, quelques éléments de réponse à la première question existent (Gentry *et al.* 2002a ; 2002b).

#### Glucose et insuline

Dans différentes espèces, une glucoprivation déclenchée par des injections d'insuline ou de 2-deoxy-D-glucose (2DG), qui provoque la baisse de la disponibilité du glucose, induit une chute des concentrations plasmatiques de LH. Chez le Hamster, l'injection intra-péritonéale de 2DG interrompt la cyclicité (Schneider *et al.* 1993). Des injections d'insuline sont suivies de la baisse de la sécrétion de LH chez le rat (Goubillon & Thalabard, 1996 ; Cagampang *et al.* 1997) ou chez la brebis (Downing & Scaramuzzi, 1997). Par contre chez les juments, l'injection périphérique de 2DG (McManus *et al.* 2002) ou d'insuline (Deichsel *et al.* 2005) est sans effet sur les concentrations plasmatiques de LH. Chez les brebis, il faut que le 2DG soit administré dans le 4<sup>e</sup> ventricule ou dans les ventricules latéraux pour observer une baisse de la concentration plasmatique de LH (Ohkura *et al.* 2000). Chez les animaux d'élevage, l'effet d'une glucoprivation expérimentale sur la sécrétion de LH est donc difficile à mettre en évidence. Par ailleurs, la baisse de la disponibilité du glucose ainsi induite ne correspond pas à une situation physiologique normale.

#### Leptine

La leptine, découverte en 1994, est une hormone synthétisée et sécrétée principalement par les adipocytes. Elle intervient dans la régulation de la prise alimentaire et l'installation de l'état de satiété (Morton *et al.* 2006). Depuis sa découverte (Zhang *et al.* 1994), le nombre de publications sur le sujet n'a pas cessé de croître, et les premières publications concernant les équidés datent du début des années 2000 (Fitzgerald & McManus, 2000 ; Buff *et al.* 2002). Les concentrations plasmatiques de leptine sont significativement corrélées chez les Équidés, avec la note de l'état corporel ( $r = 0.64$  ;  $P < 0.0001$ ) (Buff *et al.* 2002) et chez l'Homme, avec l'index de masse corporelle (BMI = poids/taille<sup>2</sup>)

( $r = 0.7$   $P < 0.0001$ ) (Isidori *et al.* 2000). La sécrétion de leptine est abaissée de 6.0 ng/ml à 2.4 ng/ml chez des juments traitées par un agoniste adrénergique, le clenbuterol pendant environ un mois (McManus & Fitzgerald, 2003). La précocité de l'œstrus saisonnier observée chez les jeunes juments serait liée à des taux faibles de leptine dans le plasma sanguin (Fitzgerald & McManus, 2000). Mais l'injection par voie veineuse de leptine n'a aucun effet ni sur la prise alimentaire ni sur la fonction de reproduction. Dans le sang, la leptine est effectivement liée à des protéines spécifiques de transport « serum leptin interactive proteins » (SLIP), de haute affinité (Chen *et al.* 2006) et ses concentrations plasmatiques évaluées par dosage radioimmunologique (RIA), par ailleurs très délicat à mettre en œuvre, ne sont pas un bon indicateur de son efficacité au niveau central. La leptine circulante est reconnue par des récepteurs spécifiques de la barrière hémato-encéphalique qui permettent le passage actif de la leptine du sang vers le système nerveux central en liaison avec la saison (Adam *et al.* 2006). La leptine, injectée dans le 3<sup>e</sup> ventricule des Ovis, contrebalance les effets induits par le jeûne sur les sécrétions de LH, (Henry *et al.* 2001; Henry *et al.* 2004; Polkowska *et al.* 2006) et induit une augmentation des concentrations sanguines de GH. Elle constitue probablement un des messages renseignant le système nerveux central sur l'état corporel pour interagir avec la saison sur les mécanismes centraux de la fonction de reproduction.

