

Article original

# Lumière, mélatonine et reproduction chez la jument

D Guillaume, E Palmer

INRA, physiologie de la reproduction, 37380 Nouzilly, France

(Reçu le 30 mai 1991, accepté le 15 octobre 1991)

**Résumé** — Les juments présentent une inactivité ovarienne hivernale pendant les jours courts. Un traitement lumineux par des jours longs permet d'avancer la date de sortie d'inactivité. Cette photostimulation doit impérativement commencer après une période de jours courts restaurant la sensibilité aux jours longs. Deux expériences ont permis d'étudier l'effet de la mélatonine exogène, sur la date de sortie de l'inactivité ovarienne de femelles Poney Welsh, en fonction de son moment de distribution au cours de 24 h. Dans la première expérience, 12 mg de mélatonine donnés 4 h avant une nuit courte ont retardé la date de la première ovulation, un effet semblable à celui des jours courts. Par contre, la même dose donnée le matin a été sans effet. Dans la deuxième expérience, la même dose répartie en 7 prises pendant 13 h 30 retarde la première ovulation de l'année de juments sous jours longs. Les résultats de ces expériences indiquent que le premier taux plasmatique élevé de mélatonine est lu systématiquement comme le début de la nuit. Un taux bas 10 h plus tard, a un effet stimulateur; au contraire un taux élevé à ce moment retarde la première ovulation.

**jument / œstrus / photopériode / mélatonine**

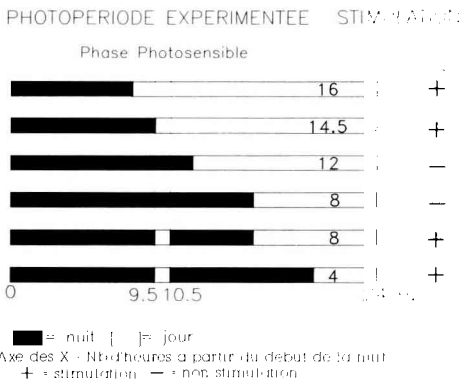
**Summary** — **Light, melatonin and reproduction in the mare.** *Mares present a winter period of ovarian inactivity during short days (SD). A lighting treatment consisting of long days (LD) allows the date of the end of inactivity to be advanced. This photostimulation must begin after a period of SD which restores the sensitivity to LD. Two experiments have been carried out to test the effect of exogenous melatonin on the date of the end of ovarian inactivity in Welsh Pony mares with reference to its hour of administration. In the first experiment, 12 mg of melatonin given 4 h before a short night delayed the date of the first ovulation, an effect similar to that of a long night. On the other hand, the same dose given in the morning was ineffective. In the second experiment, the same total dose given in the form of 7 administrations to ensure elevated levels for 13.5 h delayed the first ovulation of the year in mares held under short nights. The results of these experiments indicate that the first elevated plasma level of melatonin is systematically read as the onset of night. A low level 10 h later has a stimulatory effect. On the other hand, an elevated level at this time delayed the first ovulation.*

**mare / anoestrus / photoperiod / melatonin**

**INTRODUCTION**

Les juments présentent une période d'inactivité ovarienne commençant vers octobre pour s'achever fin avril. Cette inactivité est observée chez toutes les juments de 2-3 ans, ainsi que chez les juments adultes ayant mis bas dans l'année et suivées et seulement la moitié des adultes non suivées.

On connaît depuis longtemps l'effet de la lumière sur l'avance de la date de la première ovulation (Burkardt, 1947, Nishikawa, 1959). Le rôle de l'éclairement sur la reprise de l'activité ovarienne de ponnettes a été étudié par divers auteurs (Sharp *et al*, 1975; Palmer et Driancourt, 1981; Malinovsky *et al*, 1985; Scraba et Ginther, 1985). La stimulation maximale de l'activité ovarienne est obtenue par 14 h 30 de lumière et 9 h 30 d'obscurité; moins de 13 h et plus de 16 h de lumière ne sont pas stimulants. Une seule h d'éclairement artificiel peut suffire, à condition qu'elle soit appliquée à un moment particulier : 9 h 30 après la tombée de la nuit. Une phase «photosensible» est ainsi définie (fig 1).



