

Article de synthèse



Christian Hanzen*,
Sylvie Chastant-Maillard**,
Anne-Sophie Rao*, Léonard Théron*

* Université de Liège, faculté de médecine vétérinaire, service de thériogénologie des animaux de production, avenue de Cureghem, 7d, 4000 Liège, Belgique
** Unité de reproduction, UMR 1225 Interactions hôte-pathogène, INP-École nationale vétérinaire de Toulouse, 23, chemin des Capelles, BP 8714, 31076 Toulouse Cedex 03 christian.hanzen@ulg.ac.be

0,05 CFC par article lu

REPRODUCTION BOVINE

Le sex-ratio chez les bovins : mécanismes potentiels

Orienter le *sex-ratio* autrement que par l'insémination avec de la semence sexée reste encore énigmatique. Après un premier article présentant les facteurs susceptibles de le faire varier dans l'espèce bovine, ce second volet s'intéresse à leurs mécanismes d'action.

www.
lepointveterinaire.fr

Compléments de lecture :
Références

http://www.lepointveterinaire.fr/bdd/165/165_4693

Résumé

► Le *sex-ratio* (proportion de veaux mâles nés) peut varier sous l'effet de nombreux facteurs⁽¹⁾. Les mécanismes d'action biologiques expliquant ces variations sont potentiellement multiples. Tout d'abord, l'origine des ovocytes est l'un d'entre eux (le *sex-ratio* diffère entre l'ovaire droit et l'ovaire gauche), alors que la corne qui héberge le fœtus

ne semble pas avoir d'influence. Ensuite, les spermatozoïdes porteurs du chromosome Y seraient plus rapides mais moins résistants que les spermatozoïdes porteurs du chromosome X, à l'origine de l'influence du moment de l'insémination par rapport à l'ovulation (effet non systématiquement observé, néanmoins).

La glycémie de la mère orienterait également le *sex-ratio* par un impact sur la maturation ovocytaire et sur le début du développement embryonnaire, les embryons montrant des différences dans leur métabolisme et leur résistance au stress. Cependant, ces mécanismes restent hypothétiques et mal élucidés.

AVANT LA FÉCONDATION

1. Modifications ovocytaires

Après saillie naturelle, le pourcentage de gestations (n = 2 904) observé dans la corne droite (53,2 %) est significativement plus élevé que celui mis en évidence dans la corne gauche (46,8 %). De même, le SR des veaux de la corne droite (67,4 %) est significativement plus élevé que celui de la corne gauche (34,4 % ; sur 2 904 gestations) [43]. À partir des expériences réalisées, il semble bien que l'hypothèse d'une régulation plus ovarienne qu'utérine puisse être retenue. Cet effet ovarien pourrait être médié par les stéroïdes folliculaires. Une concentration en testostérone supérieure à 300 ng/ml dans le liquide antral s'accompagne d'une fréquence plus élevée d'embryons mâles *in vitro* [26, 31, 32]. Cela est à mettre en parallèle avec un SR plus élevé chez les vaches socialement dominantes, lesquelles présentent des concentrations plus élevées en testostérone [10, 30, 46]. Celle-ci influencerait la composition moléculaire de la membrane pellucide à un moment spécifique de son développement, déterminant ainsi la fécondation de l'ovocyte par un spermatozoïde Y [29]. Cet effet positif sur le SR d'une diminution du rapport entre les œstrogènes et la testostérone a été rapporté chez les lémuriens [64].

2. Caractéristiques des spermatozoïdes

La vitesse de migration des spermatozoïdes X et Y dans le tractus génital serait différente [27, 57, 71, 79]. Ainsi, les spermatozoïdes Y arriveraient plus vite au niveau de l'isthme de l'oviducte qui constitue un réservoir de sperme [7, 65]. Ils seraient ainsi plus vite capités. La linéarité et la régularité moindres des déplacements des spermatozoïdes Y par rapport à celles des spermatozoïdes X traduiraient d'ailleurs leur plus grande activation [58, 62]. Les spermatozoïdes X seraient plus lents à