#### **Hormone de croissance (GH) et Insuline like Growth Factor 1 (IGF-1)**

La GH agit principalement sur l'ovaire en favorisant l'action des gonadotrophines (Hull & Harvey, 2002; Scacchi *et al.* 2003). L'IGF-1 est le principal médiateur de l'action de la GH et assure une rétroaction négative sur la sécrétion de GH. Cette rétroaction est réglée par l'IGFBP1 (Cingel-Ristic *et al.* 2004). Les concentrations plasmatiques d'IGF-1 sont assez stables (Popot *et al.* 2001; Brand-Miller *et al.* 2005) et sont modulées par le niveau de l'alimentation (Bossis *et al.* 2000); lors de restriction alimentaire, la concentration plasmatique d'IGF-1 est faible, celle de GH est élevée (Dauncey *et al.* 1994). Par ailleurs, l'existence de récepteurs de l'IGF-1 dans l'hypothalamus est démontrée (Daftary & Gore, 2005). Chez des juments ayant une note élevée de l'état corporel, la permanence de la cyclicité est associée à des concentrations plasmatiques d'IGF-1 supérieures à celles des juments en œstrus, présentant une faible note d'état corporel (Gentry *et al.* 2002c): le système GH/IGF-1 serait impliqué dans le déterminisme de l'œstrus dans les périodes de restriction alimentaire.

#### **Oestradiol**

L'œstradiol est efficace pour supprimer la sécrétion de LH chez les brebis ovariectomisées et sous-alimentées (Foster & Olster, 1985). Avec une alimentation restreinte (l'Anson *et al.* 2000) ou une balance énergétique négative, la fréquence et l'amplitude des pulses de LH sont diminuées et l'inhibition de l'axe gonadotrope est encore augmentée par l'administration locale

d'œstradiol dans l'hypothalamus ventromédian (McManus *et al.* 2005). Le mécanisme par lequel la sous-alimentation accroît la capacité de l'œstradiol à inhiber la reproduction pourrait passer par une augmentation du nombre de cellules de l'hypothalamus exprimant les récepteurs de l'œstradiol (Hileman *et al.* 1999).

#### **Hormones thyroïdiennes T3 - T4**

Chez les Oiseaux et de nombreuses espèces de Mammifères, le rôle des hormones thyroïdiennes dans le contrôle de la saisonnalité de la reproduction a été établi (Nicholls *et al.* 1988; Moenter *et al.* 1991). Chez la brebis, la thyroïdectomie bloque la transition entre la saison de reproduction et l'œstrus. L'effet de la thyroïdectomie peut être entièrement compensé par l'administration de thyroxine exogène (Webster *et al.* 1991; Viguié *et al.* 1998). Chez la jument, contrairement à la brebis, la thyroïdectomie n'empêche pas la survenue de l'œstrus saisonnier (Porter *et al.* 1995). Par contre, les taux plasmatiques d'hormones thyroïdiennes sont significativement plus faibles chez les juments en œstrus que chez celles qui continuent à manifester des chaleurs pendant la saison anovulatoire (Fitzgerald & Davison, 1998). Les travaux auxquels nous avons collaboré (Huszenicza *et al.* 2000) ont confirmé ces résultats et mis en évidence un rythme journalier de sécrétion de T3 et T4. Chez la jument, les hormones thyroïdiennes semblent jouer un rôle moindre dans le contrôle de la saisonnalité de la reproduction que chez la brebis.

## **CONCLUSION**

Chez les Équidés, la photopériode synchronise, par l'intermédiaire de la sécrétion de mélatonine, l'inactivité ovulatoire saisonnière avec les jours courts de l'année. Cette synchronisation agirait principalement sur un rythme annuel endogène dont les mécanismes moléculaires sont actuellement ignorés. Un traitement par des jours longs artificiels en hiver permet d'avancer le rythme annuel de reproduction en agissant sur le rythme endogène. Synchronisé avec les saisons par la photopériode, ce rythme endogène détermine donc un intervalle de temps entre l'équinoxe d'automne et celui du printemps, durant lequel s'installe l'inactivité. En aucune manière, chez la jument, ce rythme endogène n'a par lui-même un effet inhibiteur de l'activité ovulatoire. L'état métabolique induit l'inactivité hivernale pendant le laps de temps déterminé par le rythme endogène et en détermine la durée. L'inactivité ovarienne est bien la conséquence d'une interaction entre la photopériode et le métabolisme.

