

Préparation de la lapine à l'insémination : analyse bibliographique

M. THEAU-CLEMENT

INRA. Station d'Amélioration Génétique des Animaux BP 52627 - 31326 Castanet Tolosan Cedex, France

Résumé. Cette synthèse bibliographique fait le point sur les connaissances des facteurs de réussite de l'insémination et des méthodes susceptibles d'induire la réceptivité des lapines au moment de l'insémination afin d'améliorer leur fécondité. La parité, l'état d'allaitement et de pseudogestation ainsi que la réceptivité sexuelle au moment de l'insémination, influencent les performances de reproduction. La pseudogestation déprime fortement les performances de reproduction, cependant la cause des ovulations non maîtrisées est aujourd'hui inconnue. L'utilisation routinière de PMSG sur des lapines allaitantes, permet d'augmenter de façon durable la proportion de lapines réceptives au moment de l'IA et en conséquence leur productivité, sans risque immunitaire important. Appliquées juste avant l'IA, des méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones ont été étudiées : une manipulation des animaux (changement de cage, regroupement des femelles), la proximité des mâles, une séparation mère-jeunes, des programmes alimentaires et des stimulations lumineuses. Si certaines de ces méthodes améliorent la fécondité, elles sont susceptibles parfois de freiner la croissance des lapereaux (programmes lumineux, séparation ponctuelle de la mère et ses produits...). En conséquence, pour une application raisonnée dans les élevages, il est important de considérer des critères de productivité globale sur le long terme et d'étudier la durabilité des effets. Cependant, une meilleure connaissance des mécanismes physiologiques sous-jacents permettrait un meilleur contrôle de la reproduction dans les élevages cunicoles.

Abstract. Preparation of the rabbit doe to the insemination: bibliographic analysis. This bibliographical synthesis gives a description of knowledge of the factors of success of insemination and the methods suitable for oestrus induction in order to improve rabbit doe fecundity. The parity, the lactation status, pseudopregnancy as well as the sexual receptivity at the time of insemination highly influence reproductive performances. Pseudopregnancy strongly depresses fertility, however the cause of these ovulations is unknown today. The routine use of PMSG on lactating does, makes it possible to increase in a durable way, the proportion of receptive does at the time of the IA and in consequence their productivity, without important immune risks. Applied just before the insemination different alternative methods have been studied: an animal manipulation (change of cage, does gathering), a "buck" effect, a short dam-litter separation, feeding programmes and light stimulations. Some of these methods improve the fecundity, but they sometimes also decrease young growth (dam-litter separation, lighting programmes...). Consequently, for an optimal application in farms, it is important to consider long term effects such as global productivity and durability of the effects. However, a better knowledge of the underlying physiological mechanisms would allow a better control of the reproduction in rabbit farms.

Introduction

L'insémination artificielle de la lapine a fait son apparition dans les élevages français à la fin des années 80. Ce mode de reproduction a permis la mise en place d'un nouveau système de production : "la conduite en bande" et une meilleure organisation des élevages. Généralement, les éleveurs achètent la semence (mélanges hétérospériques) dans l'un des 20 centres de production et réalisent eux-mêmes les inséminations. Plus de 80% des élevages rationnels français sont conduits en bande unique, la plupart d'entre eux avec un intervalle de 42 jours entre 2 inséminations.

La recherche de facteurs de réussite de l'insémination artificielle (IA) a fait l'objet de nombreux travaux ces dernières années. Si les lapines peuvent être inséminées dès la mise bas, leurs performances de reproduction varient considérablement en fonction de la parité (rang de portée), de leur stade physiologique (allaitantes ou non, stade de lactation) et de leur réceptivité sexuelle au moment de l'insémination. Aujourd'hui les résultats de fertilité sont de bon

niveau (77 % en moyenne), cependant les éleveurs utilisent diverses méthodes pour induire la réceptivité des lapines au moment de l'insémination. Certains utilisent des méthodes hormonales combinées ou non à l'utilisation de techniques pas toujours éprouvées, telles qu'un flushing alimentaire, une séparation momentanée entre la mère et sa portée, un apport vitaminique dans l'eau de boisson ou dans la ration alimentaire, des programmes lumineux.....

L'objectif de cette synthèse bibliographique est de faire le point sur les connaissances des facteurs de réussite de l'insémination et les méthodes susceptibles d'induire la réceptivité des lapines au moment de l'insémination afin d'améliorer leur fécondité.

1. Facteurs de réussite de l'insémination artificielle liés à la femelle

1.1 La parité

En insémination artificielle, les nullipares, généralement très réceptives, se caractérisent par une fertilité supérieure à 70 % mais par une prolificité plus modeste (8,8 nés vivants) que pour les lapines de

parités suivantes (au moins 10,5 lapereaux vivants pour le même génotype, Perrier *et al.*, 1998). Les primipares inséminées pendant leur première lactation, moins réceptives, ont une fertilité généralement inférieure à 70 % mais une taille de portée supérieure à celle des lapines nullipares (Chmitelin *et al.*, 1990 ; Davoust, 1994 ; Szendrő *et al.*, 1999 ; Perrier *et al.*, 2000). Parigi Bini et Xiccato (1993) ont mis en évidence des pertes énergétiques très marquées (28 % : différence entre les apports alimentaires et les besoins d'entretien et de la lactation) pendant la première lactation, en réponse aux besoins élevés pour la lactation, la gestation et la croissance encore inachevée. Ces derniers auteurs mettent aussi en évidence des tailles de portée plus élevées que pour les nullipares.

Les lapines multipares ont des niveaux élevés de fertilité et de tailles de portée (78,6 % et 11,2 nés vivants pour des lapines de génotype 0067, Perrier *et al.*, 2000). Cependant, dans le cas particulier d'une conduite en rythme *post partum*, Szendrő *et al.* (1999) soulignent que la diminution de la fertilité des lapines primipares est étendue aux secondipares, alors que la taille de portée ne varie plus significativement après la 2^{ème} portée.

1.2 L'état d'allaitement au moment de l'insémination.

La lapine, espèce polytoque et la vache, espèce monotoque, sont les seuls animaux d'intérêt zootechnique à qui l'homme demande de gérer en simultanéité une lactation et une gestation. Ainsi, à l'effet de la parité peut donc s'ajouter l'effet de l'allaitement au moment de l'insémination ou de la saillie.

Une lapine est fertile si elle est apte à ovuler, à être fécondée et si elle est capable de conduire une gestation jusqu'à son terme. Au cours de la gestation, la connaissance du pourcentage de lapines qui ont été fécondées implique une laparotomie ou le sacrifice des animaux. Cependant, une endoscopie au moment d'une palpation abdominale négative permet par l'observation directe des ovaires et des cornes utérines, de savoir si le défaut de gestation constaté est lié à l'absence d'ovulation ou à un défaut de gestation indépendant de l'ovulation (défaut de fécondation ou mortalité précoce totale). Les composantes de la fertilité étudiées dans cette analyse sont donc l'aptitude à ovuler et les défauts de gestation indépendants de l'ovulation. Les composantes de la prolificité sont l'intensité d'ovulation, le taux de fécondation (œufs fécondés / nombre de corps jaunes) et la survie embryonnaire.

1.2.1. Réceptivité.

Au moment de l'insémination ou de la saillie, les lapines allaitantes sont généralement moins réceptives que les non-allaitantes (Beyer et Rivaud, 1969 ; Garcia et Perez, 1989 ; Rodriguez *et al.*, 1989 ; Theau-Clément *et al.*, 1990b ; Alabiso *et al.*, 1996). En outre, les lapines qui allaitent de grosses portées (≥ 8 lapereaux) sont moins réceptives que celles qui

allaitent un nombre plus faible de lapereaux (Diaz *et al.*, 1988 ; Garcia et Perez, 1989 ; Theau-Clément *et al.*, 1990b ; Rodriguez de Lara et Fallas, 1999). Le comportement sexuel des lapines varie aussi en fonction du stade de lactation (Ubilla et Rebollar, 1995). Le pourcentage de lapines qui acceptent l'accouplement est très élevé (généralement de l'ordre de 90 %) le jour de la mise bas (Beyer et Rivaud, 1969 ; Harned et Casida, 1969 ; Delaveau, 1978 ; Maertens et Okerman, 1987 ; Diaz *et al.*, 1988 ; Roustan et Maillot, 1990). Il décroît à 4 jours *post partum* (Diaz *et al.*, 1988 : 47,2 % ; Theau-Clément *et al.*, 1990b : 54,2 %) pour remonter à 11 jours (Theau-Clément *et al.*, 1998b : 88,7 %) et retrouver le niveau initial après le sevrage (Prud'hon *et al.*, 1969, Fortun-Lamothe et Bolet, 1995). Cette évolution de la réceptivité sexuelle entre la mise bas et le sevrage des lapereaux a été confirmée par Theau-Clément *et al.* (2000).

1.2.2. Fertilité.

En insémination artificielle, les écarts de fertilité en fonction de l'état d'allaitement sont systématiques : de 10 à 20 % en faveur des lapines non allaitantes (Lange et Schlolaut, 1988 ; Rodriguez de Lara et Fallas, 1999 ; Rebollar *et al.*, 1992a ; Theau-Clément et Lebas, 1996 ; Perrier *et al.*, 2000). Ils sont liés d'une part, à l'effet dépressif de la lactation sur la capacité à ovuler, (68 vs 91,5 % pour les non allaitantes), malgré l'injection de facteurs hypothalamiques associée à l'insémination. D'autre part, ces écarts sont aussi liés à l'augmentation du pourcentage de défauts de gestation indépendants de l'ovulation (34,0 vs 5,0 %, Theau-Clément *et al.*, 1990a).

Cependant, les lapines allaitantes au stade 10-11 jours *post partum* sont plus fertiles que les lapines au stade 3-4 jours (respectivement 70,7 vs 39,9, Theau-Clément, 1996). La fertilité mesurée 24 heures après l'insémination (pourcentage de lapines ayant au moins un œuf segmenté) est élevée le lendemain de la mise bas, elle chute à 4 jours *post partum* pour croître à nouveau jusqu'après le sevrage (96,4%, Theau-Clément *et al.*, 2000). Cet effet dépressif du stade de lactation sur la fertilité est la conséquence d'une diminution de l'aptitude à l'ovulation (50,7 et 78,5 %, respectivement aux stades 4 et 11 jours de lactation, Theau-Clément, 1996) et d'une augmentation des défauts de gestation indépendants de l'ovulation (11,7 % à 11 jours vs 21,6 % à 4 jours de lactation) correspondant à l'absence de fécondation ou une mortalité embryonnaire totale.

1.2.3. Prolificité.

Les résultats de prolificité sont généralement peu différents entre des lapines non-allaitantes et des lapines allaitantes au stade 11 jours *post partum* au moment de l'IA (respectivement 8,2 vs 7,7 nés vivants), par contre, ils sont supérieurs à ceux des lapines inséminées au stade 4 jours (4,5 nés vivants ; Theau-Clément, 1996). Rodriguez de Lara et Fallas (1999) et Szendrő et Biro-Nemeth (1991) n'ont pas

mis en évidence d'effet du nombre de lapereaux allaités au moment de l'insémination sur la prolificité. L'intensité d'ovulation croît quand l'intervalle entre la mise bas et la mise à la reproduction augmente (Theau-Clément *et al.*, 1990a, 1994). Dans des conditions expérimentales identiques, 24 heures après l'IA, Theau-Clément *et al.* (2000) observent 9,7 ; 10,1 ; 14,4 ; 14,7 ; et 14,8 corps jaunes quand les lapines ont été inséminées respectivement 1, 4, 12, 19 jours *post partum* et 2 jours après sevrage. Le taux de fécondation a été peu étudié. En effet, cette mesure nécessite la laparotomie ou le sacrifice des animaux, 24-48 heures après l'insémination et la perfusion des oviductes afin de récolter les œufs pour vérifier s'ils ont été fécondés (ovules) ou non (ovocytes). Le taux de fécondation évolue avec le stade de lactation. Il est élevé dans les 24 heures suivant la mise bas (73,4%), mais chute au stade 4 jours *post partum* (66,9 %) pour augmenter régulièrement jusqu'après le sevrage (90,7 %). De plus, Theau-Clément *et al.* (1990a) ont observé dans la semaine suivant l'implantation, une mortalité de 14,5 % pour les allaitantes au stade 11 jours *post partum* lors de l'IA, contre seulement 4,8 % pour les non-allaitantes.

La lactation déprime d'une part, la réceptivité des lapines au moment de la mise à la reproduction et d'autre part, les performances de reproduction et ses composantes : la fertilité (aptitude à ovuler, défauts de gestation non liés à l'ovulation) et la prolificité (intensité d'ovulation, taux de fécondation, survie embryonnaire). La lactation et son intensité (nombre de lapereaux allaités) dépriment la fertilité, en particulier le pourcentage de lapines ovulant (malgré l'injection de GnRH) et la fréquence des défauts de gestation non liés à l'ovulation. Le stade 4 jours post partum, est particulièrement défavorable pour l'induction de l'ovulation, l'établissement de la gestation et son maintien dans les stades précoces. L'effet dépressif de la lactation sur la prolificité est étroitement lié au stade de lactation. L'intensité d'ovulation croît quand l'intervalle entre la mise bas et l'insémination augmente, alors que le taux de fécondation fluctue. Cependant, comme le suggéraient déjà Foxcroft et Hasnain (1973), le moment de la saillie après la mise bas, a un effet plus important sur le comportement et les performances de reproduction, que l'état d'allaitement proprement dit.

1.3. La réceptivité sexuelle au moment de l'insémination

L'insémination artificielle est une technique qui conduit à induire une gestation chez certaines femelles qui, en saillie naturelle, auraient refusé l'accouplement. Ainsi en I.A, à l'effet parité et à l'effet de l'allaitement, s'ajoute l'effet de la réceptivité. La réceptivité, mesurée par un test en présence d'un mâle ou par l'observation de la couleur et de la turgescence de la vulve, reflète l'état d'oestrus ou de dioestrus des lapines au moment de l'insémination.

1.3.1. Fertilité.

En insémination artificielle, la fertilité est fortement liée à la réceptivité sexuelle des lapines (Theau et Roustan, 1980 ; Battaglini *et al.*, 1986). En effet, la fertilité des lapines réceptives est significativement plus élevée (>75 %) que celle de non-réceptives (de 25 à 55 %, Theau-Clément et Poujardieu, 1994 ; Alabiso *et al.* 1996 ; Theau-Clément, 1996 ; Rodriguez de Lara et Fallas, 1999, Theau-Clément, 2001). La moindre fertilité des lapines non-réceptives au moment de l'insémination est partiellement due à des défauts d'ovulation (Rodriguez et Ubilla, 1988, Theau-Clément *et al.*, 1990a, Theau-Clément et Poujardieu, 1994) associé à des défauts de gestation non liés à l'ovulation (27,1 vs 11,7 %, Theau-Clément *et al.*, 1990a). Cependant, dans une étude récente, Theau-Clément (2001) montre que les défauts de gestation indépendants de l'ovulation dépendent aussi de la parité (primipares : 33 vs 8 % ; multipares : 15 vs 0 %, respectivement pour les non-réceptives et les réceptives).

1.3.2. Prolificité.

Les lapines réceptives ont une prolificité plus élevée que les lapines non-réceptives au moment de l'insémination (Theau-Clément, 1996 : + 2 lapereaux ; Rodriguez de Lara et Fallas, 1999 : + 1 lapereau). La liaison entre un niveau élevé de réceptivité et un niveau élevé de prolificité se retrouve quel que soit le rythme de reproduction. En effet, des lapines réceptives inséminées 10 jours ou 4 jours *post partum*, ont des tailles de portée plus élevées à la naissance que des lapines non-réceptives, inséminées aux mêmes stades (respectivement 10,5 et 8,2 vs 8,7 et 6,7 nés totaux ; Theau-Clément *et al.*, 1990b ; Theau-Clément et Lebas, 1996). Les lapines réceptives ont une intensité d'ovulation plus élevée (11,0 vs 8,7 corps jaunes, Theau-Clément et Poujardieu, 1994), sont plus fréquemment fécondées (84,1 vs 44,1 %, Theau-Clément, 2001) et ont une meilleure survie embryonnaire (au 14ème jour de gestation : + 2,5 fœtus, Theau-Clément et Poujardieu, 1994).

*La réceptivité sexuelle des lapines au moment de l'insémination, variable en fonction du stade de lactation, est associée à une meilleure fertilité. Pourvues d'un plus grand nombre de follicules préovulatoires sur l'ovaire (Kermabon *et al.*, 1994) et d'une concentration plus élevée d'oestrogènes plasmatiques (Rebollar *et al.*, 1992b), les lapines réceptives ovulent plus fréquemment et ont significativement moins de défauts de gestation indépendants de l'ovulation. La réceptivité sexuelle des lapines au moment de l'insémination est associée à une prolificité plus élevée à la naissance. Ce résultat est la conséquence, d'une intensité d'ovulation, d'un taux de fécondation et d'une survie embryonnaire plus élevés chez les lapines réceptives. En conséquence, la productivité des femelles réceptives est trois à quatre fois plus élevée que celle des femelles non-réceptives (figure 1).*

Figure 1. Influence de la réceptivité des lapines allaitantes (11 jours *post partum*) au moment de l'IA sur leur productivité au sevrage.