**Fig 1.** Effets de différentes photopériodes expérimentales sur la stimulation de l'activité ovarienne chez la jument.

Des juments maintenues sous jours longs à partir du solstice d'été, puis pendant tout l'hiver, présentent une période d'inactivité comparable à des juments subissant les variations naturelles de la photopériode. L'exposition à des jours courts est donc indispensable pour restaurer la sensibilité aux jours longs chez la jument comme chez d'autres espèces (Palmer *et al*, 1982; Scraba et Ginther, 1985). Pour placer les animaux en jours courts au printemps et en été, il est nécessaire d'utiliser des bâtiments étanches à la lumière extérieure. L'utilisation de traitements avec de la mélatonine, une hormone sécrétée uniquement pendant la nuit et qui transmet l'information photopériodique à l'axe hypothalamohypophysaire, pourrait permettre de s'affranchir de cette difficulté. En effet, une distribution adéquate de mélatonine devrait permettre de mimer l'action des jours courts. C'est ce que nous avons voulu démontrer dans les expériences décrites ci-après.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES COMMUNES**

On utilise des jeunes juments ou des adultes ayant allaité un poulain l'été précédent en inactivité ovarienne hivernale. Elles sont 5 par lot dans un box étanche à la lumière extérieure. Une lampe à incandescence de 200 W assure un éclairage de 40 Lux. Pendant la phase claire, les animaux ont accès à un paddock de détente.

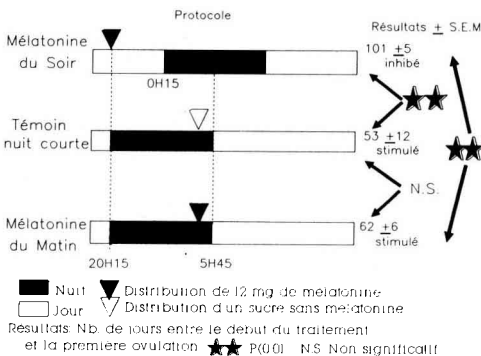
La cyclicité des juments est observée par des dosages hebdomadaires ou bihebdomadaires radio-immunologiques de la progestérone plasmatique à jour fixe (Terqui et Thimonier, 1974). Une jument est considérée comme étant en phase lutéale lorsque le taux de progestérone plasmatique est > 2 ng/ml. Ce taux est normalement atteint dans les 24-48 h suivant l'ovulation constatée par palpation rectale (Palmer et Jousset, 1975). Une ponette est considérée comme en inactivité ovarienne lorsque le taux de progestérone est < 2 ng/ml pendant au moins 4 semaines. Avec des prélèvements bihebdomadaires, la date de l'ovulation est connue à 2 j près.

Une solution alcoolique de mélatonine est déposée sur un morceau de sucre cristallisé distribué aisément. La dose de 12 mg, déterminée lors une expérience antérieure, suffit à créer un taux plasmatique  $\geq$  aux taux endogènes nocturnes, pendant au moins 4 h. Avant l'expérience, les juments sont conditionnées à manger spontanément les morceaux de sucre. Durant les 2 expériences, la distribution a été automatisée pour pouvoir être réalisée pendant la phase obscure. Les ponettes sont attachées chaque soir devant leur mangeoire, située sous le distributeur individuel.

À la fin de chaque expérience, des prises de sang sont effectuées toutes les h, pendant 24 h. Pendant la nuit elles sont effectuées sous un éclairage rouge très réduit n'affectant pas la sécrétion de mélatonine (Pévet *et al*, 1989). La mélatonine est dosée par radio-immunologie avec un anticorps spécifique (Tillet *et al*, 1986; Guillaume et Palmer, 1991).