Pour l'éleveur, la photostimulation est une méthode simple à mettre en place et robuste par rapport aux incidents qui pourraient survenir. Mais il n'a actuellement pas de méthode éprouvée pour mettre des juments maigres à la reproduction avant le mois de mai. Il est, en effet, illusoire de vouloir les photostimuler en inactivité hivernale, sans conjointement améliorer leur état d'engraissement.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adam, C.L., Finley, P.A., Miller, D.W. 2006. Blood-brain leptin transport and appetite and reproductive neuroendocrine responses to intracerebroventricular leptin injection in sheep: influence of photoperiod. *Endocrinology* 147: 4589–4598.
- Beam, S.W. & Butler, W.R. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 54: 411–424.
- Bossis, I., Wettemann, R.P., Welty, S.D., Vizcarra, J., Spicer, L.J. 2000. Nutritionally induced anovulation in beef Heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biol Reprod.* 62: 1436–1444.
- Brand-Miller, J.C., Liu, V., Petocz, P., Baxter, R.C. 2005. The glycemic index of food influences postprandial insulin-like growth factor-binding protein responses in lean young subjects. *The American journal of clinical nutrition* 82: 350–354.
- Buff, P.R., Dodds, A.C., Morrison, C.D., Whitley, N.C., McFadin, E.L., Daniel, J.A., Djiane, J., Keisler, D.H. 2002. Leptin in horses: tissue localisation and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. *J.Anim. Sci.* 80: 2943–2948.
- Burkhardt 1947. Transition from anestrus in the mare and the effects of artificial lighting. *Journal of Agricultural Science Camb* 37: 64–68.
- Cagampang, F.R.A., Cates, P.S., Sandhu, S., Strutton, P.H., McGarvey, C., Coen, C.W., O'Byrne, K.T. 1997. Hypoglycaemia-Induced Inhibition of Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion in Female Rats: Role of Oestradiol, Endogenous Opioids and the Adrenal Medulla. *Journal of Neuroendocrinology* 9: 867–872
- Carnevale, E.M. & Ginther, O.J. 1997. Age and pasture effects on vernal transition in mares. *Theriogenology* 47: 1009–1018.
- Chen, K., Li, F., Li, J., Cai, H., Strom, S., Bisello, A., Kelley, D.E., Friedman-Einat, M., Skibinski, G.A., McCrory, M.A. et al. 2006. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. *Nature Medicine* 12: 425–432.
- Cingel-Ristic, V., Van Neck, J.W., Frystyk, J., Drop, S.L., Flyvbjerg, A. 2004. Administration of human insulin-like growth factor-binding protein-1 increases circulating levels of growth hormone in mice. *Endocrinology* 145: 4401–4407.
- Colquhoun, K.M., Eckersall, P.D., Renton, J.P., Douglas, T.À., 1987. Control of breeding in the mare. *Equine Vet J.* 19: 138–142.
- Daftary, S. S., & Gore, A.C. 2005. IGF-1 in the brain as a regulator of reproductive neuroendocrine function. *Exp Biol Med.* 230: 292–306.
- Dauncey, M.J, Burton, K.A, White, P, Harrison, A.P., Gilmour, R.S., Duchamp, C., Cattaneo, D., 1994. Nutritional regulation of growth hormone receptor gene expression. *FASEB J.* 8: 81–88.
- Davis, S.D. & Sharp, D.C. 1991. Intra-follicular and peripheral steroid characteristics during vernal transition in the pony mare. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 44:333–340.
- Deichsel, K., Hoppen, H.O., Bruckmaier, R.M., Kolm, G., Aurich, C. 2005. Acute-insulin-induced hypoglycaemia does not alter IGF-I and LH release in cyclic mares. *Reproduction in Domestic Animals* 40: 117–122.
- Downing, J.A. & Scaramuzzi, R.J. 1997. The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. *Theriogenology* 47:747–759.
- Driancourt, M.A. & Palmer, E. 1982. Seasonal and individual effects on ovarian and endocrine responses of mares to a synchronization treatment with progestagen-impregnated vaginal sponges. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 32: 283–291.
- Fitzgerald, B.P. & Davison, L.A. 1998. Thyroxine concentrations are elevated in mares which continue to exhibit estrous cycles during the nonbreeding season. *Journal of Equine Veterinary Science* 18: 48–51.
- Fitzgerald, B.P. & McManus, C.J. 2000. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. *Biol Reprod.* 63: 335–340.
- Fitzgerald, B.P. & Schmidt, M.J. 1995. Absence of an association between melatonin and reproductive activity in mares during the non-breeding season. *Biology of Reproduction Monograph* 1: 425–434.
- Forcada, F. & Abecia, J.A. 2006. The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Reprod Nutr Dev.* 46: 355–365.
- Foster, D.L. & Olster, D.H. 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the lam: patterns of tonic luteinizing hormone (LH) and competency of the LH surge system. *Endocrinology* 116: 375–381.
- Gebbie, F.E., Forsyth, I.A., Arendt, J. 1999. Effects of maintaining solstice light and temperature on reproductive activity, coat growth, plasma prolactin and melatonin in goats. *J Reprod Fertil.* 116: 25–33.
- Gentry, L.R., Thompson, D.L.Jr, Gentry, G.T.Jr, Davis, K.A., Godke, R.A. 2002a. High versus low body condition in mares: interactions with responses to somatotropin, GnRH analog, and dexamethasone. *J Anim Sci.* 80: 3277–3285.
- Gentry, L.R., Thompson, D.L.Jr, Gentry, G.T. Jr, Davis, K.A., Godke, R.A., Cartmill, J.A. 2002b. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *J Anim Sci.* 80:2695–2703.
- Gentry, L.R., Thompson, D.L.Jr, Stelzer, A.M. 2002c. Responses of seasonally anovulatory mares to daily administration of thyrotropin-releasing hormone and (or) gonadotropin-releasing hormone analog. *J Anim Sci.* 80:208–213.
- Ginther, O.J. 1974. Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a twelve-month period in mares. *American Journal of Veterinary Research* 35:1173–1179.
- Ginther, O.J. 1990. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. *J Reprod Fertil.* 90(1):311–320.
- Goubillon, M.L. & Thalabard, J.C. 1996. Insulin-induced hypoglycemia decreases luteinizing hormone secretion in the castrated male rat: involvement of opiate peptides. *Neuroendocrinology* 64:49–56.
- Grubaugh, W.R., Sharp, D.C., Berglund, L.A., McDowell, K.J., Kilmer, D.M., Peck, L.S., Seamans, K.W. 1982. Effects of pinealectomy in pony mares. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 32:293–295.
- Guerin, M.V. & Wang, X.J. 1994. Environmental temperature has an influence on timing of the first ovulation of seasonal estrus in the mare. *Theriogenology.* 42(6):1053–1060.
- Guillaume, D., Arnaud, G., Camillo, F., Duchamp, G., Palmer, E. 1995. Effects of melatonin implants on reproductive status of mares. *Biology of Reproduction Monograph, Series 1:* 435–442.
- Guillaume, D., Duchamp, G., Nagy, P., Palmer, E. 2000. Determination of minimum light treatment required for photostimulation of winter anoestrous mares. *J Reprod Fert. Suppl.* 56:205–216.
- Guillaume, D., Duchamp, G., Bruneau, B., Nagy, P. 2001. L'alimentation est le facteur prédominant de l'installation de l'inactivité ovulatoire hivernale de la jument. In *Comptes rendus de la 27<sup>e</sup> Journée de la Recherche équine*, Paris, 7 mars 2001, pp 3–14. Les Haras Nationaux, Paris.