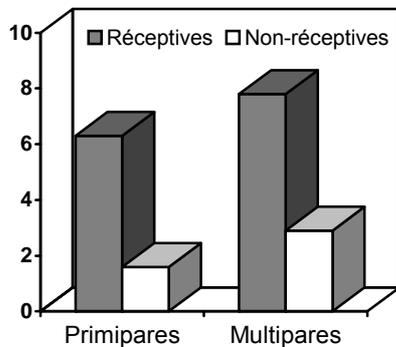
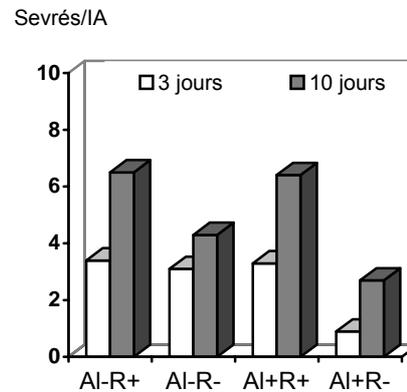


Figure 2. Influence de l'état physiologique des lapines au moment de l'IA sur leur productivité au sevrage en fonction du stade de lactation selon Theau-Clément *et al.* (1990b) et Theau-Clément et Lebas (1994).



AI-R+ : non-allaitantes-réceptives, AI-R- : non-allaitantes-non-réceptives, AI+R+ : allaitantes-réceptives, AI+R- : allaitantes-non-réceptives.

1.4. L'état physiologique

La parité, l'état d'allaitement et la réceptivité sexuelle des lapines au moment de l'insémination influencent les performances de reproduction. Cependant, les lapines allaitantes sont généralement moins réceptives. Ces effets interagissent donc sur les performances de reproduction et il convient d'étudier "l'état physiologique" des lapines au moment de l'insémination, défini par la combinaison entre l'état d'allaitement et l'état de réceptivité sexuelle. Les lapines peuvent être allaitantes-réceptives, allaitantes-non-réceptives, non-allaitantes-réceptives et non-allaitantes-non-réceptives.

1.4.1. Fertilité.

Les lapines simultanément allaitantes et non-réceptives présentent une fertilité très déprimée (< 45 %) par rapport aux trois autres groupes de lapines (> 70 % : Theau-Clément et Lebas, 1994 ; Castellini et Lattaioli, 1999). Cependant, l'effet de l'état physiologique varie significativement en fonction du stade de lactation (Theau-Clément, 1996). Les lapines allaitantes-non-réceptives au stade 4 jours sont moins fertiles que les allaitantes-non-réceptives au stade 11 jours de lactation (16,2 vs 53,8 %). Ce résultat est la conséquence de défauts d'ovulation et de défauts de fécondation ou de mortalité embryonnaire très marqués, en particulier quand les lapines sont allaitantes non-réceptives au stade 4 jours *post partum*.

1.4.2. Prolificté.

D'une manière générale, les lapines allaitantes-non-réceptives s'opposent quasi systématiquement aux 3 autres groupes de femelles et ont significativement moins de lapereaux à la naissance. De plus, comme pour la fertilité, l'effet de l'état physiologique varie en fonction du stade de lactation des lapines. En effet, au stade 11 jours *post partum*, les allaitantes-non-

réceptives produisent 8,2 nés totaux à la naissance contre 9,8 pour les autres lapines (Theau-Clément et Lebas, 1994). A 4 jours *post partum*, les allaitantes-non-réceptives ne produisent que 4,6 nés totaux contre 8,1 en moyenne pour les autres lapines (Theau-Clément *et al.*, 1990b).

*Ces résultats permettent de mieux préciser les facteurs et leurs interactions pouvant déterminer la réussite de l'insémination artificielle, ainsi que la complexité des mécanismes mis en jeu. Les performances de reproduction des lapines simultanément allaitantes-non-réceptives sont fortement déprimées. En effet, ces lapines sont moins fertiles, conséquence du cumul de défauts d'ovulation (malgré l'injection de GnRH), de défauts de fécondation ou de mortalité embryonnaire précoce, et ont des tailles de portée à la naissance plus faibles. Ces observations suggèrent en particulier chez les lapines non-réceptives, l'existence d'un antagonisme partiel entre la lactation et la fonction de reproduction, reflet pour partie d'un antagonisme hormonal entre la prolactine et la sécrétion des gonadotropines (Theau-Clément et Roustan, 1992 ; Fortun-Lamothe et Bolet, 1995 ; Boiti *et al.*, 2004). Cependant, la dégradation des résultats varie avec le stade de lactation ; par rapport aux rythmes étudiés, c'est à 4 jours de lactation que les lapines sont le moins réceptives et que les allaitantes-non-réceptives ont les performances de reproduction les plus faibles. En terme de productivité, par rapport aux autres états physiologiques, les lapines simultanément allaitantes et non-réceptives ont une productivité au sevrage très affaiblie (4 jours *post partum* : 0,9 lapereau sevré/IA ; 11 jours *post partum* : 2,7 sevrés/IA, figure 2). Le problème est d'importance car dans les systèmes de production intensifs, les lapines sont mises à la reproduction en début de lactation. Il faut rappeler que cet effet est peu visible en saillie naturelle, car cet antagonisme est masqué par le refus d'accouplement des lapines non-réceptives.*

1.5. La pseudogestation

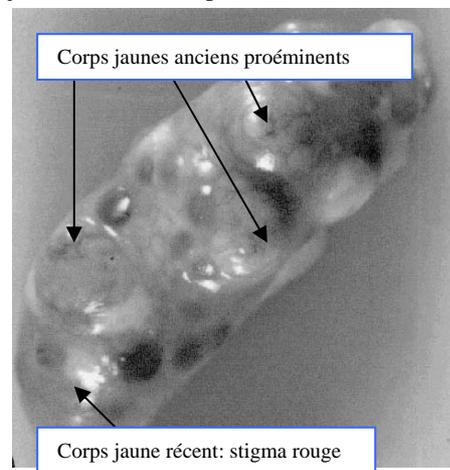
L'ovulation est l'aboutissement d'un réflexe neuro-endocrinien, induit chez la lapine par l'accouplement. En IA, elle est induite par l'administration de GnRH. Ainsi des corps jaunes fonctionnels (sécrétant de la progestérone) ne devraient pas être présents sur des ovaires de lapine qui n'ont pas été mises à la reproduction ou dans la période *post partum*. Cependant, Boiti *et al.* (1996) ont montré que près de 20 % des lapines ont au moment de l'insémination, des concentrations plasmatiques élevées de progestérone associées à une faible réceptivité sexuelle et une faible fertilité. Cette observation a été confirmée par Theau-Clément *et al.* (2000). En effet, sur les 170 lapines observées 24 heures après l'insémination, 35 d'entre elles présentaient 2 générations de corps jaunes (de 11 à 33) : une première génération de corps jaunes récents (correspondant à l'injection de GnRH, photo 1) et une seconde génération de corps jaunes plus anciens et proéminents. Ces lapines étaient caractérisées par une faible réceptivité sexuelle (22 %), une faible fertilité (3 %) mais toutes avaient ovulé. Un prélèvement de sang au moment de l'insémination a permis de montrer que ces lapines avaient un niveau élevé de progestérone (9,4 ng/ml), elles étaient donc pseudogestantes. Au cours de plusieurs expériences, des dosages systématiques de progestérone ont été réalisés au moment de l'insémination (11 jours *post partum*). Une analyse préliminaire montre que la fréquence des pseudogestations (concentration plasmatique > 1ng/ml) dépend de la parité des lapines (nullipares: 16 %, primipares: 32,5 %, multipares : de 4 à 9 %). La pseudogestation ne semble pas affecter la réceptivité des lapines nullipares, cependant leur fertilité est fortement réduite (37,5 vs 96,1 %) conduisant à une productivité faible à la naissance (3,0 vs 7,4 nés vivants/IA). Chez les primipares, la pseudogestation affecte la réceptivité (60,0 vs 81,3 %), la fertilité (24,0 vs 82,5 %) et en conséquence la productivité à la naissance (2,1 vs 8,3 nés vivants/IA). Chez les multipares, la pseudogestation déprime la fertilité (53,8 vs 86,2) et à un moindre niveau la productivité (6.1 vs 8,6 nés vivants). Chez les lapines pseudogestantes, la concentration plasmatique de progestérone est plus élevée chez les primipares que chez le nullipares ou les multipares (7,1 vs 1,9 et 3,3 ng/ml respectivement).

Dans les expériences pré-citées, les lapines étaient en cage individuelle depuis leur mise en place dans la cellule, la dernière injection de GnRH ayant été faite au moins 32 jours auparavant, la lutéolyse correspondante était achevée (fin de la lutéolyse 18 jours après l'ovulation, Browning *et al.*, 1980). De plus, aucun stress visible, ni aucune liaison avec la proximité des mâles n'ont été notés. L'absence de ces causes possibles pour provoquer des ovulations conduit à faire des hypothèses.

Boiti *et al.* (1999) ont démontré que les infections utérines augmentent la durée de vie des corps jaunes

et pourraient expliquer les niveaux élevés de progestérone à l'insémination. De plus, Boiti *et al.* (2005) ont montré que la progestérone peut être aussi sécrétée par les glandes surrénales consécutivement à l'activation de l'axe adrénalien par ACTH ou suite à la cascade d'évènements après l'injection de lipopolysaccharides (constituants de la paroi de bactéries Gram-). Cependant, dans l'expérience de Theau-Clément *et al.*, (2000), aucune infection utérine n'a été mise en évidence chez les lapines abattues, la seule hypothèse "pathologique" ne peut donc être retenue. Par ailleurs, aucune des lapines au stade 1 jour de lactation ne présentait 2 générations de corps jaunes au moment de l'insémination. Ces observations suggèrent l'émergence d'ovulations spontanées chez les lapines primipares entre le 1^{er} et le 4^{ème} jour de lactation, d'origine inconnue à ce jour.

Photo 1. Ovaire de lapines ayant 2 générations de corps jaunes 24 heures après l'IA.



La pseudogestation est donc susceptible de déprimer fortement les performances de reproduction. Cependant la cause de ces ovulations au moment de l'insémination sont aujourd'hui inconnues. Des études complémentaires seront nécessaires d'une part, pour caractériser plus précisément les lapines pseudogestantes, le seuil de progestérone au-delà duquel elles sont dans l'incapacité de produire et d'expliquer d'autre part, la cause de ces ovulations.

1.6. Autres facteurs

Afin d'exprimer pleinement leurs potentialités de reproduction, les lapines doivent être en bon état sanitaire. Dans le cas contraire, le pourcentage de lapines réceptives au moment de l'insémination diminue ainsi que leurs performances de reproduction.

Peu de travaux ont étudié l'importance des facteurs génétiques dans la réussite de l'insémination artificielle. En saillie naturelle, Foxcroft et Hasnain (1973), ont montré que l'incidence de la lactation et du stade de lactation sur l'aptitude à l'ovulation et sur le taux de fécondation, dépend du type génétique des lapines. Hulot et Matheron, (1979, 1981), ont mis en évidence la complémentarité entre la souche INRA "A2066" (intensité d'ovulation élevée) et la souche INRA "A1077" (bonne viabilité embryonnaire). En

insémination artificielle, Brun *et al.* (1999) ont estimé l'évolution des performances de reproduction des lapines entre les générations F0 et F1, d'une souche synthétique obtenue à partir des souches INRA "A1601" et "A2066". A l'exception de la viabilité fœtale et postnatale, tous les caractères connaissent une augmentation entre la F0 et la F1, due à l'hétérosis direct : en particulier, le taux de réceptivité (10%). L'étude et l'exploitation de la variabilité génétique de la réceptivité sexuelle des lapines au moment de l'IA, pourraient être une voie d'amélioration des résultats d'insémination.

2. Méthodes d'induction de la réceptivité sexuelle des lapines

Les lapines étant généralement allaitantes au moment de l'insémination, un antagonisme partiel entre la lactation et la reproduction conduit les lapines allaitantes et non-réceptives à avoir des performances très faibles. L'amélioration et l'homogénéisation des performances de reproduction dans les élevages sont donc conditionnées par le choix du rythme de reproduction (aujourd'hui stabilisé à 42 jours; stade de lactation au moment de l'IA : 11 jours) et par l'utilisation de méthodes permettant d'induire et de synchroniser l'oestrus des lapines en particulier allaitantes. Il s'agit de traitements hormonaux ou de méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones appelées "biostimulations".

2.1. Méthodes hormonales

Les traitements hormonaux ont été très utilisés ces dernières années. Ils consistent à administrer différents types et dosages d'hormones, 2-3 jours avant l'insémination.

2.1.1. Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG ou eCG)

Cette molécule est une glycoprotéine de poids moléculaire estimé entre 45 à 64 kD (Drion *et al.*, 1998). Elle est extraite du sérum de jument gravide. C'est une hormone dimérique à double activité FSH et LH. Son effet majeur FSH a été utilisé pour induire et multiplier les ovulations (superovulation) d'abord chez la vache (Avery *et al.*, 1962) puis les animaux de laboratoire (Chang et Pickworth, 1969) dont le lapin (Kennelly et Foote, 1965). Dans cette synthèse, nous ne considérerons pas les travaux relatifs à son utilisation à des fins de superovulation.

Chez les petits ruminants, les traitements hormonaux d'induction et de synchronisation de l'oestrus et de l'ovulation sont une condition préalable à une mise à la reproduction à contre-saison et à l'utilisation de l'insémination artificielle. Cependant, l'utilisation répétée de PMSG est généralement suivie d'une baisse de la fertilité chez certaines brebis et certaines chèvres traitées pour l'IA. Des travaux ont montré que ce phénomène est corrélé, chez les caprins comme chez les ovins, à l'apparition d'anticorps dans le plasma de certaines femelles traitées (Baril *et al.*, 1992 ; Bodin *et al.*, 1995 ; Roy *et al.*, 1995). La

PMSG est utilisée depuis une quinzaine d'années pour induire et synchroniser l'oestrus des lapines. Cependant, sa nature protéique et exogène associée à son poids moléculaire élevé a fait craindre un pouvoir immunogène important, réduisant chez la lapine aussi son efficacité en cas d'usage prolongé.

Sur des lapines allaitantes au stade 11 jours *post partum*, une injection de PMSG permet d'améliorer le pourcentage de lapines réceptives au moment de l'insémination, quelle que soit la dose (10 UI : Bonanno *et al.*, 1991, 20 UI : Bonanno *et al.*, 1990 ; Maertens, 1998, 25 UI : Theau-Clément et Lebas, 1996 ; Theau-Clément *et al.*, 1998c, 30 UI : Mirabito *et al.*, 1994b, 35 UI : Bourdillon *et al.* 1992, 40 UI : Castellini *et al.* 1991). De plus son effet positif est maintenu après plusieurs injections au cours de 7 (Boiti *et al.*, 1995), 9 (Theau-Clément et Lebas, 1996) ou 11 cycles de reproduction (Theau-Clément *et al.*, 1998c).

Une injection de PMSG avant l'insémination augmente généralement la fertilité des lapines mais son efficacité pourrait dépendre des conditions de traitement (dose, mode d'injection, intervalle entre l'injection et l'insémination). Dans les mêmes conditions expérimentales, Alabiso *et al.* (1994) n'ont pas mis en évidence d'amélioration de la fertilité quand la dose injectée augmente de 20 à 40 UI.

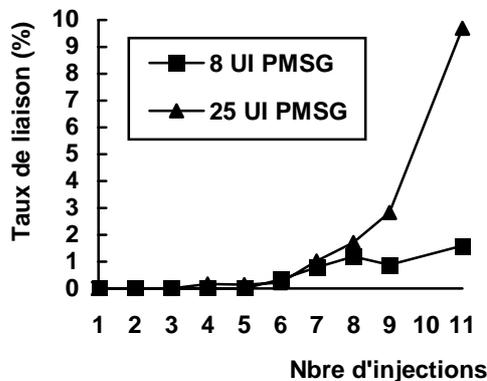
L'intervalle optimal entre l'injection de PMSG et l'IA n'a jamais été étudié précisément. Cependant, l'analyse de la bibliographie, montre que l'injection de 20 UI de PMSG (Bonanno *et al.*, 1993 ; Alabiso *et al.*, 1994, 1996) pratiquée 72 heures avant l'insémination ne conduit jamais à l'amélioration de la fertilité, alors que celle-ci est souvent décrite pour un intervalle de 48 heures.