Outre le recours à de la semence sexée, plusieurs facteurs liés aux caractéristiques de la vache, à la fonction ovarienne et au déroulement de la gestation sont susceptibles d'influencer le *sex-ratio* (SR) à la naissance (*sex-ratio* secondaire, ou SRS) [38]. Ces facteurs, dont les mécanismes d'action sont loin d'avoir été élucidés, peuvent agir à plusieurs étapes du processus de reproduction : sur la maturation finale de l'ovocyte, au moment de la fécondation et au cours des premiers stades du développement embryonnaire. Ils relèvent de caractéristiques génétiques, développementales, physiologiques ou métaboliques propres au spermatozoïde, à l'ovocyte et/ou à l'embryon (figure) [6, 44, 50, 81, 82].

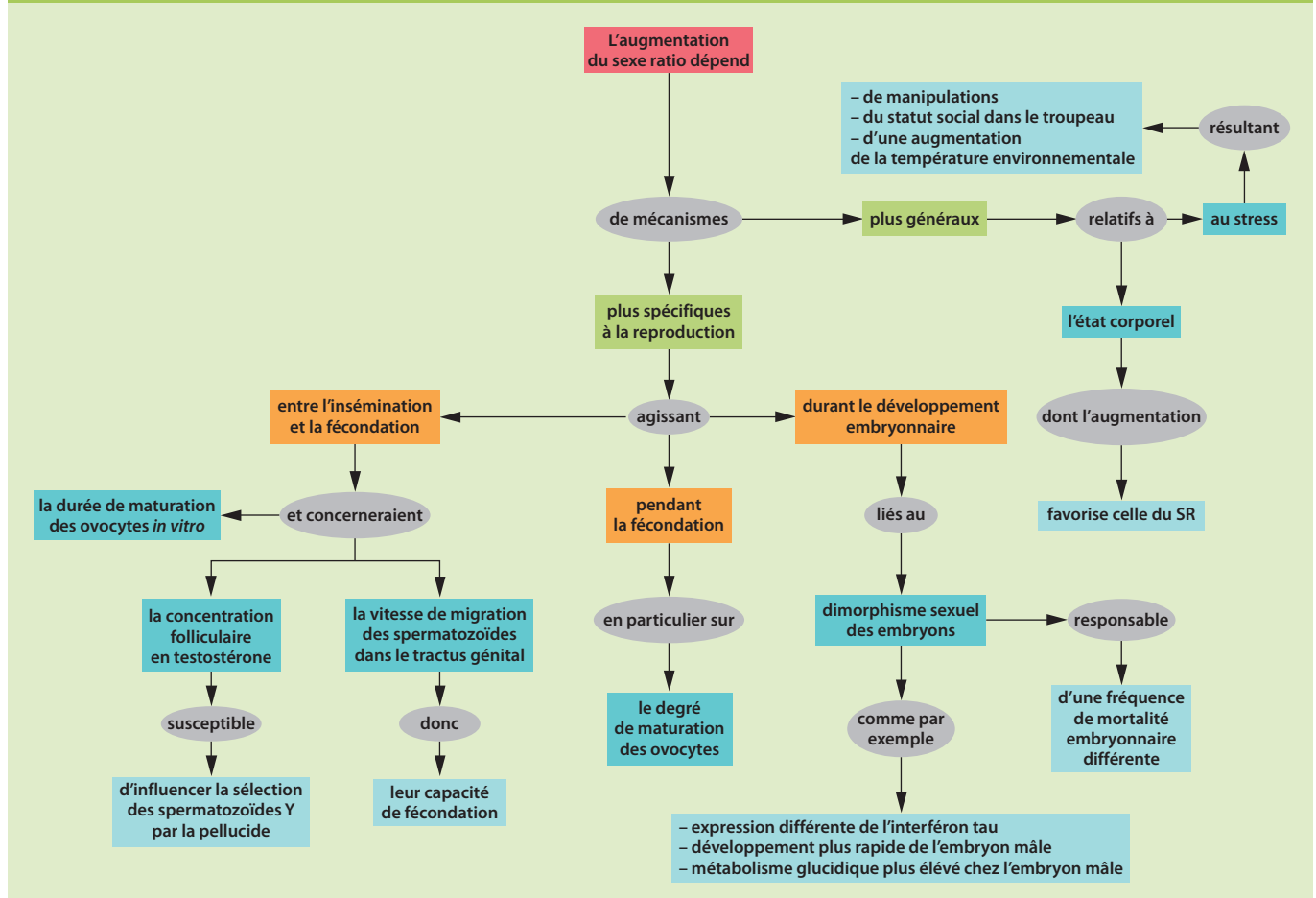
(1) Voir l'article "Le *sex-ratio* chez les bovins : facteurs de variation" des mêmes auteurs, dans ce numéro.