### DISTRIBUTION D'UNE DOSE UNIQUE DE MÉLATONINE EN FIN DE JOUR OU EN FIN DE NUIT

L'objectif de cette expérience est de vérifier que la distribution de mélatonine le soir avant une nuit courte ou le matin juste avant la fin d'une nuit courte peut inhiber l'activité ovulatoire de la même façon qu'une nuit longue.



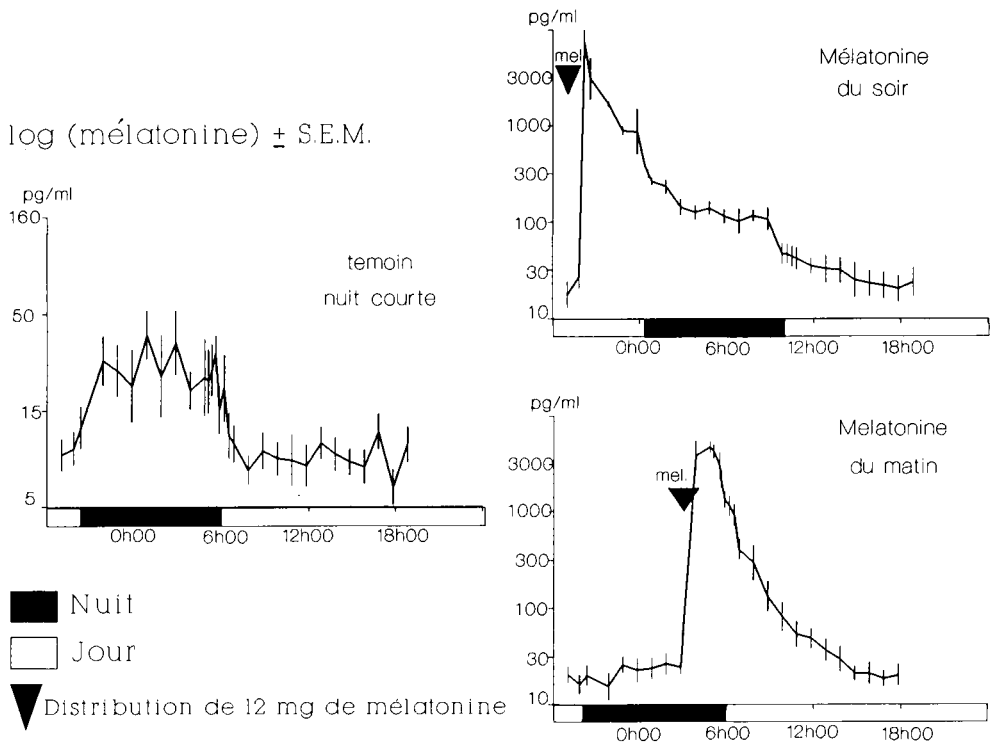
**Fig 2.** Effets de l'administration de mélatonine en dose unique en fin de jour ou en fin de nuit, sur l'activité ovarienne chez la jument.

Les 3 lots ont la même durée totale d'éclairage : 14 h 30 (fig 2). Le lot témoin reçoit un sucre sans mélatonine le matin 45 min avant l'allumage. Le lot «mélatonine du matin» reçoit la mélatonine le matin, à la même heure. Le lot «mélatonine du soir» reçoit la mélatonine le soir, 4 h avant l'extinction. Les horaires des différentes opérations sont choisis de telle sorte que l'augmentation de la mélatonine plasmatique, d'origine exogène ou endogène, soit synchrone dans les 3 lots. L'expérience débute le 28 décembre 1988.

L'intervalle moyen entre le début de l'expérience et la date de la première ovulation du lot «témoin» est de  $53 \pm 12$  jours, celui du lot «mélatonine du soir» de  $101 \pm 5$  j et celui du lot «mélatonine du matin» de  $62 \pm 6$  j (fig 2).

Ainsi, la distribution de mélatonine le soir 4 h avant la fin d'un jour long supprime l'effet stimulant de ce dernier sur l'activité ovulatoire et permet de mimer l'effet des jours courts. Inversement, la distribution de mélatonine le matin ne modifie pas la stimulation par les jours longs.