- Guillaume, D., Rio, N., Toutain, P.L. 1995. Kinetic studies and production rate of melatonin in pony mares. *American Journal of Physiology* 268:R1236–R1241.
- Guillaume, D. & Palmer, E. 1991a. Effect of a quick alteration of long days and short days on gonadotrophin pattern in ovariectomised pony mares. In *Proceedings of the Joint Meeting of the Society for the Study of Fertility and Société Française pour l'étude de la Fertilité*, Paris, 1991/12/13–14. *Journal of Reproduction and Fertility: Abst. Series N°8, Abst. N°45*, p.28.
- Guillaume, D. & Palmer, E. 1991b. Effect of oral melatonin on the date of the first ovulation after ovarian inactivity in mares under artificial photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl* 44:249–257.
- Guillaume, D., Duchamp, G., Salazar-Ortiz, J., Nagy, P. 2002. Nutrition influences the winter ovarian inactivity in mares. In *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Symposium on Equine Reproduction*, Colorado USA. *Theriogenology* 58:593–597.
- Guillaume, D., Nagy, P., Spadetta, M., Duchamp, G., Palmer, E. 1997. Existence of an Endogenous Rhythm of Melatonin Secretion in Mares. In *Proceedings of the International Congress on Chronobiology*, Paris, 7–11 September, *Chronobiology international* 14 Supplement 1. 61
- Guillaume, D., Regnier, E., Arnaud, F., Larry, J.L., Chesnau, D. Malpoux, B. 2006a. Effet d'un éclaircissement permanent sur la reprise de l'activité sexuelle chez la jument. In *Comptes rendus de la 32<sup>e</sup> journée d'étude sur les équidés*, Paris, 1er mars 2006, pp.33–38. Les Haras Nationaux, Paris.
- Guillaume, D., Zarazaga, L., Malpoux, M., Chemineau, P. 2006b. Variability of plasma melatonin level in pony mares (*Equus caballus*), comparison with the hybrid: mules and with jennies (*Equus asinus*) *Reproduction Nutrition Développement* 46:633–639.
- Henneke, D.R., Potter, G.D., Kreider, J.L. 1984. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. *Theriogenology* 21:897–909.
- Henry, B.A., Goding, J.W., Tilbrook, A.J., Dunshea, F.R., Blache, D., Clarke, I.J. 2004. Leptin-mediated effects of undernutrition or fasting on luteinizing hormone and growth hormone secretion in ovariectomized ewes depend on the duration of metabolic perturbation. *J Neuroendocrinol.* 16:244–255.
- Henry, B.A., Goding, J.W., Tilbrooke, A.J., Dunshea, F.R., Clarke, I.J. 2001. Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinizing hormone without affecting food intake in long-term food restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of body weight. *Journal of Endocrinology* 168: 67–77.
- Hileman, S.M., Lubbers, L.S., Jansen, H.T., Lehman, M.N. 1999. Changes in hypothalamic estrogen receptor-containing cell numbers in response to feed restriction in the female lamb. *Neuroendocrinology* 69:430–437.
- Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H., Evans, J.W. 1975. The oestrous cycle of the mare. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 23:161–166.
- Hulet, C.V., Shup W.L., Ross, T., Richards, W. 1986. Effects of nutritionnal environnement and ram effect on breeding season in range sheep. *Theriogenology* 25, 317–323.
- Hull, K.L. & Harvey, S. 2002. GH as a co-gonadotropin: the relevance of correlative changes in GH secretion an reproductive state. *Journal of Endocrinology* 172:1–19.
- Huszenicza, Gy., Nagy, P., Juhász, J., Kóródi, P., Kulcsár, M., Reiczigel, J., Guillaume, D., Rudas, P. Solti, L. 2000. The relationship between thyroid function and expression of seasonal reproductive activity in mares. 2000 *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 56: 163–172.