L'efficacité du traitement dépend aussi de l'état physiologique des lapines au moment de l'insémination. Ainsi, la PMSG n'améliore pas la fertilité des nullipares (Castellini *et al.*, 1991; Parez, 1992; Alabiso *et al.*, 1994). A l'inverse, elle augmente la fertilité des lapines primipares (Bourdillon *et al.*, 1992; Davoust *et al.*, 1994; Maertens, 1998) et des allaitantes multipares (Davoust *et al.*, 1994; Mirabito *et al.*, 1994b; Theau-Clément and Lebas, 1996; Theau-Clément *et al.*, 1998c). L'injection de PMSG n'est pas justifiée sur des lapines non-allaitantes qui ont des potentialités de reproduction élevées. Quelques auteurs ont montré qu'un traitement de PMSG est susceptible d'augmenter les tailles de portée. Theau-Clément et Lebas, (1996) ont démontré que l'amélioration de la prolificité des lapines traitées n'est en fait associée qu'à l'augmentation du pourcentage de lapines réceptives.

L'immunogénicité de la PMSG a été démontrée pour la première fois par Canali *et al.* (1991) et confirmée par Boiti *et al.* (1995) suite à l'injection, respectivement de 40 et 20 UI. Selon ces auteurs, la concentration d'anticorps anti-PMSG dépend de l'intervalle entre injections ($r = -0,51$), elle augmente

après la 3^{ème} injection alors que simultanément, la fertilité diminue. Theau-Clément *et al.* (1998d) ont étudié l'évolution du taux d'anticorps consécutivement à l'administration de 8 ou 25 UI de PMSG à 124 lapines primipares pendant 11 séries d'insémination (intervalle entre injections : 35 jours). Des anticorps anti-PMSG (mesurés par le taux de liaison, figure 3) n'ont pu être détectés qu'après la 6^{ème} injection, cependant, l'intensité de la réaction immunitaire dépend de la dose administrée. A la fin de l'expérimentation, seulement 15 et 39 % des lapines traitées respectivement avec 8 ou 25 UI, avaient développé une immunité contre la PMSG. De plus, la productivité des lapines allaitantes est indépendante de la réponse immunitaire (hyperimmunes : 6.9 sevrés/IA, hypoimmunes : 7.0 sevrés/IA).

Figure 3. Ecart au témoin du taux de liaison en fonction du nombre d'injections de PMSG



Ainsi, en l'état actuel de nos connaissances, l'utilisation routinière de PMSG (20-25 UI, 48 heures avant l'insémination) des lapines allaitantes au stade 11 jours post partum, permet d'augmenter de façon durable le pourcentage de lapines réceptives au moment de l'insémination et en conséquence leur productivité (+ 47 % de lapereaux sevrés/IA) sans risque immunitaire important. Seulement 8 UI de PMSG suffisent pour stimuler efficacement les lapines au stade 4 jours post partum (Theau-Clément *et al.*, 1998cd). Cependant, il faut souligner que les conditions de traitement ont été peu étudiées, notamment la voie d'administration (sous-cutanée ou intramusculaire), le volume d'injection ainsi que l'intervalle entre l'injection et l'insémination.

2.1.2. La prostaglandine PGF2 α .

L'effet lutéolytique (régression des corps jaunes) des prostaglandines PGF2 α (naturelles ou synthétiques) a été utilisé afin d'induire et de synchroniser les mises bas ou pour induire la régression des corps jaunes de lapines pseudogestantes (McNitt, 1992). Un effet indirect de l'administration de PGF2 α au 29^{ème} jour de gestation pour synchroniser les mises bas, est l'augmentation de la réceptivité sexuelle et de la fertilité (+ 16 %, Ubilla et Rodriguez, 1988), quand les lapines sont inséminées à 7 jours *post partum*.

Différents auteurs ont étudié l'efficacité de la PGF2 α administrée 2-3 jours avant l'insémination, pour synchroniser l'oestrus des lapines. Les conclusions sont diverses. Stradaoli *et al.* (1993), n'ont pas mis en évidence, par rapport à un lot témoin, l'intérêt d'une injection de 200 μ g de PGF2 α 72 heures avant l'insémination, sur la réponse ovarienne (poids de l'ovaire, nombre de corps jaunes, follicules hémorragiques) et sur l'aptitude au développement embryonnaire précoce *in vitro*. A l'opposé, Facchin *et al.* (1992) et Alvariano *et al.* (1995), Alaphilippe et Bernard (1998) concluent que la PGF2 α administrée à des lapines inséminées 11 jours après la mise bas améliore les performances de reproduction.

Le fondement physiologique de ces travaux n'est pas précisé par les auteurs, cependant l'amélioration des performances de reproduction est parfois observée. On peut donc émettre l'hypothèse que la PGF2 α agit sur les lapines pseudogestantes, entraîne la régression des corps jaunes (levant l'inhibition de la progestérone notamment sur la sécrétion des oestrogènes) permettant ainsi un nouveau cycle de reproduction. De plus, des traitements simultanés de PMSG et d'analogues de PGF2 α sont proposés par Facchin *et al.* (1998). Il est vraisemblable que l'efficacité de cette association pharmacologique dépende du pourcentage de lapines pseudogestantes au moment de l'insémination. Cet aspect n'est jamais pris en compte par les auteurs.

Ainsi, les prostaglandines auraient une action indirecte sur l'induction de la réceptivité, seulement sur les lapines pseudogestantes, alors que la PMSG a une action directe sur l'ovaire (augmentation de la croissance folliculaire). Ces 2 hormones pourraient donc être complémentaires sur un troupeau comportant des lapines pseudogestantes.

2.2. Méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones

L'évolution prévisible de la réglementation sur l'utilisation d'hormones exogènes engage à rechercher des méthodes alternatives pour améliorer la réceptivité sexuelle des lapines et en conséquence leur productivité. Pour ces raisons, un travail important a été réalisé ces dernières années, en particulier par l'I.R.R.G. (International Rabbit Reproduction Group) pour proposer des méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones appelées "Biostimulations" (Boiti, 1998, Theau-Clément *et al.*, 1998e). Ces méthodes appliquées immédiatement avant l'insémination, doivent être faciles d'application, peu onéreuses, compatibles avec le bien-être animal et bien adaptées à la conduite en bande. Jusqu'à présent, différentes techniques ont été essayées telles que : la manipulation des animaux, une séparation courte de la mère et de sa portée, des programmes alimentaires, des programmes lumineux et la proximité des mâles. En effet, des modifications environnementales telles que la durée d'éclairage quotidien, la température, l'alimentation, le stress, des stimulations auditives ou olfactives peuvent modifier la balance endocrinienne

Tableau 1. Performances de reproduction des lapines allaitantes (11 jours *post partum*) momentanément séparées de leur portée (écart au témoin).

Système d'allaitement avant et après la séparation	Durée de la séparation	Auteurs	Réceptivité (%)	Fertilité (%)	Nés vivants /portée	Poids individuel sevrage	Poids sevrés /IA (%)
Allaitement libre	24 h	<i>Pavois et al. (1994)</i>	+ 26%	+ 13%	NS	-	+ 16% (nais.)
		<i>Alvariño et al. (1998)</i>	-	NS	NS	- 36 g	-
		<i>Theau-Clément et al. (1999)</i>	+ 8%	+ 13%	NS	- 34 g	+ 19%
		<i>Maertens et al. (2000)</i>	-	NS	-	NS	-
		<i>Theau-Clément et al. (2003)</i>	NS	NS	NS	NS	NS
<i>idem</i>	36 h	<i>Pavois et al. (1994)</i>	+ 23%	+ 11%	NS	NS	+ 14%
		<i>Alvariño et al. (1998)</i>	-	+ 11%	NS	-73 g	-
<i>idem</i>	40 h	<i>Maertens (1998)</i>	+ 38%	+ 11%	+ 1.1	- 47 g	+ 9%
<i>idem</i>	48 h	<i>Alvariño et al. (1998)</i>	-	NS	NS	- 68 g	-
		<i>Bonanno et al. (2000)</i>	+ 21%	+ 23%	NS	NS	+ 28%
		<i>Bonanno et al. (2002)</i>	NS	+ 24%	NS	- 38 g	(70j)
		<i>Bonanno et al. (2004)</i>	NS	+ 17%	NS	- 48 g	+ 54 %
		<i>Bonanno et al. (2005)</i>	+ 27%	+ 18%	NS	NS	+ 35%
<i>idem</i>	48 h	<i>Virag et al. (1999)</i>	-	+ 20%	NS	- 27 g	+ 25% + 20%
Allaitement contrôlé	48 h	<i>Szendrö et al. (1999)</i>	NS	NS	NS	- 34 g	-
		<i>Bonanno et al. (2000)</i>	NS	NS	NS	NS	+ 7% (70d)

NS: Non Significatif (P>0.05)

Tableau 2. Performances de reproduction des lapines allaitantes (11 jours *post partum*) quand le système d'allaitement libre est changé en allaitement contrôlé 2 ou 3 jours avant l'insémination (écart au témoin).

Durée de l'allaitement contrôlé ⁽¹⁾ avant AI	Durée de l'allaitement après IA	Auteurs	Réceptivité (%)	Fertilité (%)	Nés vivants /portée	Poids individuel sevrage	Poids sevrés/IA (%)
2 jours	0 jour	<i>Matics et al. (2004b)</i>	NS	NS	NS	NS	-
		<i>Eiben et al. (2004b)⁽²⁾</i>	-	+ 17%	NS	+ 29 g	+51%
		<i>Bonanno et al. (2004)</i>	NS	+ 15%	NS	NS	+44.%
		<i>Bonanno et al. (2005)</i>	+ 18%	+15%	NS	NS	+ 21%
2 jours	3 jours	<i>Eiben et al. (2004b)⁽²⁾</i>	-	+ 27%	+ 1.6	+ 34 g	+ 86%
		<i>Eiben et al. (2004b)⁽³⁾</i>	-	+ 26%	NS	+ 37 g	+ 76%
2 jours	7 jours	<i>Eiben et al. (2004a)⁽³⁾</i>	NS	NS	NS	- 67 g	+ 26%
3 jours	0 jour	<i>Matics et al. (2004b)</i>	+ 21%	NS	+ 1.2	NS	?
		<i>Szendrö et al. (2005b)</i>	-	+ 9%	NS	-20g	+ 5%

⁽¹⁾ 2 ou 3 jours avant l'IA, la boîte à nid est fermée pendant 24 heures (de 9 heures le jour X à 9 heures le jour X+1), à l'exception de 15 minutes pendant lesquelles la lapine allaite sa portée.

fermée après un allaitement contrôlé, 15 minutes après.

⁽²⁾ La boîte à nid est retirée (pas seulement fermée)

⁽³⁾ Un grillage est inséré pendant la séparation

de la lapine et faire varier les performances de reproduction. En effet, l'environnement joue un rôle important dans la régulation de la fonction de reproduction par l'intermédiaire du système nerveux et de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

2.2.1. Manipulation des animaux.

L'efficacité de la manipulation d'animaux tels que le changement de cage (Lefèvre et Moret, 1978 ; Rebollar *et al.*, 1995 ; Luzi et Crimella, 1998 ; Rodriguez de Lara *et al.*, 2000, 2003) ou le regroupement des lapines avant l'insémination (Mirabito *et al.*, 1994a ; Duperray *et al.*, 1999) n'est pas clairement démontrée, les conclusions des divers travaux pouvant être opposées. De plus, ces méthodes sont difficiles d'application en élevage, dans la mesure où la gestion des animaux (et leur identification) ainsi que la maîtrise sanitaire, est rendue difficile par le changement fréquent de cages.

2.2.2. Séparation ponctuelle de la mère et sa portée.

Chez la truie, une séparation quotidienne de 6 à 12 heures entre 2 et 5 semaines *post partum*, induit l'oestrus chez 65 % des mères (*vs* 50 % dans le lot témoin ; Stevenson et Davis, 1984). Chez la lapine, une séparation mère-jeunes de 24 heures s'accompagne parfois d'une amélioration de la réceptivité sexuelle et de la fertilité des lapines allaitantes (Pavois *et al.*, 1994 ; Maertens, 1998 ; Theau-Clément et Mercier, 1999, tableau 1). Cependant dans certains cas, cette stimulation a été parfois insuffisante (Alvariño *et al.*; 1998 ; Maertens *et al.*, 2000, Theau-Clément et Mercier, 2003). A partir de 36 heures de séparation, le pourcentage de lapines réceptives et la fertilité sont généralement améliorés (écart de fertilité par rapport au témoin : de + 11 % à + 24 %). La séparation ponctuelle de la mère et sa portée n'influence généralement pas la taille de portée, elle n'augmente ni la fréquence des mammites des mères, ni la mortalité des jeunes lapereaux (Maertens, 1998 ; Bonanno *et al.* 1999ab, 2000, 2004). Même si la plupart des études montrent que la séparation s'accompagne de la diminution du poids au sevrage des jeunes lapereaux, de 36 à 48 heures de séparation améliore généralement la productivité globale (par rapport au lot témoin : 36h: +14%, Pavois *et al.*, 1994 ; 40h: +9%, Maertens, 1998 ; 48h: +28% Bonanno *et al.* 2000, +54% Bonanno *et al.* 2002, +35% Bonanno *et al.* 2004, +25% Bonanno *et al.*, 2005, +20% Virag *et al.*, 1999).

Cette stimulation doit être effectuée juste avant l'IA (Castellini *et al.*, 1998) et l'insémination doit être réalisée immédiatement après le 1^{er} allaitement qui suit la remise en présence de la mère et sa portée (Szendrő *et al.*, 1999). Cependant, l'effet positif de cette stimulation est net quand l'allaitement est libre avant et après la stimulation, il l'est moins quand un allaitement contrôlé est appliqué avant et après la stimulation (Szendrő *et al.*, 1999 ; Bonanno *et al.*, 2000, tableau 1).

L'allaitement contrôlé, qui consiste à fermer les boîtes à nid et ne les ouvrir que quelques minutes tous les jours, est une pratique courante dans les élevages. Afin de limiter l'effet d'une séparation sur la croissance des jeunes, l'effet de 2 ou 3 jours d'allaitement contrôlé avant l'IA a été étudié (tableau 2). Cette pratique correspond respectivement à 2 x 24 h ou 3 x 24 h de séparation mère-jeunes, permettant ainsi aux jeunes lapereaux de téter au moment de l'ouverture de la boîte à nid (de 15 à 30 minutes le matin). Parfois, l'allaitement contrôlé est prolongé de 3 à 7 jours après l'insémination. A l'exception de l'étude de Matics *et al.* (2004), qui obtenaient une fertilité élevée du troupeau témoin (78 %), un allaitement contrôlé 2 jours avant l'insémination augmente la fertilité (de 15 à 17 % : Eiben *et al.*, 2004b ; Bonanno *et al.*, 2004, 2005). Ainsi, quand les lapereaux sont allaités tous les jours, la croissance n'est plus déprimée et la productivité est systématiquement améliorée (en écart au témoin : Eiben *et al.*, 2004b : + 51 % ; Bonanno *et al.*, 2004 : + 44 % ; Bonanno *et al.*, 2005 : + 21 %).

Si l'allaitement est poursuivi 3 jours après l'insémination, Eiben *et al.* (2004b) ont observé un gain de fertilité et de prolificité, conduisant à une amélioration sensible de la productivité (+ 25-35 % de poids de lapereaux sevrés/IA, en comparaison avec seulement 2 jours d'allaitement contrôlé avant l'insémination).

L'allaitement contrôlé poursuivi 7 jours après l'insémination déprime la croissance des jeunes, cependant en comparaison avec un lot témoin caractérisé par une fertilité faible (33 %), la productivité est augmentée de 26 % (Eiben *et al.*, 2004a, 2005).

L'application d'un allaitement contrôlé 3 jours avant l'insémination donne des résultats variables (Szendrő *et al.*, 2005c : amélioration de la fertilité mais diminution de la croissance des jeunes, Matics *et al.*, 2004 : amélioration de la taille de portée à la naissance et au sevrage).

Eiben *et al.* (2004b) ont montré que la méthode de séparation peut aussi influencer la productivité. Une séparation grillagée (stimulation visuelle, olfactive et auditive) est moins efficace qu'une séparation faite d'un plateau métallique (pas de stimulation visuelle) ou le retrait des lapereaux (aucune stimulation).

L'efficacité d'une séparation mère-jeunes pourrait dépendre de la parité. Ainsi, Maertens (1998) et Virag *et al.* (1999) améliorent la fertilité essentiellement des primipares (respectivement, + 30 % et + 43 %). Bonanno *et al.* (2000, 2002 et 2005) observent une amélioration de la fertilité (de 19 à 35 %) consécutive à 48 heures de séparation lors des 3 premières portées, alors que la stimulation est inefficace sur les lapines de parité supérieure. Par ailleurs, Bonanno *et al.* (2002) démontrent que lorsque la séparation est appliquée sur des lapines ayant produit plus de 3 portées, la fertilité n'est plus améliorée par rapport au

lot témoin. Ce résultat suggère que l'effet d'une séparation de la mère et sa portée dépend du nombre de traitements successifs.