Les variations de la mélatonine plasmatique au cours de 24 h sont représentées sur la figure 4. Chez les animaux ne recevant pas de mélatonine, la concentration nocturne est plus élevée que la concentration diurne. L'augmentation de sécrétion commence lors de l'extinction de la lumière et la diminution semble commencer juste avant l'allumage sur la figure 3. Chez les animaux recevant 12 mg de mélatonine, le niveau atteint est extrêmement élevé ( $> 4\ 000$  pg/ml) par rapport au niveau nocturne des animaux non traités ( $< 150$  pg/ml). La concentration la plus élevée est atteinte 15 min après la distribution. Dans le groupe «mélatonine du soir», le taux est élevé jusqu'à l'extinction et semble être prolongé par la sécrétion nocturne; la décroissance du taux de mélatonine est plus lente dans ce lot que dans le lot «mélatonine du matin». Dans ce der-



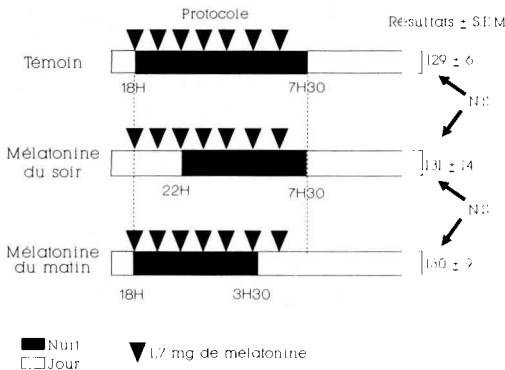
**Fig 3.** Concentrations plasmatiques de mélatonine chez des juments témoins ou recevant 12 mg de mélatonine en dose unique, en fin de jour ou en fin de nuit (adapté de Guillaume et Palmer, 1991).

nier, probablement du fait d'une concentration encore élevée en fin de journée, la différence entre les concentrations plasmatiques avant et après l'extinction n'est pas statistiquement significative.

L'activité ovarienne du lot «mélatonine du soir» est nettement inhibée par rapport au lot témoin, ce qui confirme l'effet inhibiteur de la mélatonine distribuée le soir, obtenu antérieurement (Guillaume et Palmer, 1991). La mélatonine exogène distribuée le soir crée donc une «nuit pharmacologi-

que» qui précède la nuit réelle et permet de mimer l'effet des jours courts sur l'activité ovarienne. Les ponettes du lot «mélatonine du matin» et celles du lot témoin présentent une sortie d'anœstrus à peu près simultanée. Cette absence d'effet de la distribution de mélatonine du matin, peut être expliquée par 2 hypothèses :

- la phase photosensible du matin n'est pas affectée par le taux de mélatonine circulante et dépend directement de la lumière;



Résultats (N) : de jour entre le début du traitement et la première ovulation (N.S. = non significatif)

**Fig 4.** Effets de l'administration de mélatonine en doses fractionnées, sur l'activité ovarienne chez la jument.

– la dose très importante de mélatonine exogène utilisée est lue comme le début de la nuit, ce qui entraîne un décalage de phase du rythme journalier des juments. Le taux de mélatonine exogène circulant est, en effet, redescendu 10 h après cette distribution, ce qui crée une situation analogue aux jours longs.

Les courbes de mélatonine plasmatique semblent privilégier l'hypothèse d'un déplacement du rythme journalier par la distribution de mélatonine du matin, une deuxième expérience a donc été conçue pour éliminer 1 des 2 hypothèses.

### DISTRIBUTION D'UNE DOSE FRACTIONNÉE DE MÉLATONINE

Quinze ponettes en inactivité ovarienne sont réparties en 3 lots. Les 3 lots reçoivent la même distribution de mélatonine, soit 12 mg répartis également sur 7 sucres (1,7 mg/sucre). Ces sucres sont distribués

toutes les 1 h 55 min. Dans le lot témoin, une nuit longue de 13 h 30 couvre toute la période de présence de la mélatonine, dans le lot «mélatonine du soir» une nuit courte de 9 h 30 commence 4 h après la première distribution. Le troisième lot «mélatonine du matin» a une nuit courte de 9 h 30 commençant en même temps que la première distribution et se terminant avant la fin de l'effet de la mélatonine exogène (fig 4).