Conflit d'intérêts

Aucun.

FIGURE

Mécanismes d'action potentiels des facteurs de variation du sex-ratio dans l'espèce bovine



SR : sex ratio.

atteindre le site de la fécondation. En cas d'insémination tardive (réalisée longtemps après le début des chaleurs, donc peu de temps avant l'ovulation), les spermatozoïdes Y plus rapides seraient plus souvent responsables de la fécondation [57, 79]. Inversement, lors d'insémination précoce (effectuée bien avant l'ovulation), ils seraient moins aptes à assurer la fécondation puisqu'ils ont atteint le site de fécondation plus longtemps avant l'ovulation. Cette hypothèse mériterait d'être confirmée car les études visant à séparer les spermatozoïdes sur la base de leur motilité ont rapporté des résultats contradictoires, certaines décrivant un effet sur le SR et d'autres non [3, 19, 20, 53, 56, 83]. De plus, l'allongement du temps de capacitation se traduit par une augmentation de la proportion de blastocystes de sexe femelle, conséquence possible d'une plus grande longévité des spermatozoïdes X [41, 52].

3. Maturation finale des ovocytes

Les résultats concernant l'influence de la durée de la phase de maturation des ovocytes sur le SR des embryons après leur fécondation *in vitro* diffèrent selon les études [1, 60, 69].

Le stade de maturation différent des ovocytes lors de leur fécondation pourrait induire leur sélection préférentielle d'un spermatozoïde X ou Y [22, 35]. Une insémination réalisée *in vitro* 8 heures après l'expulsion du premier globule polaire augmente la proportion d'embryons mâles par rapport à une insémination réalisée lors de l'expulsion (photo 1) [22]. La longévité plus grande des spermatozoïdes X leur permettrait d'assurer la fécondation d'ovocytes à un meilleur moment par rapport à leur degré de maturation [52].

Points forts

→ Le sex-ratio peut dévier à la suite d'influences exercées à trois étapes que sont la maturation ovocytaire, la fécondation et le développement embryonnaire.

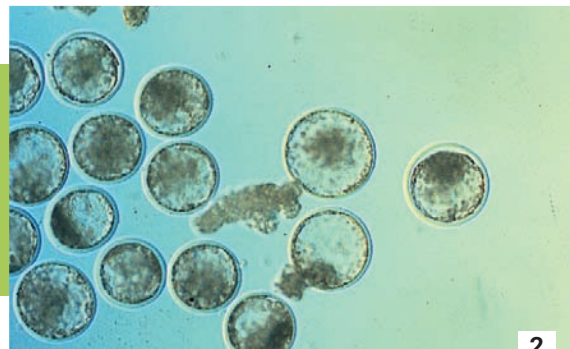
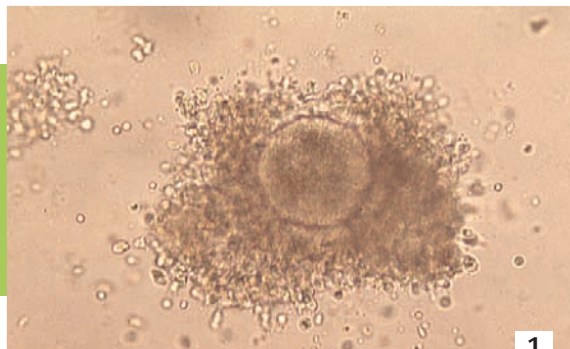
→ Les mécanismes par lesquels les différents facteurs pourraient faire varier le sex-ratio sont plus hypothétiques que démontrés.

→ Les principales hypothèses concernent une plus ou moins longue survie des spermatozoïdes au site de fécondation, une sélectivité de la zone pellucide et une mortalité embryonnaire précoce sélective.