- l'Anson, H., Manning, J.M., Herbosa, C.G., Pelt, J., Friedman, C.R., Wood, R.I., Bucholtz, D.C., Foster, D.L. 2000. Central inhibition of gonadotropin-releasing hormone secretion in the growth-restricted hypogonadotropic female sheep. *Endocrinology* 141:520–527.
- Isidori, A.M., Strollo, F., Morè, M., Caprio, M., Aversa, A., Moretti, C., Frajese, G., Riondino, G., Fabbri, A. 2000. Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights. *J Clin Endocrinol Metab.* 85(5):1954–1962.
- Karsch, F.J., Robinson, J.E., Woodfill, C.J.I., Brown, M.B. 1989. Circannual cycles of luteinizing hormone and prolactin secretion in ewes during prolonged exposure to a fixed photoperiod: Evidence for an endogenous reproductive rhythm. *Biol Reprod.* 41:1034–1046.
- Kilmer, D.M., Sharp, D.C., Berglund, L.A., Grubaugh, W., McDowell, K.J., Peck, L.S. 1982. Melatonin rhythms in pony mares and foals. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 32:303–307.
- Klein, D.C., 1985. Photoneural regulation of the Mammalian pineal gland. *Photoperiodism melatonin and the pineal.* London. Ciba Foundation symposium. 117: 38–56.
- Kooistra, L.H. & Ginther, O.J. 1975. Effect of photoperiod on reproductive activity and hair in mares. *American Journal of Veterinary Research.* 36:1413–1419.
- Koskinen, E. & Katila, T. 1991. Onset of luteal activity in non-foaling mares during the early breeding season in Finland. *Acta Vet Scand.* 32(3):319–325.
- Koskinen, E., Kurki, E., Katila, T. 1991. Onset of luteal activity in foaling and seasonally anoestrous mares treated with artificial light. *Acta Vet Scand.* 32(3):307–312.
- Kubiak, J.R., Crawford, B.H., Squires, E.L., Wrigley, R.H., Ward, G.M. 1987. The influence of energy intake and percentage body fat on the reproductive performance of nonpregnant mare. *Theriogenology* 28:587–598.
- Landau, S., Houghton, J.A., Mawhinney, J.R., Inskeep, E.K. 1996. Protein sources affect follicular dynamics in ewes near the onset of the breeding season. *Reprod Fertil Dev.* 8:1021–1028.
- Langlois, B. & Blouin, C. 1997. Effect of a horse's month of birth on its future sport performance. I Effect on annual phenotypic indices *Ann Zootech.* 46:393–398.
- Langlois, B. & Blouin, C. 1998. Effect of a horse's month of birth on its future sport performance. II Effect on annual earning and annual earning per start *Ann Zootech.* 47:67–74.
- Langlois, B. & Blouin, C. 2004. Statistical analysis of some factors affecting the number of horse birth in France. *Reproduction Nutrition Development* 44:583–596.
- Legros, C., Salazar-Ortiz, J. Guillaume, D., 2003. Photostimulation de la jument : la technique supporte-t-elle des accidents durant l'éclaircissement ? In *Comptes rendus de la 29<sup>e</sup> Journée de la Recherche Équine*, Paris, 26 février 2003, pp 1–10. Les Haras Nationaux, Paris.
- Magistrini, M., Chanteloube, P., Palmer, E., 1987. Influence of season and frequency of ejaculation on production of stallion semen for freezing. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 35:127–133.
- Malpoux, B., Daveau, A., Maurice, F., Gayard, V., Thiery, J.C. 1993. Short days effects of melatonin on LH secretion in the ewe : evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. *Biol Reprod.* 48: 752–760.
- McDaniel, J.B., Kreider, J.L., Thrasher, D.M. 1979. The influence of artificial light and a nutritional supplement on the onset of the breeding season in mares. *Journal of Animal Science* 49 Supplement 1:54–55 (abstract 141).
- McKinnon, A.O., Vasey, J.R., Lescun, T.B., Trigg, T.E. 1997. Repeated use of a GnRH analogue deslorelin (Ovuplant) for hastening ovulation in the transitional mare *Equine. Vet J.* 29:153–155.