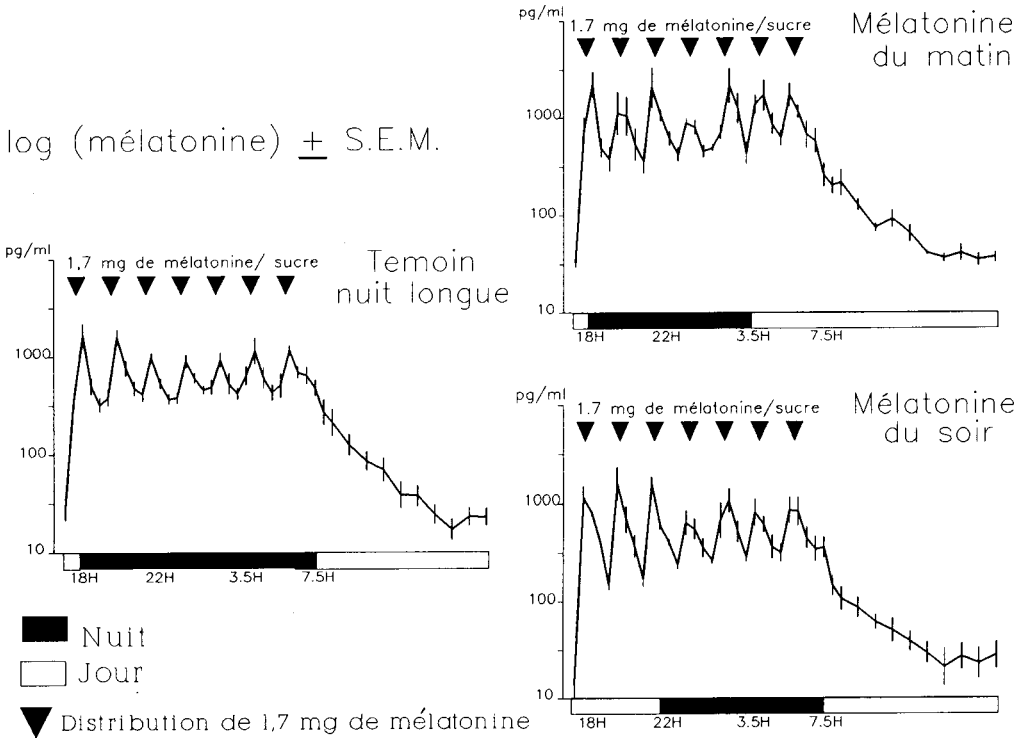
L'intervalle entre le début du traitement et la première ovulation est identique dans les 3 lots ( $129 \pm 6$  j,  $131 \pm 14$  et  $130 \pm 9$ , respectivement pour les lots témoin, «mélatonine du soir» «mélatonine du matin» ; fig 4). Cet intervalle correspond à celui obtenu avec des jours courts.

Les variations plasmatiques de mélatonine sont représentées dans la figure 6. Les courbes sont similaires dans les 3 lots. Globalement le traitement a permis d'obtenir une longue durée avec des taux élevés de mélatonine sont représentés sur la figure 5. Les variations correspondantes à la sécrétion endogène sont masquées dans les 3 lots.

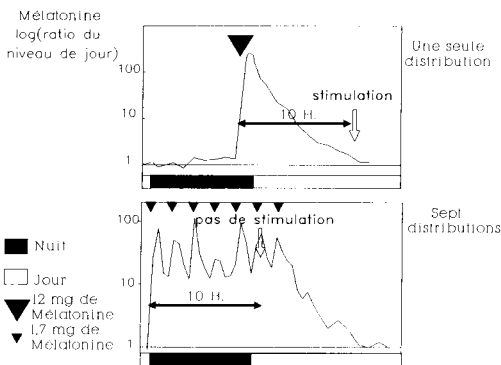
La perception de début de nuit par les juments, correspond à la première distribution de mélatonine. Dix heures plus tard le taux de mélatonine est toujours élevé et la jument n'est pas photostimulée même si la lumière est présente. L'hypothèse de l'absence d'effet de la mélatonine pendant la phase photosensible est ainsi écartée.