1. La proportion d'embryons mâles augmente avec la durée de maturation des ovocytes.

2. Les blastocystes présentent un dimorphisme sexuel.

PHOTOS : CH. HANZEN



De plus, l'augmentation de la glycémie s'accompagne de celle du SR, ce qui pourrait expliquer l'effet du moment de l'insémination sur le SR [13, 55, 68]. En effet, le glucose influencerait le moment du pic d'hormone lutéinisante (LH), donc le délai d'apparition de la métaphase II nécessaire à la fécondation, la LH contribuant à augmenter la quantité de glucose disponible pour l'ovocyte [21, 84].

AU MOMENT DE LA FÉCONDATION

Une fécondation immédiatement après l'expulsion du premier globule polaire s'accompagne d'une augmentation d'embryons de sexe femelle, par rapport à celle réalisée dans les heures qui suivent [22, 57]. La réduction (6 heures *versus* 18 heures) de la période d'incubation des oocytes dénudés en présence de spermatozoïdes est associée à une augmentation de la fréquence des mâles, laquelle peut résulter d'une élévation du nombre de spermatozoïdes Y attachés à la zone pellucide [45, 50, 76].

Les observations consécutives à l'injection de spermatozoïdes dans l'ovocyte (ICSI, pour *intracytoplasmic sperm injection*) suggèrent une sélectivité de la zone pellucide. En effet, chez l'homme, le SR secondaire à la naissance (SRS) après ICSI est moindre que celui normalement observé : 96:100 ou 101:100 contre 105:100 en l'absence de recours à une technique de reproduction assistée [23, 40, 54]. La membrane pellucide de l'ovocyte pourrait ainsi être prédisposée à être traversée par l'un ou l'autre type de spermatozoïdes. Cependant, la fécondation *in vitro* d'ovocytes au moyen de sperme sexé et recombinaison en parts égales de spermatozoïdes X et Y ou non sexé n'a entraîné aucune différence significative du SR d'embryons au stade 2 à 4 cellules (57 % *versus* 56,9 %) ou du SR des blastocystes (50,6 % *versus* 53 %). Il n'existerait donc pas de sélection potentielle des spermatozoïdes X ou Y par la membrane pellucide [9].

APRÈS LA FÉCONDATION : LE DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

Au cours des premiers jours du développement embryonnaire, les caractéristiques des embryons mâles et femelles

obtenus *in vitro* ne sont pas identiques. Il existe donc un dimorphisme sexuel des embryons (photo 2). Ces différences peuvent être responsables d'une mortalité embryonnaire différente selon le sexe de l'embryon [39]. Ainsi, les embryons dégénérés semblent être davantage de sexe femelle, avec une différence non significative [16, 37, 70, 78].

Diverses manifestations d'un dimorphisme sexuel ont été observées. *In vitro*, elles s'expriment essentiellement à partir du stade morula [34]. L'interféron τ , signal embryonnaire de gestation indispensable à l'inhibition de la lutéolyse, ne s'exprime pas de la même façon dans les deux sexes [48, 51]. Les blastocystes femelles prélevés 8,5 à 9,5 jours après l'insémination produisent significativement plus d'interféron τ que les blastocystes mâles par période de 24 heures (49,4 +/- 9 pg *versus* 16,6 +/- 3,7 pg) ou de 48 heures (410,9 +/- 66,6 pg *versus* 189,8 +/- 37,1 pg) de mise en culture [48].

Certains gènes liés au chromosome X s'expriment davantage chez la femelle que chez le mâle [36, 61]. Dans les espèces bovine, mais également ovine et porcine, le rythme de division cellulaire de l'embryon est plus élevé chez les embryons de sexe mâle que chez ceux de sexe femelle [4, 5, 17, 18, 59, 82]. Ainsi, la présence après récolte d'embryons d'au moins trois stades différents de développement se traduit par la naissance plus fréquente de femelles après transfert des embryons de stade moins avancé (SRS 32 %) et de mâles après transfert d'embryons de stade plus avancé (SRS 62 %). Cette différence n'est cependant pas significative [4]. De même, ce développement plus rapide serait responsable de leur sélection préférentielle lors de transfert d'embryons et de la naissance plus fréquente de veaux mâles par la suite [50].