Il faut souligner dans ces études, la grande variabilité de la fertilité du lot témoin (de 33 à 82 %), malgré des conditions expérimentales similaires (rythme de reproduction : 42 jours, conduite en bande, insémination artificielle). Cette observation illustre la limite de nos connaissances de la physiologie de la lapine. De plus, on ne retrouve pas systématiquement la relation positive qui lie généralement la réceptivité à la fertilité. Ceci est vraisemblablement dû à la méthode d'appréciation de la réceptivité qui est souvent basée sur l'observation visuelle et donc subjective, de la couleur et de la turgescence de la vulve.

Au niveau physiologique, 48 heures de séparation s'accompagne d'une diminution de la sécrétion de prolactine 24 heures après le début de la stimulation, alors que la concentration plasmatique de 17β -oestradiol augmente le jour de l'IA (confirmé par Rebollar *et al.*, 2004, sur des lapines au stade 4 jours *post partum*), de plus la réponse LH au traitement GnRH est plus élevée (Ubilla *et al.*, 2000, 2001). Ce résultat suggère que la diminution de sécrétion de prolactine, due à l'absence d'allaitement, stimule la croissance folliculaire et la stéroïdogénèse, améliorant ainsi la réceptivité et la fertilité des lapines momentanément séparées de leur portée. Par ailleurs, la séparation pourrait agir comme un stress positif et influencer l'équilibre hormonal des lapines. En effet, une privation maternelle précoce influence le développement des lapereaux, réduit la mortalité sous la mère et améliore leur fertilité postérieure (Boiti *et al.*, 2001 ; Brecchia *et al.*, 2001).

*Pour un rythme de reproduction de 42 jours, dans une situation d'allaitement libre, une séparation de 36 heures entre la mère et sa portée est une alternative à l'utilisation d'hormones pour induire la réceptivité des lapines et améliorer en conséquence leur productivité (Maertens, 1998 ; Alvarino *et al.*, 1998 ; Bonanno *et al.*, 2005). Cette stimulation doit être appliquée juste avant l'insémination qui est pratiquée immédiatement après le premier allaitement suivant la séparation. Cependant, cette courte privation maternelle déprime la croissance des jeunes. Ainsi les études s'orientent plus vers la recherche de l'optimisation de l'allaitement contrôlé appliqué juste avant l'insémination. En l'état actuel de nos connaissances, quand l'allaitement libre est appliqué avant et après l'insémination, 2 jours d'allaitement contrôlé par fermeture des boîtes à nid, permet d'améliorer la productivité (au moins de 20 %) sans affecter la croissance des jeunes. Cette méthode permet d'obtenir le même niveau de productivité que 48 heures de séparation ou l'injection préalable de 20 UI de PMSG (Bonanno *et al.*, 2005). L'intérêt de poursuivre l'allaitement contrôlé après l'insémination doit être confirmé car utilisé plus longuement, il est susceptible de déprimer les performances. Cependant, d'autres questions restent posées, notamment la durabilité de l'effet de cette stimulation en relation avec le nombre de traitements successifs et la parité des lapines.*

2.2.3. Programmes alimentaires.

Chez la brebis, le poids avant la saillie reflète le statut nutritionnel et a une influence déterminante sur le taux d'ovulation, la fertilité et la prolificité (Theriez, 1984). Ainsi, l'augmentation du poids avant la saillie a un effet positif sur les performances de reproduction. Inversement, un déficit nutritionnel avant la saillie déprime le taux d'ovulation et la viabilité embryonnaire. Ainsi le "flushing" qui consiste à augmenter la ration alimentaire (énergie) juste avant la saillie est couramment pratiqué.

Chez la lapine, sans restriction alimentaire préalable, Fortun-Lamothe (1998) suggère qu'un "flushing" alimentaire est susceptible d'améliorer la fertilité. A l'inverse, elle démontre qu'une restriction alimentaire déprime la réceptivité et le poids de portée des lapereaux. Maertens (1998) n'a pas amélioré les performances de reproduction des lapines allaitantes recevant un flushing alimentaire 4 jours avant l'insémination. A l'opposé, Luzi *et al.* (2001) améliorent la fertilité et la productivité des lapines en administrant un flushing énergétique (2 % de propylène glycol dans l'eau de boisson) 4 jours avant l'insémination.

Suite à une restriction alimentaire durant deux semaines, Gosalvez *et al.* (1995) ont amélioré le pourcentage des lapines qui ovulent (à l'âge de 17 semaines) après un flushing alimentaire, 4 jours avant l'injection de LHRH. Brecchia *et al.* (2004) ont étudié les effets de 24 à 48 heures de jeûne suivi d'une stimulation qui consistait à alimenter à nouveau les lapines 2 heures avant l'insémination. En comparaison avec un lot témoin nourri *ad libitum*, le flushing alimentaire n'a pas été suffisant pour améliorer les performances de reproduction des lapines. Au niveau physiologique, ces auteurs ont montré que ce programme alimentaire réduit l'expression des récepteurs au 17β -oestradiol au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire, la fréquence et l'amplitude de la sécrétion des oestrogènes, le pic de LH et la concentration plasmatique de leptine.

Un flushing alimentaire après une période de restriction pourrait améliorer les performances de reproduction, au moins chez les jeunes lapines. S'il est clairement démontré que des programmes alimentaires sont susceptibles de déprimer les performances de reproduction, à l'inverse, aucune étude ne débouche sur la proposition d'un programme susceptible d'améliorer les performances de reproduction sans déprimer la croissance des lapereaux.

2.2.4. Programmes lumineux.

Sous nos latitudes, Hammond et Marshall (1925) et Boyd (1986) rapportent que le lapin sauvage (*Oryctolagus cuniculus*) a un cycle de reproduction saisonnier bien défini : la plupart des gestations se situent entre le mois de février et le début du mois d'août, avec un pic en mai. La fertilité est donc maximale en jours croissants. Walter *et al.* (1968) ont montré chez le lapin domestique, que 16 heures d'éclairement artificiel quotidien et continu pendant

toute l'année, réduit les problèmes de reproduction normalement associés aux périodes de jours décroissants. A l'opposé, Schüddemage *et al.* (1999) ont montré sur une durée expérimentale de 1 an, que les lapines placées sous 8 heures d'éclairement artificiel quotidien, produisent +5 % de nés vivants par portée, que celles placées sous 16 heures d'éclairement. Dans une étude récente, Theau-Clément et Mercier (2004) ont montré que sous un éclairage constant, le choix de 8 ou 16 heures de lumière influence peu la productivité. Cependant, sous 16 heures de lumière, les lapines de production de chair (INRA 0067) sont plus réceptives et les lapereaux ont une meilleure croissance.

Le passage brutal de 8 à 16 heures de lumière par jour, 8 jours avant l'insémination améliore, par rapport à un lot témoin (éclairage continu de 16 heures de lumière/jour), la réceptivité sexuelle (Theau-Clément *et al.* 1990b) et la fertilité (Mirabito *et al.*, 1994b) des lapines. Cependant, les portées sont plus légères au sevrage. La stimulation lumineuse doit être suffisante : en effet, appliquée seulement 5 jours avant l'insémination, le passage brutal de 10 à 16 heures de lumière n'améliore pas les performances de reproduction (Maertens et Luzi, 1995).

Toutefois, chez le lapin, le mode d'action de la photopériode est mal connu. Chez les mammifères, la connaissance des effets de la photopériode sur le système neuroendocrinien et sur la fonction de reproduction a permis l'application de traitements lumineux pour contrôler l'activité saisonnière de la reproduction (Chemineau *et al.*, 1992).

Les résultats de ces quelques expérimentations sont encourageants et illustrent la nécessité d'étudier les effets du photopériodisme sur la reproduction du lapin. Szendrő et al. (2005a) ont montré que les programmes lumineux interagissent avec le moment de l'allaitement. Il est vraisemblable qu'ils influencent la production laitière des mères, la consommation et la croissance des jeunes. Faciles d'application et peu coûteux, les programmes lumineux seront d'autant plus efficaces que les lapines sont au même état physiologique. Ils sont donc parfaitement adaptés à la conduite en bande.

2.2.5. Proximité des mâles.

Dans différentes situations physiologiques, la présence du mâle peut influencer les sécrétions hormonales et le comportement des femelles chez beaucoup d'espèces ongulées. Chez la brebis (Mauléon et Dauzier, 1965), la vache (Signoret, 1980), la truie, (Rowlinson et Bryant, 1974), l'introduction de mâles dans le troupeau réduit la durée de l'anoestrus de lactation et avance l'ovulation consécutive à l'apparition de l'oestrus (Lindsay *et al.*, 1975 ; Poindron et Le Neindre, 1980), en avançant le pic pré-ovulatoire de LH (Martin et Scaramuzzi, 1983). Chez des brebis de différentes races en anoestrus saisonnier, l'introduction des mâles (après une période d'isolation) induit et synchronise l'oestrus (Oldham *et al.*, 1978). De même

l'introduction de boucs dans un troupeau de chèvres induit des ovulations synchrones les jours suivants (Chemineau, 1987).

Pour certaines espèces d'élevage, "l'effet mâle" a été utilisé pour contrôler la reproduction et apparaît comme une alternative biologique aux traitements hormonaux, au moins à certaines périodes de l'année. Nous ne savons pas si des mécanismes similaires peuvent être transposés à une espèce telle que le lapin dont l'ovulation est provoquée par l'accouplement. Certains auteurs font l'hypothèse, que la lapine émet des signaux spécifiques qui attirent les mâles et contiennent l'information de son état sexuel (Vodemayer, 1989 ; Hudson et Distel, 1990 ; McNitt, 1992). A l'opposé, la nature des échanges olfactifs entre le mâle et la femelle sont mal connus. Les phéromones sécrétées par les glandes sébacées des mâles pourraient induire la réceptivité sexuelle des lapines (Frank, 1966). Chez les nullipares, la présence de mâles contribue à augmenter le taux d'acceptation de l'accouplement (Lefèvre *et al.*, 1976) et améliore la fertilité (Berepudo *et al.*, 1993). Cependant, ni la présence de mâles, ni leur proximité pendant une période de 4 ou 48 heures (Bonanno *et al.*, 2003), 3 ou 4 jours (Kustos *et al.*, 2000 ; Eiben, *et al.*, 2001) avant l'insémination, n'améliore la réceptivité, et la fertilité des lapines allaitantes.

Ces premiers résultats sont décevants, de plus ces pratiques sont trop laborieuses pour être mises en oeuvre dans les exploitations cynicoles.

Conclusion

Dans un élevage, à un instant donné, la productivité d'un troupeau de bon état sanitaire sera d'autant plus importante et homogène qu'il comprendra une proportion élevée de lapines réceptives et un minimum de lapines allaitantes et non-réceptives et/ou pseudogestantes. Il est donc pertinent de rechercher des méthodes d'induction de la réceptivité susceptibles d'améliorer non seulement la fertilité, mais aussi la productivité globale des lapines, sans déprimer la croissance des jeunes sous la mère. Bien sûr, l'utilisation de systèmes plus extensifs permettrait de s'affranchir totalement de l'antagonisme entre la lactation et la reproduction, ils doivent être cependant économiquement viables pour l'éleveur.

L'utilisation routinière de PMSG sur des lapines allaitantes permet d'augmenter de façon durable la proportion de lapines réceptives au moment de l'IA et en conséquence leur productivité, sans risque immunitaire important. Appliquées juste avant l'IA, des méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones ont été étudiées. Une manipulation des animaux (changement de cage ou le regroupement des lapines avant l'insémination) ou la proximité des mâles n'améliorent pas clairement les performances de reproduction des lapines. De plus, ces méthodes sont coûteuses en temps et difficiles à gérer dans les élevages. Une séparation de 36 heures de la mère et sa

portée pourrait être une alternative aux traitements hormonaux, si elle est appliquée juste avant l'insémination, sur des lapines préalablement en situation d'allaitement libre. Cependant, l'application d'un allaitement contrôlé 2 à 3 jours avant l'insémination permet de préserver la croissance des jeunes sous la mère pour une efficacité identique sur la fertilité. Les programmes alimentaires (flushing) ou des stimulations lumineuses ouvrent des perspectives de recherche intéressantes.

Si certaines de ces méthodes améliorent la fertilité, elles sont susceptibles parfois de diminuer la croissance des lapereaux (programmes lumineux, séparation ponctuelle de la mère et sa portée...). En conséquence, pour une application raisonnée dans les élevages, il est important de considérer des critères de productivité globale et d'étudier la durabilité des effets. Par ailleurs, l'étude et l'exploitation de la variabilité génétique de la réceptivité sexuelle des lapines au moment de l'insémination, pourrait aussi être une voie d'amélioration des résultats d'insémination. Cependant, une meilleure connaissance des mécanismes physiologiques sous-jacents permettrait également d'améliorer le contrôle de la reproduction dans les élevages.

Références

- ALABISO M., BONANNO A., ALICATA M.L., PORTALANO B. 1994. Trattamento "differenziato" con PMSG su coniglie inseminate artificialmente. *Rivista di Coniglicoltura* 31(1/2), 25-30.
- ALABISO M., BONANNO A., ALICATA M.L., LETO G., TODARO M. 1996. Productivity of rabbit does subjected to artificial insemination and natural mating. *6th World Rabbit Congress, 9-12 July, 1996, Toulouse, France*, Vol. 2, 29-35.
- ALAPHILIPPE A., BERNARD F. 1998. Effets d'une administration de prostaglandines F2 α naturelles sur la fertilité et la prolificité des femelles et la viabilité des lapereaux produits. *7^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Lyon 13-14 mai*, 229-231.
- ALVARIÑO J.M.R., REBOLLAR P.G., ARCO J.A., TORRES R. 1995. Estimulación ovarica en la coneja mediante prostaglandina F2 α y PMSG. *Informacion Technica Economica Agraria, VI Jornadas sobre la Produccion Animal*, Vol Extra 16, Tomo I.
- ALVARIÑO J.M.R., DEL ARCO J.A., BUENO A. 1998. Effect of mother-litter separation on reproductive performance of lactating rabbit females inseminated on day 4 or 11 post partum. *World Rabbit Science*, Vol.6(1), 191-194.
- AVERY T.L., FAHNING M.L., GRAHAM E.F. 1962. Investigations associated with the transplantation of bovine ova. II. Superovulation. *Journal of Reproduction and Fertility*, 3, 212.
- BARIL G., REMY B., VALLET J.C. BECKERS J.F. 1992. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for oestrus control in dairy goats out of breeding season. *Reproduction in Domestic Animals*, 27(3), 161-168
- BATTAGLINI, M., BOITI, C., CANALI, C., COSTANTINI, F. 1986. Parametri riproduttivi di coniglie New Zealand White fecondate artificialmente in relazione allo stato endocrino-sessuale al momento della somministrazione di GnRH. *Atti del 6° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale, Italie*, 455-459
- BEREPUDO N.A., NODU M.B., MONSI A., AMADI E.N. 1993. Reproductive response of prepubertal female rabbit to photoperiod and/or male presence. *World Rabbit Science*, Vol.1(2), 83-87.
- BEYER C. ET RIVAUD N. 1969. Sexual behavior in pregnant and lactating domestic rabbits. *Physiology and Behavior*, 4, 753-757.
- BODIN L., BRICE G., REMY B., MAUREL M.C., BECKERS J.F. 1995. Effects of repeated PMSG treatments on sheep reproduction. *46th Annual Meeting of the European Association for Animal Reproduction, 4-7 septembre, 1995, Prague*, Abstract.
- BOITI C., CASTELLINI C., CANALI C., ZAMPINI D., MONACI M. 1995. Long term effect of PMSG on rabbit does reproductive performance. *World Rabbit Science*, 3(2), 51-56.
- BOITI C., CANALI C., MONACI M., STRADAIOLI G., VERINI SUPPLIZI A., VACCA C., CASTELLINI C., FACCHIN E. 1996. Effect of postpartum progesterone levels on receptivity, ovarian response, embryo quality and development in rabbits. *6th World Rabbit Congress, 9-12 July, 1996, Toulouse, France*, Vol 2, 45-50.
- BOITI C. 1998. International collaboration in rabbit reproduction research: presentation of the IRRG group. *World Rabbit Science*, Vol.6(1), 175-178.
- BOITI, C., CANALI, C., BRECCHIA, G., ZANON, F., FACCHIN, E. 1999. Effects of induced endometritis on the life-span of corpora lutea in pseudopregnant rabbits and incidence of spontaneous uterine infections related to fertility of breeding does. *Theriogenology*, 52, 1123-1132.
- BOITI C., BONANNO A., BRECCHIA G., ALABISO M., DI GRIGOLI A., ZAMPINI D. 2001. Influence d'une séparation mère-jeunes pendant 48 heures, sur la croissance et la sensibilité à un stress des lapereaux. *9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 167-170, Paris.
- BOITI C. 2004. Underlying physiological mechanisms controlling the reproductive axis of rabbit does. *8th World Rabbit Congress, September 7-10, 2004, Puebla, Mexico*, 186-206.
- BOITI C., BRECCHIA G., MARANESI M., DELL'AGLIO C., GOBBETTI A., ZERANI M. 2005. 212 °F at Perugia: what inside the Petri dish. *COST Meeting, Palermo, Italy, 23-25 June, 2005*, 32.
- BONANNO A., BUDETTA G., ALABISO M., ALICATA M.L. 1990. Effetti del trattamento PMSG-GnRH sull'efficienza ovulatoria delle coniglie. *Acta Medica Veterinaria*, 36, 441-451.
- BONANNO A., ALABISO M., ALICATA M.L. 1991. Effetti del trattamento sincronizzante con PMSG su coniglie inseminate artificialmente. *Rivista di Coniglicoltura*, 28(11), 29-32.
- BONANNO A., ALABISO M., ALICATA M.L., PORTOLANO B. 1993. Prestazioni riproduttive di coniglie sincronizzate con 20 U.I di PMSG e sottoposte ad I.A. *Rivista di Coniglicoltura*, 30(2), 37-40.
- BONANNO A., ALABISO M., DI GRIGOLI A., ALICATA M.L. 1999a. Effect of change of cage and/or mother-litter separation on productivity of non-receptive lactating rabbit does. Preliminary investigations. *World Rabbit Science*, Vol.7(2), 107-111.
- BONANNO A., ALABISO M., DI GRIGOLI A., ALICATA M.L. 1999b. Effect of a 48h delayed insemination with or without a 48h doe-litter separation on performance of non-receptive does. *World Rabbit Science*, Vol.7(3), 171-175.
- BONANNO A., ALABISO M., DI GRIGOLI A., ALICATA M.L., MONTALBANO L. 2000. Effect of a 48-hour doe-litter separation on performance of free or controlled nursing rabbit does. *Proceedings 7th World Rabbit Congress, Valencia, Spain*, Vol. A, 97-103.