### CONCLUSION

La mélatonine donnée à la dose de 12 mg/j, 4 h avant une nuit de 9 h 30 crée une situation de jours courts qui se manifeste par une sortie d'inactivité ovarienne tardive.



**Fig 5.** Concentrations plasmatiques de mélatonine en doses fractionnées, sur l'activité ovarienne chez la jument.



**Fig 6.** Comparaison des deux groupes «Mélatonine du matin», recevant une dose unique (en haut) ou une dose fractionnée (en bas) de mélatonine.

Par contre la même dose donnée en une fois, le matin, ne retarde pas la première ovulation. Cette absence d'effet est probablement due à une trop forte dose, puisque quand elle est distribuée en 7 fractions, la première distribution est lue comme le début de la nuit et les dernières distributions maintiennent élevé le taux de mélatonine, 10 h après, et la première ovulation est retardée (fig 6). La mélatonine distribuée le soir permet donc de mimer des jours courts alors que l'éclaircissement est long.

## RÉFÉRENCES

- Burkardt J (1947) Transition from anoestrus in the mare and the effect of artificial lighting. *J Agric Sci Camb* 37, 64-68
- Guillaume D, Palmer E (1991) Effect of oral melatonin on the date of the first ovulation after ovarian inactivity of mares under artificial photoperiod. *J Reprod Fertil*, Suppl 44, 249-257
- Malinowski K, Johnson AL, Scanes CG (1985) Effects of interrupted photoperiods on the ovulation in anoestrous mares. *J Anim Sci* 61, 4, 951-955
- Nishikawa Y (1959) *Studies on reproduction in horses*. Jpn Racing Assoc, Shiba Tamuracho Minatokou, Tokyo, 43-48
- Palmer E, Driancourt MA (1981) Photoperiodic stimulation of the winter anoestrous mare: what is a long day? *In: Photoperiodism and reproduction*, Nouzilly, France, 24-25 September (R Ortavant, J Pelletier, JP Ravault eds), INRA Paris, 67-82
- Palmer E, Driancourt MA, Ortavant R (1982) Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrous. *J Reprod Fertil Suppl* 32, 275-282
- Palmer E, Jousset B (1975) Urinary oestrogen and plasma progesteron levels in non-pregnant mares. *J Reprod Fertil Suppl* 23, 213-221
- Pevet P, Vivien-Roels B, Masson-Pevet M, Steinlechner S, Skene D, Canguilhem B (1989) Melatonin, serotonin, 5-hydroxyindole-3-acetic acid and *N*-acetyltransferase in the pineal of the European Hamster (*Cricetus cricetus*) kept under natural environmental conditions: lack of a day/night rhythm in melatonin formation in spring and early summer. *J Pineal Res* 6, 233-242
- Scraba ST, Ginther OJ (1985) Effect of lighting programs on the ovulatory season in mares. *Theriogenology* 24, 667-679
- Sharp DC, Kooistra L, Ginther OJ (1975) Effect of artificial light on the oestrus cycle of the mare. *J Reprod Fertil Suppl* 23, 241-246
- Terqui M, Thimonier J (1974) Nouvelle méthode radioimmunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application au diagnostic de gestation précoce chez la brebis et la chèvre. *C R Séances Acad Sci Sér D* 279, 1109-1112
- Tillet Y, Ravault JP, Selve C, Evin G, Castro B, Dubois MP (1986) Condition d'utilisation d'anticorps spécifiques pour la visualisation immunohistochimique de la sérotonine et de la mélatonine dans la glande pinéale du mouton. *C R Séances Acad Sci* 303, 77-82