Ces observations ne sont pas unanimement démontrées [42, 47]. Les différences observées peuvent relever de l'espèce, mais aussi des conditions de culture des embryons *in vitro* [72]. Ainsi, *in vitro*, le métabolisme du glucose serait-il plus intense chez les embryons mâles, tandis qu'une concentration plus élevée en glucose se révèle néfaste pour les embryons femelles [11, 37, 49, 75, 77]. *In vivo*, la composition de la ration reçue par la mère pourrait également avoir son importance. Le pourcentage de mâles augmente significativement chez les souris nourries avec une ration riche en acides gras saturés, celui des femelles après distribution d'acides gras polyinsaturés $\omega 6$, les $\omega 3$ étant sans effet [2, 25, 73]. Inversement, chez la brebis, le SR s'élève avec une ration riche en acides gras polyinsaturés [33]. Ces effets seraient davantage médiés par le glucose que par la testostérone, dont la

concentration après la saillie est significativement plus faible avec des rations riches en acides gras [24, 80]. Ces apports nutritionnels exerceraient leur influence après la fécondation [29]. Leur importance semble être cependant influencée par divers états de stress (diminution du rang social, augmentation de la température ambiante, etc.), lesquels s'accompagnent d'une hausse de la glycémie [8, 15, 66, 67]. Le rôle exercé par le statut social des individus au sein du groupe fait encore débat [13]. C'est aussi le cas du mécanisme d'impact du stress thermique. Ce type de stress s'accompagne d'une augmentation de la synthèse des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS, pour *reactive oxygen species*). Cette synthèse est cependant moindre chez les embryons femelles que chez les embryons mâles, ces derniers survivant moins bien à ce type de stress [63]. Un stress thermique pourrait également contribuer à augmenter la durée de la période de dominance folliculaire en raison de l'élévation de la concentration en hormone folliculo-stimulante (FSH) et de la diminution de l'inhibine [74]. Il en résulterait l'expulsion d'un ovocyte plus âgé, lequel est associé à une augmentation du SR [1, 22].

Conclusion

Les mécanismes cellulaires par lesquels s'établit le SR ne sont donc pas clairement établis. En particulier, le rôle de l'ovocyte et celui du milieu utérin restent mal définis malgré l'intérêt pratique que pourrait comporter leur détermination. L'ovocyte a-t-il un pouvoir de choix du spermatozoïde qui le féconde ? Le milieu utérin, en fonction de ses caractéristiques biochimiques, peut-il favoriser la survie ou, inversement, la mort des embryons d'un sexe ? Ce dernier point mériterait d'être exploré

scientifiquement afin d'évaluer la possibilité de manipulations du SR *via* l'alimentation de la vache autour de l'ovulation ou pendant les premières étapes du développement embryonnaire. ■

Summary

The sex ratio in cattle: potential mechanisms

► The sex ratio (proportion of male calves born) can vary as a result of many factors. The biological mechanisms of their effects are numerous. First the origin of oocytes (sex ratio varies between the right ovary and left ovary), while the influence of the horn that hosts the fetus does not appear to have an influence. The sperm bearing the chromosome Y are faster but less resistant than the sperm carrying the chromosome X, explaining the influence of time of insemination relative to ovulation. Such influence has nevertheless not always been observed). Glycaemia of the mother can influence the oocyte maturation and early embryonic development, the embryos showing differences in their metabolism and their resistance to stress. Nevertheless, these mechanisms remain hypothetical and poorly understood.

Keywords

Sperm, pellucida membrane, oocyte maturation, embryonic mortality, sex ratio.