- BONANNO A., DI GRIGOLI A., ALABISO M., BOITI C. 2002. Parity and number of repeated doe-litter separation treatments affect differently the reproductive performances of lactating does. *World Rabbit Science*, Vol. 10(2), 63-70.
- BONANNO A., MAZZA F., ALABISO M., DI GRIGOLI A., ALICATA M.L. 2003. Effects of bio-stimulation induced by contact with buck on reproductive performance of rabbit does. *Proceedings of the A.S.P.A. 15th Congress. Italian J. of Animal Science*, Vol. 2 –Supplement 1, 133-135.
- BONANNO A., MAZZA F., DI GRIGOLI A., ALABISO M. 2004. Effects of a split 48-hour doe-litter separation on productivity of free nursing does and their litters. *Livestock Production Science*, 89, 287-295.
- BONANNO A., MAZZA F., DI GRIGOLI A., TORNAMBÈ G. 2005. Both 48-hour doe-litter separation and 2-day controlled suckling improved fertility of 11-day lactating does similarly to 20 IU of PMSG. *Cost Action 848. Joint Scientific Meeting: Management and housing of rabbit does: reproductive efficiency and welfare interactions. June 23-25, 2005, Palermo, Italy.*
- BOURDILLON A., CHMITELIN F., JARRIN D., PAREZ V., ROUILLERE H. 1992. Effect of PMSG treatment on breeding result of artificial inseminated rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research* 15, 530-537.
- BOYD I. L. 1986. Effect of daylength on the breeding season in male Rabbit. *Mammalian Review*, 16, 125-130.
- BRECCIA G., ZAMPINI D., GUELFI G., MAZZA F., BONANNO A., BOITI C. 2001. Effects of early maternal deprivation on the neuroendocrine responses of young rabbits. *4th International Conference on Farm Animal Endocrinology, Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, Vol 5, 49.
- BRECCIA G., BONANNO A., GALEATI G., DALL'AGLIO C., DI GRIGOLI A., PARRILLO F., BOITI C. 2004. Effects of a short and long term fasting on the ovarian axis and reproductive performance of rabbit does. *8th World Rabbit Congress, September 7-10, 2004, Puebla, Mexico*, 231-236.
- BROWNING J.Y., KEYES P.F., WOLF R.C., 1980. Comparison of serum progesterone, 20-alpha-dihydroprogesterone, and estradiol-17-beta in pregnant and pseudopregnant rabbits: Evidence for postimplantation recognition of pregnancy. *Biology of Reproduction*, 23, 1014-1019.
- BRUN, J.M., BOLET, G., THEAU-CLEMENT, M., ESPARBIE, J., FALIERES, J. 1999. Constitution d'une souche synthétique de lapines à l'INRA : 1. Evolution des caractères de reproduction et du poids des lapines dans les premières générations. *8^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 9-10 Juin, 1999, Paris, France*, 123-126.
- CANALI, C., BOITI, C., CASTELLINI, C., ZAMPINI, D. 1991. Riposta anticorpale delle coniglie trattate ripetutamente con PMSG nella pratica della sincronizzazione degli estri. *2^o Meeting Nazionale Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico, Bergamo, Italie 24 novembre, 1989*, 103-108.
- CASTELLINI, C., CANALI, C., BOITI, C., BATTAGLINI, M. 1991. Effetto del PMSG sulle prestazioni riproduttive di coniglie fecondate artificialmente. *Atti IX Congresso Nazionale ASPA, Rome, Italie*, 679-683.
- CASTELLINI C., CANALI C., BOITI C. 1998. Effect of mother-litter separation for 24 hours by closing the nestbox or change of cage, on rabbit doe reproductive performance. *World Rabbit Science*, Vol.6(1), 199-203.
- CASTELLINI C. AND LATTAIOLI P. 1999. Effect of motile sperms inseminated on reproductive performance of rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.*, 57, 111-120.
- CHANG, M.C. ET PICKWORTH, S. 1969. Egg transfer in the laboratory animal. In *The Mammalian Oviduct* (ed. E. S. E. Hafez and R. J. Blandau), University of Chicago. Press, Chicago.
- CHEMINEAU P. 1987. Possibilities of using Bucks to stimulate ovarian and oestrus cycles in anovulatory goats- A review. *Livestock Production Science*, 17, 135-147.
- CHEMINEAU P., MALPAUX B., DELGADILLO J.A., GUERIN Y., RAVAUULT J.P., THIMONIER J., PELLETIER J. 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Animal Reproduction Science*, 30, 157-184.
- CHMITELIN, F., ROUILLERE, R., BUREAU, J. 1990. Performances de reproduction des femelles en insémination artificielle en post partum. *5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 12-13 Décembre, 1990, Paris, France*. Tome I, Comm. 4.
- DAVOUST, C. 1994. Résultats techniques d'une conduite en IA à 35 jours. *Cuniculture* n° 115, 21(1), 25-40.
- DAVOUST, C., SALEIL, G., THEAU-CLEMENT, M., ROUSTAN, A. 1994. Influence de l'association PMSG-hCG sur la productivité numérique de lapines allaitantes conduites en bande unique à 35 jours (en insémination artificielle). *6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 6-7 Décembre, 1994, La Rochelle, France*. Vol 1, 145-152.
- DELAVEAU, L. 1978. Chez la lapine, difficultés d'obtenir des saillies fécondantes. *Cuniculture* n° 22, 5(4), 159-160.
- DIAZ, P., GOSALVEZ, L.F., RODRIGUEZ, J.M. 1988. Sexual Behaviour in the Postpartum Period of Domestic Rabbits. *Animal Reproduction Science*, 17, 251-257.
- DRION, P.V., REMY, B., HOUTAIN, J.Y., MC NAMARA, M., BARIL, G., HEYMAN, Y., COGNIE, Y., THEAU-CLEMENT, M., LEBOEUF, B., ECTORS, F., SEGERS, K., BECKERS, J.F. 1998. Utilisation répétée des gonadotropines exogènes dans le contrôle de la reproduction : justifications, relations structure-activité biologique, effets secondaires potentiels. Une synthèse. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 142, 373-396.
- DUPERRAY J., ECKENFELDER B., THEBAULT T., PROVOST J.P. 1999. Effet du regroupement des lapines avant l'insémination sur leurs performances de reproduction. *8^{èmes} Journ. Rech. Cunicole Fr., Paris, 1999*, 167-170.
- EIBEN CS., KUSTOS K., SZENDRO ZS., THEAU-CEMENT M., GODOR-SURMANN K. 2001. Effect of male presence before artificial insemination on the receptivity and prolificacy in lactating rabbit does. *12th Symposium on Housing and Diseases of Rabbits, Furbearing Animals and Pet Animals, Celle*, 1-6.
- EIBEN CS., KUSTOS K., GÓDOR-SURMANN K., THEAU-CLÉMENT M., SZENDRŐ Zs. 2004a. Effect of change in nursing method on the performance of rabbit does. *World Rabbit Science*, Vol. 12, (3), 173-183.
- EIBEN CS., KUSTOS K., GÓDOR-SURMANN K., KOTÁNY SZ., THEAU-CLÉMENT M., SZENDRŐ Zs. 2004b. Effect of nursing methods on productivity in lactating rabbits. *8th World Rabbit Congress, September 7-10, 2004, Puebla, Mexico*, 263-269.
- EIBEN CS., TÓBIÁS G., KUSTOS K., GÓDOR-SURMANN K., KOTÁNY SZ., GULYÁS B., SZIRA G. 2005. Changing of nursing as biostimulation: effect of contact between rabbit doe and its litter. *Cost Action 848. Joint Scientific Meeting: Management and housing of rabbit does: reproductive efficiency and welfare interactions. June 23-25, 2005 – Palermo, Italy.*
- FACCHIN, E., CASTELLINI, C., RASETTI, G., BALLABIO, R. 1992. L'impiego di prostaglandina sintetica (alfaprostol) e di PMSG nella sincronizzazione degli estri e dei parti nella coniglia. *Rivista di Zootecnia e Veterinaria* 20(2): 11-14.
- FACCHIN E., CASTELLINI C., ZANON F., CANALI C., BOITI C. 1998. Infertilità della coniglia: effetto del trattamento associato alfaprostol + PMSG sulle performances riproduttive delle coniglie "ritorno". *Rivista di ZOOTECCNIA E VETERINARIA*, 26, 3-7.
- FORTUN-LAMOTHE, L. et BOLET, G. 1995. Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine. *INRA Productions Animales*, 8(1), 49-56.

- FORTUN-LAMOTHE L. 1998. Effects of pre-mating energy intake on reproductive performance of rabbit does. *Animal Science*, 66, 263-269.
- FOXCROFT, G.R. ET HASNAIN, H. 1973. Effect of suckling and time to mating after parturition on reproduction in domestic rabbits. *Journal of Reproduction and Fertility*, 33, 367-377.
- FRANK H. 1966. Ablation des bulbes olfactifs chez la lapine impubère. Répercussions sur le tractus génital et le comportement sexuel. *Soc. Biol.*, 160, 389-390.
- GARCIA, F. ET PEREZ, A. 1989. Efectos de la lactacion y numero de lactantes sobre la monta, ovulacion y supervivencia fetal hasta el parto, evaluados per laparoscopia, en conejas multiparas. *Informacion Tecnica Economica Agraria*, 80, 3-10.
- GOSALVEZ L.F., ALVARIÑO J.M.R., DIAZ P., TOR M. 1995. Influence of age, stimulation by PMSG or flushing on the ovarian response to LHRHa in young rabbit females. *World Rabbit Science*, Vol.2(2), 41-45.
- HAMMOND J. and MARSHALL F.H.A. 1925. Reproduction in the rabbit. Ed: Olivier and Boyd, Edinburgh, 210 p.
- HARNED, M.A. ET CASIDA, L.E. 1969. Some post partum reproductive phenomena in the domestic rabbit. *Journal of Animal Science*, 28, 785-788.
- HUDSON R. and DISTEL H. 1990. Sensitivity of female rabbits to changes in photoperiod as measured by pheromone emission. *Journal of Comparative Physiology*, 167, 2, 222-230.
- HULOT, F. et MATHERON, G. 1979. Analyse des variations génétiques entre trois races de lapins, de la taille de portée et de ses composantes biologiques en saillie post partum. *Annales de Génétique et de Sélection Animale*, 11, 53-77.
- HULOT, F. et MATHERON, G. 1981. Effets du génotype, de l'âge et de la saison sur les composantes de reproduction chez la lapine. *Annales de Génétique et de Sélection Animale*, 13,131-150.
- KENNELLY, J.J. ET FOOTE, R.H. 1965. Superovulatory responses of pre- and postpuberal rabbits to commercially available gonadotrophins. *Journal of Reproduction and Fertility*, 9, 177-188.
- KERMABON A.Y., BELAIR L., THEAU-CLEMENT M., SALESSE R., DJIANE J. 1994. Effect of anoestrus and bromocryptine treatment on the expression of prolactin and LH receptors in the rabbit ovary during lactation. *Journal of Reproduction and Fertility*, 102, 131-138.
- KUSTOS K., EIBEN Cs., SZENDRŐ Zs., THEAU-CLÉMENT M., GÓDOR S-NÉ, JOVÁNCZAI Zs. 2000. Effect on reproductive traits of male presence among rabbit does before artificial insemination (Preliminary results). *7th World rabbit Congress, 4-7 July 2000, Valencia Spain*, 161-166.
- LANGE K., et SCHLOLAUT, W. 1988. The influence of postpartum insemination on litter size and growth of the New Zealand White rabbits. *4th World Rabbit Congress, 10-14 October, 1988, Budapest, Hungary*, Vol 1, 130-134.
- LEFÈVRE B., MARTINET L., MORET B. 1976. Environnement et comportement d'oestrus. *1er Congrès International Cunicole, Dijon (France)*, Communication n°61.
- LEFÈVRE B. and MORET B. 1978. Influence d'une modification brutale de l'environnement sur l'apparition de l'oestrus chez les lapines nullipares. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18 (3), 695-698.
- LINDSAY D.R., COGNIÉ Y., PELLETIER J., SIGNORET J.P. 1975. Influence of the presence of rams on the timing of ovulation and discharge of LH in ewes. *Physiol. Behav.*, 15, 423-426.
- LUZI F. and CRIMELLA C. 1998. Effect of change of cage 2 days before artificial insemination on reproductive performance of rabbit does. *World Rabbit Science*, Vol.6(1), 195-198.
- LUZI F., BARBIERI S., LAZZARONI C., CAVANI C., ZECCHINI M., CRIMELLA C. 2001. Effets de l'addition de propylène glycol dans l'eau de boisson sur les performances de reproduction des lapines. *World Rabbit Science*, (9)1: 15-18.
- MAERTENS, L. ET OKERMAN, F. 1987. Reproduction, croissance et qualité de carcasse. Possibilités d'un rythme de reproduction intensif en cuniculture. *Revue de l'Agriculture*, 5(40), 1157-1169.
- MAERTENS L. and LUZI F., 1995a. Effect of diluent and storage time of rabbit semen on the fertility of does reared under two different lighting schedule. *World Rabbit Science*, 3, 57-61.
- MAERTENS L. 1998. Effect of flushing, mother-litter separation and PMSG on the fertility of lactating does and the performance of their litter. *World Rabbit Science*, Vol.6(1), 185-190.
- MAERTENS L., BOUSSELMI H., PANDEY V.S. 2000. Efficiency of different methods to synchronize the oestrus in artificially inseminated, lactating does. *Proc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, Spain*, 185-190.
- MARTIN B.G. and SCARAMUZZI R.J. 1983. The induction of oestrus and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *J. Steroid Biochem.*, Vol.19(1), 869-875.
- MATICS Zs., SZENDRŐ Zs., THEAU-CLÉMENT M., BIRÓ-NÉMETH E., RADNAI I., GYOVAI M., OROVA Z., EIBEN Cs. 2004b. Modification of the nursing system as a biostimulation method. *World Rabbit Congress, Puebla City*, 298-302.
- MAULEON P. and DAUZIER L., 1965. Variations de durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de-France. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 5, 131-143.
- MCNITT J.I. 1992. Endocrinological approaches for commercial rabbit production. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15, 364-397.
- MIRABITO L., GALLIOT P., SOUCHET C. 1994a. Effet d'un regroupement des lapines avant l'I.A sur les performances de reproduction. *6èmes Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle*, Vol I, 505-510.
- MIRABITO L., GALLIOT P., SOUCHET C. 1994b. Effet de l'utilisation de la PMSG et de la modification de la photopériode sur les performances de reproduction de la lapine. *6èmes Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle*, Vol I, 169-178.
- OLDHAM C. M., MARTIN G.B., KNIGHT T.W. 1978. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. The time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 1 (1978) 283-290.
- PAREZ, V. 1992. Fertamate : pour une utilisation performante et sûre de la PMSG. *L'Éleveur de lapin*, novembre-décembre, 43-44.
- PARIGI-BINI R. and XICCATO G. 1993. Recherches sur l'interaction reproduction et lactation chez la lapine. Une revue. *World Rabbit Science*, 1, 155-161.
- PAVOIS V., LE NAOUR J., DUCEP O., PERRIN G., DUPERRAY J. 1994. Une méthode naturelle pour améliorer la réceptivité et la fertilité des lapines allaitantes en insémination artificielle. *6èmes Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle*, Vol. II, 528-535.
- PERRIER, G., THEAU-CLEMENT, M., POUJARDIEU, B., DELHOMME, G. 1998. Essai de conservation de la semence de lapin pendant 72 heures. *Tèmes Journées de la Recherche Cunicole, 13-14 Mai, 1998, Lyon, France*, 237-240.
- PERRIER, G., THEAU-CLEMENT, M., JOUANNO, M., DROUET, J.P. 2000. Reduction of the GnRH dose and inseminated rabbit doe reproductive performance. *7th World Rabbit Congress, 4-7 July, 2000, Valencia, Espagne*. Vol A, 225-230.