- McManus, C.J., Davison, L.A., Fitzgerald, B.P. 2002. Effect of 2-deoxy-D-glucose on gonadotropins, prolactin and serum glucose concentrations in the mare. *Anim Reprod Sci.* 71:217–228.
- McManus, C.J. & Fitzgerald, B.P. 2003. Effect of daily clenbuterol and exogenous melatonin treatment on body fat, serum leptin and the expression of seasonal anoestrus in the mare. *Anim Reprod Sci.* 76:217–230.
- McManus, C.J., Goodman, R.L., Lianza, N.V., Valent, M., Dobbins, A.B., Connors, J.M., Hileman, S.M. 2005. Inhibition of luteinizing hormone secretion by localized administration of estrogen, but not dihydrotestosterone, is enhanced in the ventromedial hypothalamus during feed restriction in the young wether. *Biol Reprod.* 73:781–789.
- Moenter, S.M., Woodfill, C.J.I., Karsch, F.J. 1991. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction: Thyroidectomy blocks seasonal suppression of reproductive neuroendocrine activity in ewes *Endocrinology* 128:1337–1344.
- Morton, G.J., Cummings, D.E., Baskin, D.G., Barsh, G.S., Schwartz, M.W. 2006. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443:289–295.
- Nagy, P., Huszenicza, G., Juhasz, J., Kulcsar, M., Solti, L., Reiczgel, J., Abavary, K., 1998. Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm conditions. *Theriogenology* 50:1109–1119.
- Nagy, P., Huszenicza, Gy., Juhasz, J., Solti, L., Kulcsar, M. 1998. Diagnostic problems associated with ovarian activity in barren and postpartum mares early in the breeding season *Reproduction in Domestic Animals* 33:187–192.
- Nelson, R.J. & Drazen, D.L. 1999. Melatonin mediates seasonal adjustment in immune function. In *Proceedings of the 8<sup>th</sup> meeting of the European Pineal Society*, Tours, 3 au 7 juillet 1999. *Reproduction Nutrition Développement* 39:383–398.
- Nicholls, T.J., Goldsmith, A.R., Dawson, A. 1988. Photorefractoriness in birds and comparison with mammals. *Physiology Review* 68:133–176.
- Nishikawa, Y., 1959. *Studies on reproduction in horses*. Jap. Racing Ass., Shiba Tamuracho Minatokou, Tokio.
- Ohkura, S., Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Tsukamura, H., Maeda, K.I., Foster, D.L. 2000. Central, But Not Peripheral, Glucose-Sensing Mechanisms Mediate Glucoprivic Suppression of Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion in the Sheep. *Endocrinology* 141:4472–4480.
- Palmer, E. & Guillaume, D. 1992. Photoperiodism in the equine species - what is a long night? *Animal Reproduction Science* 28:21–30.
- Palmer, E., Driancourt, M.A., Ortavant, R. 1982. Photoperiodic stimulation of the mare during winter inactivity *Journal of Reproduction and Fertility* 32:275–282.
- Palmer, E., & Driancourt, M.A. 1983. Some Interactions of Season of Foaling, Photoperiod and Ovarian Activity in the Equine. *Livestock Production Science.* 10: 197–210.
- Peltier, M. R., Robinson, G. Sharp, D.C. 1998. Effects of melatonin implants in pony mares. 2. Long-term effects. *Theriogenology.* 49:1125–1142.
- Polkowska, J., Wojcik-Gladysz, A., Warikowska, M. 2006. The effect of intracerebroventricular infusions of leptin on the immunoreactivity of neuropeptide Y and gonadotrophin releasing hormone neurons in the hypothalamus of prepubertal sheep in condition of fasting. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 32:65–73.
- Popot, M.A., Bobin, S., Bonnaire, Y., Delahaut, P.H., Closset, J. 2001. IGF-I plasma concentrations in non-treated horses and horses administered with methionyl equine somatotrophin. *Research in veterinary science* 71:167–173.