Références

- Amadesi A, Frana A, Gandini LM et coll. Comparison between primary sex-ratio in spermatozoa of bulls and secondary sex ratio in the deriving offspring. *Theriogenology*. 2015;83:199-205.
- Camargo LS, Freitas C, de Sa WF et coll. Gestation length, birth weight and offspring gender ratio of in vitro produced Gyr (*Bos indicus*) cattle embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 2010;120:10-15.
- Cameron EZ, Lemons PR, Baterman PW et coll. Experimental alteration of litter sex ratios in a mammal. *Proc. Biol. Sci.* 2008;275:323-327.
- Carvalho RV, Campo MRD, Palasz AT et coll. Survival rates and sex ratio of bovine IVF embryos frozen at different developmental stages on day 7. *Theriogenology*. 1996;45:489-498.
- Dominko T, First NL. Relationship between the maturational state of oocytes at the time of insemination and sexe ratio of subsequent early bovine embryos. *Theriogenology*. 1997;47:1041-1050.
- García-Herreros M, Bermejo-Alvarez P, Rizos D et coll. Intrafollicular testosterone concentration and sex-ratio in individually cultured bovine embryos. *Reprod. Fert. Dev.* 2010;22:533-538.
- Grant VJ, Chamley LW. Can mammalian mothers influence the sex of their offspring periconceptually? *Reproduction*. 2010;140:425-433
- Grant VJ, Irwin RJ, Standley NT et coll. Sex of bovine embryos may be related to mother's preovulatory follicular testosterone. *Biol. Reprod.* 2008;78:812-815.
- Green MP, Spate LD, Parks TE et coll. Nutritional skewing of conceptus sex in sheep: effects of a maternal diet enriched in rumen protected polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2008;6:21.
- Gutierrez-Adan A, Garnelo P, Granados J et coll. Relationship between sex ratio and time of insemination according to both time of ovulation and maturational stage of oocyte. *Zygote*. 1999;7:37-43.
- Gutierrez-Adan A, Granados J, Pintado B et coll. Influence of glucose on the sex ratio of bovine IM/IVF embryos cultured in vitro. *Reprod. Fertil. Dev.* 2001;13:361-365.
- Hanzen C, Chastant-Maillard S, Rao AS, Théron L. Le sexe-ratio chez les bovins : facteurs de variation. *Point Vét.* 2016. *Point Vét.* 2016;367 (rural):62-67.
- Hylan D, Giraldo AM, Carter JA et coll. Sex-ratio of bovine embryos and calves originating from the left and right ovaries. *Biol. Reprod.* 2009;81:933-938.
- Iwata H. Factors affecting the primary sex-ratio in cows. *J. Mamm. Ova. Res.* 2012;29:96-102.
- Kimura K, Spate LD, Green MP et coll. Sexual dimorphism in interferon tau production by *in vivo* derived bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev.* 2004;67:193-199.
- Kimura K, Spate LD, Green MP et coll. Effects of D-glucose concentration, D-fructose and inhibitors of enzymes of the pentose phosphate pathway on the development and sex-ratio of bovine blastocysts. *Mol. Reprod. Dev.* 2005;72:201-207.
- Madrid-Bury N, Fernandez R, Jimenez A et coll. Effect of ejaculate, bull and a double swim up sperm processing method on sperm sex ratio. *Zygote*. 2003;11:229-235.
- Martinez F, Kaabi M, Martinez-Pastor F et coll. Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. *Theriogenology*. 2004;62:1264-1270.
- Perez-Crespo M, Ramirez MA, Fernandez-Gonzalez R et coll. Differential sensitivity of male and female mouse embryos to oxidative induced heat-stress is mediated by glucose-6-phosphate dehydrogenase gene expression. *Mol. Reprod. Dev.* 2005;72:502-510.
- Rizos D, Bermejo-Alvarez P, Gutierrez-Adan A et coll. Effect of duration of oocyte maturation on the kinetics of cleavage, embryo yield and sex-ratio in cattle. *Reprod. Fert. Dev.* 2008;20:737-740.
- Rosenfeld CS, Roberts RM. Maternal diet and others factors affecting offspring sex-ratio: a review. *Biol. Reprod.* 2004;71:1063-1070.
- Sakaguchi Y, Sejiyama Y, Kato S et coll. Differential attachment of Y chromosome bearing sperm to the zona pellucida. *J. Mamm. Ova. Res.* 2012;29:55-59.
- Xu KP, Yadav BR, King WA et coll. Sex related differences in developmental rates of bovine embryos produced and cultured in vitro. *Mol. Reprod. Dev.* 1992;31:249-252.