- POINDRON P. AND LE NEINDRE P. 1980. Endocrine and sensory regulation of maternal behavior in the ewe. *Adv. Study Behav.*, 11, 75-119.
- PRUD'HON M., ROUVIER R., CAEL J., BEL L. 1969. Influence de l'intervalle entre la parturition et la saillie sur la fertilité et la prolificité des lapins. *Annales de Zootechnie*, 18(3), 317-329.
- REBOLLAR P.G., UBILLA E., RODRIGUEZ J.M. 1992a. Influence of the parturition – Insemination interval on the conception rate in rabbits artificially inseminated with fresh semen. *Journal of Applied Rabbit Research*, 15, 407-411.
- REBOLLAR P.G., UBILLA E., ALVARIÑO J.M.R., ILLERA J.C., SILVAN G. 1992b. Effect of degree of sexual receptivity on post-partum plasma oestradiol and ovulatory response in rabbits. *Revista Española de Fisiología*, 48(1), 13-18.
- REBOLLAR P.G., ALVARIÑO, J.M.R., DEL ARCO, J.A., BUENO A. 1995. Control de celo en conejas nuli-paras: manejo y tratamiento con PMSG. *Inf. Tech. Eco. Agr.*, Vol. Extra 16 Tomo I, 455-457.
- REBOLLAR P.G., MILANÉS A., ESQUIFINO A.I., MILLÁN P., LORENZO, P.L. 2004. Plasma oestradiol and prolactin in synchronized multiparous rabbit does. *8th World Rabbit Congress, September 7-10, 2004, Puebla, Mexico*, 330-335.
- RODRIGUEZ, J.M. et UBILLA, E. 1988. Effect of sexual receptivity on ovulation response in rabbit does induced with GnRH. *IVth Congress of World Rabbit Science Association, 10-14 October, 1988, Budapest, Hungary*, Tome II, 504-508.
- RODRIGUEZ, J.M., AGRASAL, C., ESQUIFINO, A. 1989. Influence of Sexual Receptivity on LH, FSH and Prolactin Release after GnRH Administration in Female Rabbits. *Animal Reproduction Science*, 20, 57-65.
- RODRIGUEZ DE LARA, R. ET FALLAS, L.M. 1999. Environmental factors and physiological factors influencing kindling rates and litter size at birth in artificially inseminated doe rabbits. *World Rabbit Science*, 7(4), 191-196.
- RODRIGUEZ DE LARA, R., FALLAS, L.M., RANGEL, S.R. 2000. Influence of body live weight and relocation on kindling rate and prolificacy in artificially inseminated nulliparous doe rabbits. *7th World Rabbit Congress, 4-7 July, 2000, Valencia, Espagne*. Vol A, 251-257.
- RODRÍGUEZ-DE LARA R., LÓPEZ-FALLAS M., RANGEL-SANTOS R., MARISCAL-AGUAYO V., 2003. Influence of short-term relocation and male exposure on sexual receptivity and reproduction in artificially inseminated lactating doe rabbits. *Anim. Reprod. Sci.*, 78, 111-121.
- ROUSTAN, A. et MAILLOT, D. 1990. Comparaison des résultats de fertilité et de productivité numérique à la naissance de deux groupes de lapines conduites en insémination artificielle et en saillie naturelle. Analyse de quelques facteurs de variation. *5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 12-13 Décembre, 1990, Paris, France*. Tome I, Comm. 3.
- ROWLINSON R. and BRYANT M.J. 1974. Un système permettant de maîtriser l'anoestrus de lactation. Effet du mâle. In *Congr. int. Med. vét. porc.*, Lyon, C5.
- ROY, F., MAUREL, M.C., COMBARNOUS, Y., BRIOIS, J.P., POBEL, T., DELETANG, F. 1995. Etude de la réponse immunitaire observée chez les ovins et les caprins traités avec PMSG dans le cadre de l'insémination artificielle. *Rencontres Recherches Ruminants*, 3, 395-398.
- SCHÜDDEMAGE M., LANGE K., HOY S. 1999. Investigations on influence of different artificial light regimes in comparison to natural daylight on reproductive parameters in female rabbits. *11th symposium on housing and diseases of rabbits, furbear animals and pet animals. Celle (Germany)*, 19-20 May 1999.
- SIGNORET J.P. 1980. Effet de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction chez la femelle des mammifères. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 20 (2), 457-468.
- STEVENSON J.S. and DAVIS D.L. 1984. Influence of reduce litter size and daily litter separation on fertility of sows at 2 to 5 weeks postpartum. *Journal of Animal Science*, 59, 2, 284-293.
- STRADAIOLI, G., MONACI, M., VERINI SUPPLIZI, A., CANALI, C., VACCA, C., BOITI, C. 1993. Recovery rate and embryo quality in New Zealand White (NZW) rabbits treated with PMSG and PGF2 α . *Association Européenne de Transfert Embryonnaire, 10-11 Septembre, 1993, Lyon, France*, 282-283.
- SZENDRŐ, Z.S., BIRO-NEMETH, E. 1991. Factors affecting results with artificial insemination of rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research*, 14, 72-76.
- SZENDRŐ Zs., JOVANCZAI Zs., THEAU-CLÉMENT M., RADNAI I., BIRO-NEMETH E., MILISITS G. 1999. The effect of doe-litter separation on production performance in rabbit does and their kits. *World Rabbit Science*, Vol.7(3), 165-169.
- SZENDRŐ Zs., MATICS Zs., GERENCSEK Zs., GYOVAI M., BIRÓ-NEMETH E., RADNAI I. 2005a. Effect of lighting and biostimulation on performance of rabbit does. 2. Effect of nursing method. *17th Hungarian Conference on Rabbit production, Kaposvár*, 79-82.
- SZENDRŐ Zs., MATICS Zs., GERENCSEK Zs., GYOVAI M., BIRÓ-NEMETH E., RADNAI I. 2005b. Effect of lighting program and biostimulation on performance of rabbit does. *Cost Action 848. Joint Scientific Meeting: Management and housing of rabbit does: reproductive efficiency and welfare interactions. June 23-25, 2005, Palermo, Italy*.
- THERIEZ M. 1984. Influence de l'alimentation sur les performances de reproduction des ovins. *9^{èmes} Journées de la Recherche ovine et caprine*, 294-326.
- THEAU, M. et ROUSTAN, A. 1980. L'insémination chez la lapine. Techniques utilisées, quelques résultats. *2nd World Rabbit Congress, April, 1980, Barcelone, Spain*, Tome I, 333-342.
- THEAU-CLEMENT, M., BOLET, G., ROUSTAN, A., MERCIER, P. 1990a. Comparaison de différents modes d'induction de l'ovulation chez les lapines multipares en relation avec leur stade physiologique et la réceptivité au moment de la mise à la reproduction. *5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 12-13 Décembre, 1990, Paris, France*. Tome I, Comm. 6.
- THEAU-CLEMENT M., POUJARDIEU B., BELLEREAUD J. 1990b. Influence des traitements lumineux, modes de reproduction et états physiologiques sur la productivité de lapines multipares. *5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 12-13 Décembre, 1990, Paris, France*, Tome I: Comm. 7.
- THEAU-CLÉMENT M. and ROUSTAN A. 1992. A study on relationships between receptivity and lactation in the doe, and their influence on reproductive performances. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15, 412-421, 1992.
- THEAU-CLEMENT, M., ET LEBAS, F. 1994a. Etude de l'efficacité de la Ciclogonine (PMSG) pour induire la réceptivité chez la lapine. *Cuniculture*, 115, 21(1), 5-11
- THEAU-CLEMENT, M. et POUJARDIEU, B. 1994b. Influence du mode de reproduction, de la réceptivité et du stade physiologique sur les composantes de la taille de portée des lapines. *6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 6-7 Décembre, 1994, La Rochelle, France*, Vol 1, 187-194.
- THEAU-CLEMENT, M. 1996. Antagonismo tra lattazione e riproduzione sulla produttività di coniglie inseminate artificialmente. *Atti della giornata scientifica sulla riproduzione del coniglio : dalla ricerca alla applicazione pratica. Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche – Brescia, Italia*, 9-16.
- THEAU-CLEMENT, M. et LEBAS, F. 1996. Effect of a systematic PMSG treatment 48 hours before artificial insemination on the productive performance of rabbit does. *World Rabbit Science* 4(2), 47-56.

- THEAU-CLEMENT M., CASTELLINI C., MAERTENS L., BOITI C. 1998a. Biostimulations applied to rabbit reproduction : theory and practice. *World Rabbit Science*, 6(1), 179-184.
- THEAU-CLEMENT, M., SALEIL, G., CORNET, P., UNGAR, R., UNGAR, J.C. 1998b. Etude de l'efficacité du Dermojet automatique® pour induire l'ovulation des lapines. *Cuniculture* n°143, 25(5), 234-236.
- THEAU-CLEMENT M., LEBAS F., POUJARDIEU B., MERCIER P. 1998c. Effet de différentes doses de PMSG sur l'induction de la réceptivité sexuelle et la productivité des lapines conduites en insémination artificielle. *7èmes Journées de la Recherche Cunicole en France, Lyon, 1998*, 221-223.
- THEAU-CLEMENT M., LEBAS F., DRION P., BECKERS J.F. 1998d. Evolution de la production d'anticorps anti-PMSG en fonction de la dose et du nombre d'injections : relation avec la productivité des lapines. *7èmes Journées de la Recherche Cunicole en France, Lyon, 1998*, 225-228.
- THEAU-CLEMENT M., CASTELLINI C., MAERTENS L., BOITI C. 1998e. Biostimulations applied to rabbit reproduction: theory and practice. *World Rabbit Science*, Vol.6(1), 179-184.
- THEAU-CLEMENT M. et MERCIER. P. 1999. Effect of a 24h doe-litter separation on rabbit doe reproductive performance and growth of the young. *World Rabbit Science*, Vol.7(3), 177-179.
- THEAU-CLEMENT M., BOITI C., MERCIER P., FALIERES J., 2000. Description of the ovarian status and fertilising ability of primiparous rabbit does at different lactation stage, *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress Valencia Spain, Vol A*, 259-266.
- THEAU-CLEMENT, 2001. Etude de quelques facteurs de contrôle de l'interaction entre la lactation et la reproduction chez la lapine conduite en insémination artificielle. Thèse, doctorat, Institut National Polytechnique, Toulouse, 103 pages.
- THEAU-CLEMENT M. et MERCIER. P. 2003. Comparaison de l'effet d'une séparation mère-jeunes de 24 heures et d'un traitement PMSG, sur la réceptivité sexuelle et la productivité des lapines allaitantes. *10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 novembre. 2003, Paris*, 65-68.
- THEAU-CLEMENT M. et MERCIER. P. 2004. Influence of lighting programs on the productivity of rabbit does of two genetic types. *8th World Rabbit Congress, September 7-10, 2004, Puebla, Mexico*, 358-363.
- UBILLA, E. et RODRIGUEZ, J.M. 1988. Influence of systematic induction of parturition in the rabbit during its reproductive life, with a synthetic analogue of PGF2 alpha (Etiproston). *4th World Rabbit Congress, 10-14 October, Budapest, Hungary, Vol 2*, 494-503.
- UBILLA, E., REBOLLAR, P.G. 1995. Influence of the postpartum day on plasma estradiol-17 beta levels, sexual behaviour and conception rate in artificially inseminated lactating rabbits. *Animal Reproduction Science*, 38(4), 337-344.
- UBILLA E., REBOLLAR P.G., PAZO D., ESQUIFINO A.I., ALVARIÑO J.M. 2000. Pituitary and ovarian response to transient doe-litter separation in nursing rabbits. *J. Reprod. Fertil.* 118, 361-366.
- UBILLA E., REBOLLAR P.G., PAZO D., ESQUIFINO A.I., ALVARIÑO J.M. 2001. Endocrine profiles during doe-litter separation and subsequent pregnancy in rabbits. *J. Physiol. Biochem.*, 57, 23-29.
- VIRAG GY., KUSTOS K., SZABO L. 1999. Effect of a 48 hours doe-litter separation on rabbit doe's reproductive performance and offspring's growth. *World Rabbit Science*, Vol.7(3), 155-159.
- VODERMAYER T. 1989. Interactions between photoperiod, pheromones and oestrous behaviour in female rabbits. Ludwig-Maximilians-Universität München, German Federal Republic, 1989. 101p.
- WALTER M.R., MARTINET L., MORET B., THIBAUT C. 1968. Régulation photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin mâle et femelle. *Archives d'Anatomie d'Histologie et d'Embryologie*, 51, 773-780.

Caractérisation de la croissance fœtale *in utero* par échographie chez la lapine

P. CHAVATTE-PALMER¹, P. LAIGRE², E. SIMONOFF¹,
M. CHALLAH¹, P. CHESNE¹, J.P. RENARD¹

¹UMR INRA-CNRS-ENVA 1198, Biologie du Développement et Reproduction, 78352 Jouy en Josas cedex
²UE331, Domaine de Bressonvilliers, 91630 Leudeville, France

Résumé. Dans le cadre de recherches sur le déroulement de la gestation chez la lapine, il est devenu important de savoir mesurer la croissance fœtale *in utero* par imagerie médicale. Dans cette étude, 42 lapines néo-zélandaises saillies naturellement (N=12) ou ayant reçu des embryons produits *in vivo* (2, 4 ou 6 par lapine) ont été échographiées par voie transabdominale avec une sonde de 7,5 Mhz tous les 2 à 3 jours à partir de J7 post-coït. La taille de la vésicule, du placenta, du corps et de la tête ont ainsi été déterminés en fonction du temps et du nombre de fœtus présents. En fin de gestation, les fœtus issus de transferts d'un nombre limité d'embryons étaient significativement plus grands que ceux issus de saillie naturelle.

Summary. *In utero* characterisation of foetal growth by ultrasound scanning in the rabbit. In the objective of developing research on pregnancy development in rabbits, it has become important to be able to measure foetal growth *in utero* using medical imaging. In this study, 42 NewZealand does bred naturally (N=12) or transferred with *in vivo* produced embryos (2, 4 or 6 embryos/doe) have been scanned with a 7.5 Mhz transabdominal probe from Day 7 post-coitum to measure foetal and placental growth. Vesicle, placental, embryo and head size have thus been determined according to number of foetuses and time. In late gestation, foetuses that were transferred in limited numbers to the uterus of does were significantly larger than their natural breeding counterparts.

Introduction

Des études épidémiologiques conduites chez l'homme démontrent que des pathologies prévalentes dans certaines populations humaines comme l'hypertension ou la résistance à l'insuline, trouvent leur origine pour partie dans des dérégulations de l'alimentation du fœtus à des périodes critiques de son développement (Barker *et al.* 2002), y compris pendant la période périconceptionnelle (Kwong *et al.* 2000; Fleming *et al.* 2004). L'alimentation maternelle n'affecte donc pas seulement les caractéristiques pondérales du fœtus à la naissance, elle contribue aussi à fixer le niveau des risques alimentaires que pourra tolérer le jeune pendant sa vie adulte.

Afin d'étudier les mécanismes impliqués dans ces phénomènes, des modèles animaux sont développés. Plusieurs laboratoires dans le monde s'attachent à cet objectif et font appel principalement au rat ou au mouton comme modèles d'études, bien que certaines équipes commencent à utiliser le lapin (Denton *et al.* 2003). Cependant, la pauvreté de la base de données échographiques utilisables pour évaluer la croissance fœtale *in utero* chez le lapin est un obstacle à l'étude des perturbations fœtales induites expérimentalement. L'objectif de cette étude est d'établir une méthode échographique de suivi et d'obtenir des données physiologiques sur la croissance fœtale chez le lapin pour avoir une base de comparaison pour des gestations de fœtus issus de saillie naturelle ou issus de transfert d'embryon (transfert d'un nombre très limité d'embryons par lapine).

1. Animaux, matériels et méthodes

Quarante-deux lapines primipares de race Néo-Zélandaise, âgées de 8 à 16 mois et dans les mêmes conditions de logement et d'alimentation ont été utilisées. Les lapines sont passées en lapinerie de jours longs (8h --> 16h) environ une semaine avant l'accouplement.

Pour les groupes 1 à 3, les lapines donneuses réceptives (sans superovulation) sont accouplées puis abattues et les embryons collectés 19h *post coitum*. Les lapines receveuses sont synchronisées par injection de 0,8µg de Buséreline (0,2ml/IM) (Receptal®, Intervet, Beaucauzé, France) au moment où les donneuses sont accouplées. Les embryons recueillis dans du milieu M199 (VWR International, Fontenay sous Bois, France) tamponné à l'Hepes sont transférés moins d'une heure après collecte sous anesthésie générale chez la receveuse. Trois groupes de receveuses ont été constitués :

- Groupe 1 (N=6): un embryon dans chaque corne utérine
- Groupe 2 (N=18): 2 embryons dans chaque corne utérine
- Groupe 3 (N=6): 3 embryons dans chaque corne utérine
- Le Groupe 4 (N=12) était constitué de lapines saillies naturellement.