- Porter, M.B., Cleaver, B., Robinson, G., Peltier, M., Shearer, L.C., Dahl, G.E. Sharp, D.C. 1995. A comparative study examining the role of the thyroid in seasonal reproduction in pony mares and ewes. In *Proceedings of the annual meeting of the Society for the Study of Reproduction*, Davis CA July 9–12 1995 *Biology of Reproduction* 52 Suppl. 1: Abst 312.
- Rollag, M.D., Morgan, R.J., Niswender, G.D., 1978. Route of melatonin secretion in sheep. *Endocrinology* 102: 1–8.
- Roser, J.F., Valcheck, D.E., Lasley, B.L., Liu, I.K.M., Kojusner, G. Taya, K. 1997. Minimizing the incidence of endometritis by predicting the first ovulation of the year. In *Proceedings of International Conference on Equine Endometritis/Endometrosis*, German Veterinary Society, Hannover, Leipzig, October 1997. *Pferdeheilkunde* 13:539
- Salazar-Ortiz, J. & Guillaume, D. 2005. La date de la première ovulation annuelle de la jument, peut-elle être avancée en agissant sur la ration alimentaire à partir de l'automne ? In *Comptes rendus de la 31<sup>e</sup> Journée de la Recherche Équine*, Paris, 2 mars 2005, pp 69–81. Les Haras Nationaux, Paris .
- Scacchi, M., Pincelli, A.I., Cavagnini, F. 2003. Nutritional status in the neuroendocrine control of growth hormone secretion: the model of anorexia nervosa. *Frontiers in Neuroendocrinology* 24:200–224.
- Schneider, JE, Friedenson, DG, Hall, AJ, Wade, GN, 1993. Glucoprivation induces anoestrus and lipoprivation may induce hibernation in Syrian hamsters. *Am J Physiol.* 264:R573–R577.
- Scraba, S.T. & Ginther, O.J. 1985. Effects of lighting programs on onset of the ovulatory season in mares. *Theriogenology.* 24:667–679.
- Seamans, K,W, & Sharp, D.C. 1982. Changes in equine follicular aromatase activity during transition from winter anoestrus *J Reprod Fert. Suppl.* 32 225–233.
- Sharp, D.C., Vernon, M.W., Zavy, M.T. 1979. Alterations of seasonal reproductive patterns in mares following superior cervical ganglionectomy *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 27:87–93.
- Sharp, D.C., Grubaug, W., Berglund, L.Å., Seamans, K.W., 1980. Isoproterenol-stimulation of melatonin release in mares. In *Proceedings of the 72nd Annual meeting of the American Society of Animal Science*, July 27–30 1980, New York. *J. Anim. Sci.* 51 (Sup. 1): Abst. 534.
- Sharp, D.C., Grubaug, W.R., Gum, G.C., Wirsig, C.R., 1984. Demonstration of a direct retinohypothalamic projection in the mare. In *Proceedings of the 17<sup>th</sup> annual meeting of the Society for the study of reproduction*, University of Wyoming Laramie, Wyoming USA, July 23–26 1984 Abst. 252.
- Skinner, D.C. & Malpoux, B. 1999. High melatonin concentrations in the third ventricular cerebrospinal fluid are not due to galen vein blood recirculating through the choroid plexus *Endocrinology* 140: 4399–4405.
- Spadetta, M., Guillaume, D., Palmer, E., 1995. Immediate adaptation of melatonin secretion to light-dark cycle in equine species. In *Proceedings of the World Conference on Chronobiology and Chronotherapeutics*, Ferrara Italia. September 6–10 1995. *Biol Rhythm Research* 26: Abst. 222.
- Stankov, B., Cozzi, B., Lucini, V., Fumagalli, P., Scaglione, F., Fraschini, F. 1991. Characterization and mapping of melatonin receptors in the brain of three mammalian species: rabbit, horse and sheep *Neuroendocrinology* 53:214–221.
- Tricoire, H., Moller, M., Chemineau, P. Malpoux, B., 2003. Origin of cerebrospinal fluid melatonin and possible function in the integration of photoperiod. *Reprod. Suppl.* 61:311–321.
- Van Niekerk, C.H. & Van Heerden, J.S. 1972. Nutrition and ovarian activity of mares early in the breeding season. *Journal of the South African Veterinary Medical Association* 43:351–360.