Les lapines sont examinées tous les 2-3 à partir de 7 jours avec un échographe Vetson Color (Kontron Médical, France) équipé d'une sonde linéaire de 7,5 Mhz (plage de fréquence de 4 à 12 Mhz) et d'un

doppler couleur. Elles sont immobilisées dans une boîte de contention en plexiglas fabriquée à cet usage, dans laquelle elles restent calmes sans anesthésie (Figure 1). L'examen commence par la droite et finit vers la gauche, en orientant la sonde linéaire dans la plan sagittal. A la première échographie, une approche globale est tout d'abord réalisée pour

prendre connaissance du nombre exact d'embryons présents après transfert, sachant que le nombre implanté est connu. Lors de saillie naturelle, cette même démarche a été effectuée pour connaître approximativement le nombre d'embryons, mais seulement 6 fœtus ont été mesurés pour essayer d'éviter la répétition des mesures sur un seul fœtus.

Figure 1 : Positionnement de la lapine dans la boîte de contention pour examen échographique (1: boîte vide, 2: blocage de la lapine, 3: position finale pour l'examen)



Les structures identifiables (vésicule, fœtus, placenta) sont mesurées. Le rythme cardiaque est mesuré grâce à la fonction doppler pulsé au niveau du cœur.

L'analyse statistique a été effectuée par analyse de variance et covariance par la procédure mixte avec mesures répétées du logiciel de statistiques SAS (SAS Institute, Cary, USA). Après vérification qu'il n'y avait pas de différence significative entre les mesures effectuées indépendamment sur les mêmes animaux par les deux opérateurs, le groupe (nombre d'embryons transférés) et le stade de gestation ont été utilisés comme variables fixes. L'analyse des mesures répétées par animal prend en compte les effets aléatoires.

2. Résultats

2.1. Observation des structures dans le temps et validation entre opérateurs

La figure 2 illustre les observations fœtales et placentaires qui peuvent être effectuées de façon systématique à chaque examen en fonction du stade de gestation. D'autres structures, comme l'ombilic, la

largeur de la gouttière neurale, le diamètre aortique, l'espace inter-costal (entre 3 côtes), les reins et les membres ont pu être observées ponctuellement.

2.2. Evolution dans le temps

Les mesures montrent une croissance linéaire de la plupart des paramètres mesurés. A titre d'exemple, la Figure 3 représente la longueur de la vésicule en fonction du stade de gestation, tous groupes confondus.

2.3. Différences entre groupes.

Dans les stades précoces, il n'existe que peu de différences entre les groupes. En revanche, en fin de gestation, la taille des éléments anatomiques mesurés est significativement différente entre les groupes, suggérant que l'absence d'encombrement utérin dans les groupes 1, 2 et 3 est à l'origine d'une augmentation de la taille fœtale. A titre d'exemple, l'évolution de la taille de la tête et celle de l'épaisseur des deux ventricules cardiaques ont été illustrées dans les figures 4 et 5.

Figure 2 : Mesures réalisées systématiquement sur chaque fœtus en fonction du stade de gestation (jours)

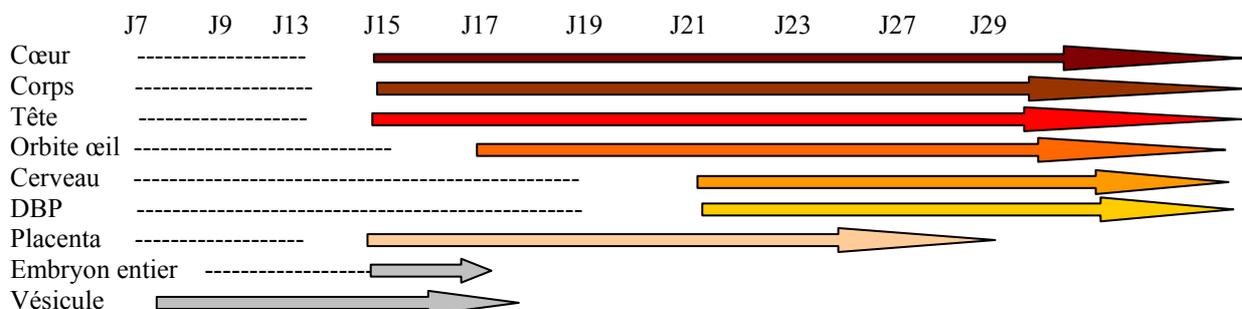


Figure 3 : A. Image échographique d'une vésicule embryonnaire à 9 jours de gestation. B. Longueur de la vésicule embryonnaire en fonction du stade de gestation

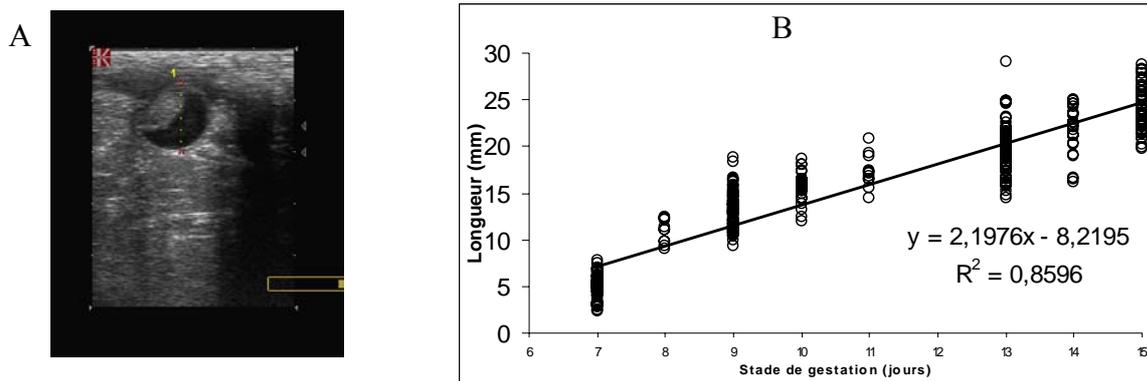


Figure 4 : A. Image de la tête d'un fœtus à 29 jours de gestation. B. Longueur moyenne de la tête (\pm écart-type) en fonction du groupe (■ Groupe 1, ■ Groupe 2, ■ Groupe 3 et □ Groupe 4) et du stade de gestation. Il y a une différence significative entre groupes ($P < 0,001$).

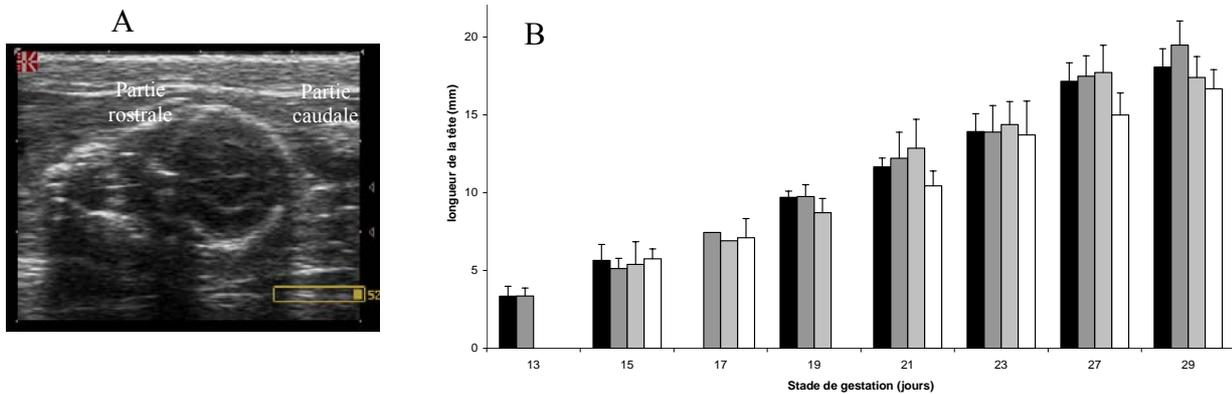
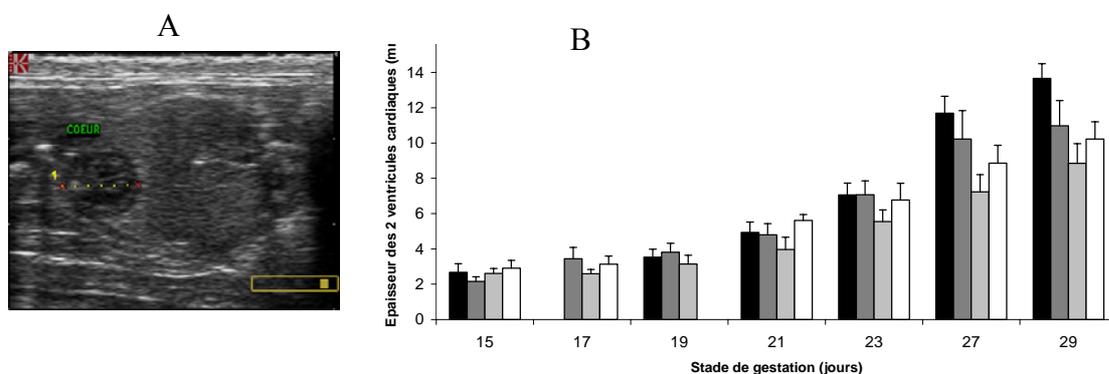


Figure 5 : A. Coupe transversale du thorax d'un fœtus à 27 jours de gestation. On observe clairement les deux ventricules et les deux oreillettes. B. Longueur moyenne de la tête (\pm écart-type) en fonction du groupe (■ Groupe 1, ■ Groupe 2, ■ Groupe 3 et □ Groupe 4) et du stade de gestation. Il y a une différence significative entre groupes ($P < 0,001$).



3. Discussion et conclusion

Les données obtenues dans cette étude montrent qu'il est possible de faire un diagnostic de gestation par échographie dès 7 jours de gestation chez la lapine et que le dénombrement des fœtus est possible à partir de 9 jours dans le cas où l'on a peu de fœtus (≤ 6). De plus, ce travail a permis de mettre en place un outil pour le suivi de la croissance fœtale *in utero* chez la lapine. La plupart des études précédemment publiées sur l'échographie de la lapine ou de la hase gestante ayant été menées dans le but principal de confirmer ou d'infirmer la gestation (ce qui a peu d'intérêt en élevage étant donnée la précision du diagnostic de gestation par palpation abdominale) ou de déterminer le nombre de fœtus (Cubberley 1982; Ypsilantis et Saratsis 1999; Griffin *et al.* 2003), ces données donnent la possibilité d'effectuer un suivi précis du développement fœtal chez la lapine dans des conditions expérimentales.

Références

- BARKER, D. J. P., J. G. ERIKSSON, T. FORSEN, C. OSMOND 2002. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology* 31, 1235-1239.
- CUBBERLEY, A. 1982. Importance of ultrasound determination of pregnancy in the rabbit. *Am J Vet Res* 43, 1802-1803.
- DENTON, K. M., R. L. FLOWER, K. M. STEVENSON, W. P. ANDERSON 2003. Adult rabbit offspring of mothers with secondary hypertension have increased blood pressure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 30, A34-A34.
- FLEMING, T. P., W. Y. KWONG, R. PORTER, E. URSELL, I. FESENKO, A. WILKINS, D. J. MILLER, A. J. WATKINS, J. J. ECKERT 2004. The embryo and its future. *Biol Reprod* 71, 1046-54.
- GRIFFIN, P. C., L. BIENEN, C. M. GILLIN, S. L. MILLS 2003. Estimating pregnancy rates and litter size in snowshoes hares using ultrasound. *Wildlife Society Bulletin* 31, 1066-1072.
- KWONG, W., A. WILD, P. ROBERTS, A. WILLIS, T. FLEMING 2000. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 127, 4195-4202.
- YPSILANTIS, P., P. SARATISIS 1999. Early pregnancy diagnosis in the rabbit by real time ultrasonography. *World Rabbit Science* 7, 95-99.

Cryoconservation du cortex ovarien chez la lapine. Toxicité des milieux de transport des ovaires

V. NETO¹, T. JOLY¹, J. LORNAGE², N. CORRAO³, S. BUFF³, P. GUÉRIN³

¹ ISARA-Lyon, 31 place Bellecour, 69288 Lyon cedex 02, France.

² Faculté de Médecine Rockefeller, Dép. de Médecine de la Reproduction, 8 av. Rockefeller 69008 Lyon, France

³ Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Laboratoire de Biologie de la Reproduction, 1 av. Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

Résumé : La congélation du cortex ovarien permet la conservation des ressources génétiques animales par la voie femelle. Cette étude vise à définir les conditions optimales pour le transport des ovaires de lapines du prélèvement post mortem jusqu'au moment de la congélation. L'évaluation morphologique des follicules a été réalisée après un transport d'une heure dans 3 milieux (TCM 199 ; Brahma ; D-PBS) à 10°C ou à température ambiante. Nos résultats montrent qu'à 10°C le taux de follicules sans défaut morphologique est identique, quelque soit le milieu de transport. Par contre, ce taux diminue significativement lors d'un transport à température ambiante, sauf pour le TCM199. Le TCM 199 à 10°C paraît donc le plus adapté pour le transport des ovaires de lapine.

Abstract: Cryopreservation of rabbit doe ovarian cortex : toxicity of transport media. Freezing of ovarian cortex allows preservation of animal's genetic resources through the female pathway. The aim of this study was to define the optimal conditions for the transport of ovaries of the rabbit doe from the *post mortem* collection to the cryopreservation step. Morphological evaluation of follicles was made after 1 h of transport in 3 media (TCM 199, Brahma or D-PBS) at 10°C or at room temperature. Our results show that at 10°C, the proportion of follicles without any morphological defect is similar, whatever the medium is. But this rate decreases significantly during the transport at room temperature, except for TCM 199. Optimal conditions for the transport of the ovaries of the doe are TCM 199 used at 10°C.

Introduction :

La cryoconservation du cortex ovarien a été développée chez la femme dans les années 90, avec pour objectif de conserver le potentiel reproducteur des jeunes patientes devant subir un traitement gonadotoxique. Le principe de cette technique consiste à isoler la zone périphérique de l'ovaire contenant la réserve folliculaire, puis à l'incuber dans la solution cryoprotectrice avant de la congeler selon un protocole adapté au tissu ovarien. Après décongélation et retrait des cryoprotecteurs, les cortex ovariens peuvent être greffés (autogreffe ou allogreffe), cultivés *in vitro*, ou transplantés sur un individu d'une autre espèce afin d'obtenir des follicules matures capables d'être fécondés (Aubard *et al.*, 2002). Des naissances ont ainsi été obtenues après autogreffe orthotopique de cortex ovarien cryoconservé chez la brebis (Gosden *et al.*, 1994 ; Salle *et al.*, 2002) et récemment chez la femme (Donnez *et al.*, 2004).

Chez le lapin, cette technique peut initier une nouvelle approche pour la gestion des populations animales et principalement pour la conservation des ressources génétiques par la voie femelle (Neto *et al.*, 2003). Ainsi, cet outil serait complémentaire aux techniques de congélation de semence et d'embryons déjà utilisées pour sauvegarder le patrimoine génétique animal dans la cryobanquennationale (Joly *et al.*, 2003 ; Joly *et al.*, 2005) En effet, la maîtrise de la

cryoconservation des tissus ovariens permettrait une plus grande réactivité en situation d'urgence (mort accidentelle d'une lapine à haute valeur génétique, épizootie sur un cheptel précieux, races à petits effectifs ...) ou de récolte dans des situations extrêmes (animaux sauvages dans leur biotope, ...). Le prélèvement des ovaires s'effectuerait *post mortem* directement sur la femelle, quelque soit son état sexuel et à n'importe quel stade physiologique.

Afin de rendre opérationnelle cette méthode dans le cadre d'une sauvegarde d'urgence d'un patrimoine, les conditions de transport entre le prélèvement et la congélation du tissu doivent être définies précisément afin de limiter les dégradations cellulaires engendrées par l'ischémie chaude et notamment préserver au mieux la population folliculaire localisée dans la zone corticale de l'ovaire. De plus, l'ovaire de lapine nécessite une attention particulière du fait de la fragilité de l'assise folliculaire, probablement due à la faible densité en collagène et à la richesse en cellules interstitielles (Barone, 1978).

L'objectif de ce travail est de définir des conditions de transport adaptées aux ovaires de lapine par l'évaluation morphologique des follicules.

1. Matériel et Méthodes :

Les ovaires de 35 lapines, âgées de 12 à 15 semaines, ont été prélevés à l'abattoir, moins de 10 min après la mort de l'animal. Pour chaque lapine, un seul des

deux ovaires a été utilisé. Trois milieux de transport ont été comparés : le PBS modifié selon Dulbecco (IMV, France), le milieu de culture TCM 199 (Sigma, USA) et le milieu de transport de tissu ovarien Brahma (IMV, France).