- Van Niekerk, F.E. & Van Niekerk, C.H. 1997. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. III. Ovarian and uterine changes during the anovulatory season, transitional and ovulatory periods in the non-pregnant mare *Journal of the South African Veterinary Medical Association* 68:86–92.
- Viguié, C., Picard, S., Thiéry, J.C., Malpoux, B. 1998. Blockade of tyrosine hydroxylase activity in the median eminence partially reverses the long day-induced inhibition of pulsatile LH secretion in the ewe *Journal of Neuroendocrinology* 10:551–558.
- Wade, G.N. & Schneider, J.E. 1992. Metabolic fuels and reproduction in female mammals. *Neurosci Biobehav Rev.* 16:235–272.
- Webster, J.R., Moenter, S.M., Woodfill, C.J.I., Karsch, E.J. 1991. Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thyroxine allows a season-specific suppression of gonadotropin secretion in sheep *Endocrinology* 129: 176–183.
- Westrin, A. & Lam, R.W. 2007. Long-term and preventative treatment for seasonal affective disorder. *CNS Drugs* 21:901–909.
- Zarazaga, L.A., Guzman, J.L., Dominguez, C., Perez, M.C., Prieto, R. 2005. Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Anim Reprod Sci.* 87:253–267.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M., 1994. Positional cloning of mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372 :425–432.