Les ovaires ont été transportés pendant 1 heure, soit à 10°C en bouteille thermostatée, soit à température ambiante (environ 22°C). Au bout de ce délai, ils ont été fixés dans du paraformaldéhyde 4%, afin de permettre l'évaluation morphologique du tissu ovarien et des follicules. Cinq ovaires ont été fixés dans le paraformaldéhyde 4% immédiatement après prélèvement et constituent le témoin sans transport. Ils ont ensuite été traités pour permettre l'observation histologique. Des coupes semi-sériées (4 µm d'épaisseur) ont été réalisées et colorées à l'hématoxyline / phloxine.

Pour chaque ovaire, 100 follicules (primordiaux à primaires) ont été observés et classés en 4 catégories :

- follicules sans défaut de morphologie (follicule régulier, cellules folliculaires jointives, ovocyte présentant un cytoplasme plein et une chromatine diffuse et régulière) ;
- follicules avec défaut cytoplasmique (cytoplasme ovocyttaire vacuolisé) ;
- follicules avec défaut nucléaire (noyau ovocyttaire pycnotique ou irrégulier) ;
- follicules dégénérés (double anomalie cytoplasmique et nucléaire de l'ovocyte, forte déformation, désolidarisation entre cellules folliculaires et ovocyte, cellules folliculaires gonflées).

Seuls les follicules dont le noyau était visible ont été dénombrés.

Les résultats ont été traités par une analyse de

variance à un facteur contrôlé (test ANOVA, StatView, SAS Institute Inc). Les différences ont été considérées comme significative si $p < 0,05$.

2. Résultats :

La figure 1 montre la proportion de follicules sans défaut morphologique après 1 heure de transport dans les différentes conditions testées. Pour le lot témoin (ovaires fixés au moment de l'abattage), 85,8±2,2% des follicules ne présentaient pas de défaut de morphologie. Au bout d'une heure de transport à 10°C, le taux de follicules normaux était de 89,4±3,0% pour le Brahma, 92,0±2,7% pour le PBS et 93,2±1,1% pour le TCM 199, sans différence significative avec le témoin

Après transport à température ambiante dans le Brahma et dans le PBS, le pourcentage de follicules sans défaut chute significativement (respectivement : 32,6±6,2%, $p < 0,0001$ et 62,2±8,2%, $p = 0,001$). Par contre, à cette même température, le taux de follicules morphologiquement intacts après transport dans le TCM 199 était de 74,2±3,9% et ne diffère pas significativement de celui du témoin ; cependant, il est significativement inférieur à celui observé pour un transport à 10°C dans ce même milieu.

La figure 2 indique la répartition des principales anomalies observées après transport en fonction des différentes conditions testées. La présence de vacuoles cytoplasmiques constitue le principal défaut observé (Figure 3). Elles apparaissent après transport à température ambiante, principalement pour le Brahma (38,6 ± 4,7% des défauts observés) et pour le PBS (35,0 ± 8,8%). Les défauts nucléaires sont rares, sauf pour le Brahma à température ambiante où ils concernent 27,0±9,1% des follicules morphologiquement anormaux.

Figure 1: Follicules sans défaut morphologique après 1h de transport dans les différents milieux, à 10°C et à température ambiante (Ta)

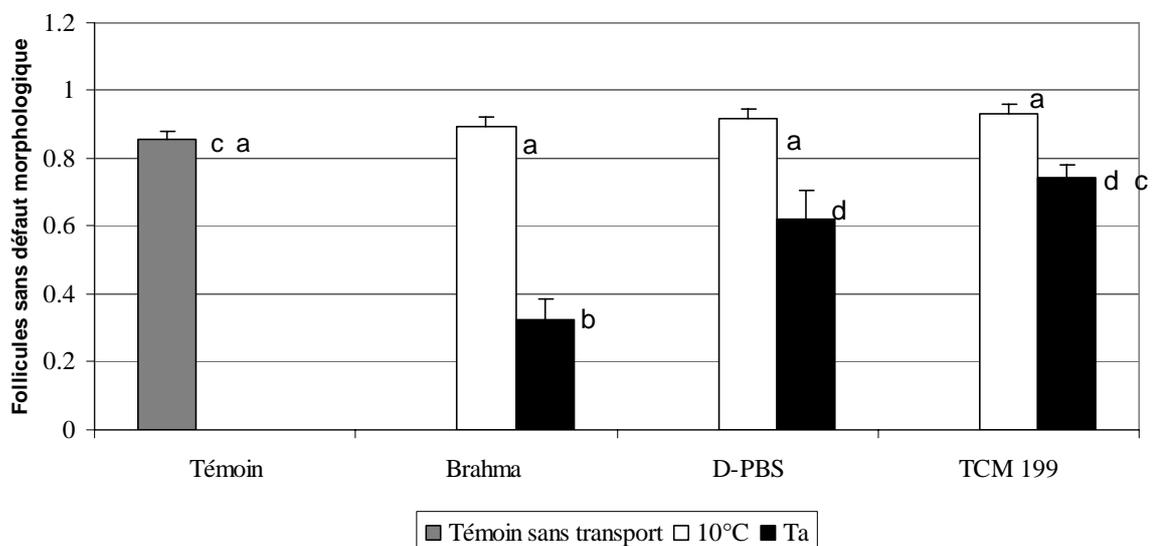


Figure 2: Répartition des différents types de défauts morphologiques induits par 1h de transport dans les différents milieux, à 10°C et à température ambiante (Ta); (% CY : défaut cytoplasmique; % NX : défaut nucléaire)

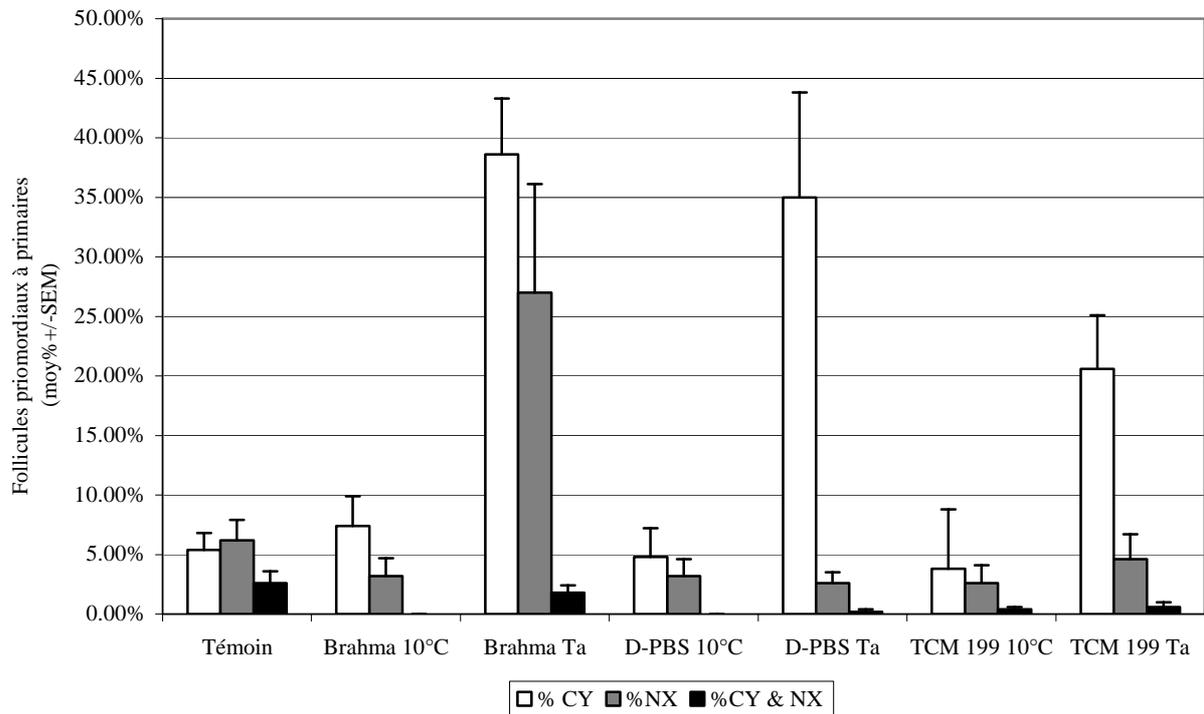
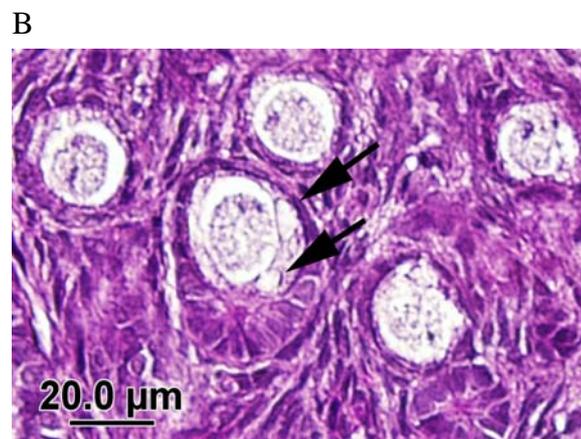
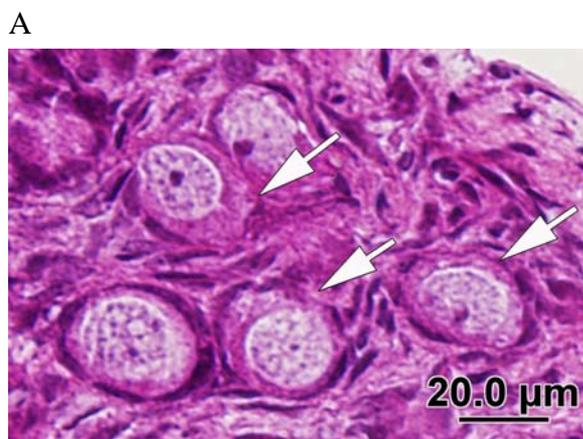


Figure 3 : Follicules primordiaux et intermédiaires de lapine transportés dans le TCM 199 à 10°C (A) et dans le Brahma à température ambiante (B). Les flèches blanches indiquent les follicules sans défaut morphologique; les flèches noires désignent les vacuoles cytoplasmiques induites par le transport à température ambiante.



3. Discussion :

Nos travaux sur les conditions de transport des ovaires de lapines nous ont permis de choisir le milieu TCM 199 utilisé à une température idéale de 10°C. Ce milieu semble limiter convenablement les dommages liés à l'ischémie chaude suite au prélèvement *post mortem*. Il présente également les avantages d'être peu onéreux et de pouvoir maintenir une morphologie folliculaire même en cas d'élévation accidentelle de la température lors du transport. Il constitue de plus, la

base du milieu de congélation utilisé à l'étape suivante lors de la cryoconservation dans l'azote liquide du cortex ovarien isolé. Le D-PBS et le Brahma pourraient convenir pour le transport des ovaires de lapine à 10°C, mais la diminution importante du taux de follicule normaux et l'augmentation du nombre de follicules présentant des vacuoles cytoplasmiques après transport à température ambiante, est trop préjudiciable.

Peu de milieux de transport d'organe et de tissu sont proposés sur le marché et sont la plupart du temps testés chez la femme. Leur coût limite leur utilisation chez l'animal. Chez les bovins, Kim *et al* (2004) ont montré une tolérance du tissu ovarien à l'ischémie pendant 2 h dans le Leibovitz L-15, sans différence entre un transport à 0°C ou à 20°C. Chez cette même espèce, Lucci *et al* (2004), préconisent un transport à 4°C dans une solution saline ou dans du lait de coco. Ces conditions permettraient la conservation morphologique des petits follicules (moins sensibles du fait de leur faible dépendance au réseau vasculaire) jusqu'à 18 h, sans différence avec les témoins. Leurs travaux, comme les nôtres, mettent en évidence une plus grande importance de la température de transport par rapport à la nature du milieu de transport. Chez la chèvre, l'observation ultrastructurale des follicules après transport montre une meilleure résistance à 4°C, dans une solution saline (0,9%) ou une solution de Braun-Collins. Ils peuvent ainsi être conservés *in situ* pendant 12 h (Carvalho *et al.*, 2001). Les meilleurs résultats obtenus lors du stockage du tissu ovarien à basse température peuvent s'expliquer par le ralentissement de l'activité métabolique des follicules, diminuant ainsi les dégâts cellulaires engendrés par une faible oxygénation et l'absence de nutriments.

Conclusion :

Cet essai nous a permis de définir des conditions optimales pour le transport des ovaires de lapine de l'abattoir au laboratoire. Le TCM 199, utilisé à 10°C, apparaît être le plus adapté et permet de conserver 93,2±1,1% des follicules primordiaux à primaires présents dans le cortex de l'ovaire. Le tissu ovarien de lapine semble être particulièrement sensible à une température de transport trop élevée. De nouveaux essais seront nécessaires incluant notamment des tests permettant l'évaluation fonctionnelle des follicules.

Références

- AUBARD Y., POIROT C., PIVER P., 2002. [Cryopreservation of ovarian tissue]. *Gynecol Obstet Fertil*, 30, 358-366.
- BARONE R., 1978. Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques, Tome Troisième, fascicule II. Lyon: Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- CARVALHO F.C.A., LUCCI C.M., SILVA J.R.V., ANDRADE E.R., BAO S.N., FIGUEIREDO J.R., 2001. Effect of Braun-Collins and Saline solution at different temperatures an incubation times on the quality of goat preantral follicles preserved in situ. *Anim. Reprod. Sci.*, 66, 195-208.
- DONNEZ J., DOLMANS M.M., DEMYLLE D., JADOUL P., PIRARD C., SQUIFFLET J., MARTINEZ MADRID B., VAN LANGENDONCKT A., 2004. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 364, 1405-1410.
- GOSDEN R.G., BAIRD D.T., WADE J.C., WEBB R., 1994. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees C. *Hum Reprod*, 9, 597-603.
- JOLY T., RENARD J.P., DANCHIN-BURGE C., Year. The rabbit species in the french cryobank. *9th annual conference of ESDAR*, Murcia, 1-3 september 2005.
- JOLY T., BOLET G., THEAU-CLEMENT M., FALIERES J., DE ROCHAMBEAU H., RENARD J.P., La Cryobanque Nationale : une mise en oeuvre adaptée pour l'espèce lapin. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Paris, 19 et 20 novembre, 39-42. ITAVI Ed.
- KIM S.S., YANG H.W., KANG H.G., LEE H.H., LEE H.C., KO D.S., GOSDEN R.G., 2004. Quantitative assesment of ischemic tissue damage in ovarian cortical tissue with or without antioxydant (acid ascorbic) treatment. *Fertil Steril*, 82, 679-685.
- LUCCI C.M., KACINSKIS M.A., RUMPF R., BAO S.N., 2004. Effects of lowered temperatures and media on short-term preservation of zebu (Bos indicus) preantral ovarian follicles. *Theriogenology*, 61, 461-472.
- NETO V., BERTHILLOT C., EXBRAYAT J.M., JOLY T., LORNAGE J., Congélation du tissu ovarien de lapine : résultats préliminaires et observations histologiques. *10ème Journées de la Recherche Cunicole*, Paris, 19 et 20 novembre 2003.
- SALLE B., DEMIRCI B., FRANCK M., RUDIGOZ R.C., GUERIN J.F., LORNAGE J., 2002. Normal pregnancies and live births after autograft of frozen-thawed hemi-ovaries into ewes. *Fertil Steril*, 77, 403-408.

Congélation de la semence de lapin : approche calorimétrique

P. SALVETTI¹, A. BAUDOT², T. JOLY¹

¹ ISARA-Lyon, 31 place Bellecour, 69288 Lyon Cedex 02, France.

² Centre de Recherches sur les Très Basses Températures (CNRS), 25 avenue des Martyrs, BP 166, 38042 Grenoble Cedex 9, France.

Résumé : La cryoconservation de la semence est un outil efficace et sûr pour conserver les ressources génétiques animales et pour diffuser le progrès génétique ; cependant, cette technique n'est pas encore maîtrisée chez le lapin. L'objectif de cette étude est de caractériser le comportement thermodynamique des trois principaux milieux de congélation de la semence de lapin en utilisant la technique de calorimétrie différentielle à balayage (DSC7 Perkin-Elmer). Les cinétiques réelles de refroidissement et de réchauffement sont présentées pour chacune de ces méthodes de congélation. De plus, le phénomène de cristallisation dans les solutions cryoprotectrices a été caractérisé par les mesures précises de la température d'apparition des premiers cristaux de glace et les estimations de la quantité totale de glace formée. Cette première approche calorimétrique pose les bases nécessaires pour définir les cinétiques optimales de congélation de la semence de lapin.

Abstract: Freezing of rabbit semen: a calorimetric approach. The cryoconservation of the semen is an effective and safe tool to preserve animal genetic resources and to diffuse the genetic progress; however, this technique is not controlled yet for the rabbit. The aim of this study is to characterize the thermodynamic behavior of the three main mediums of rabbit semen freezing using differential scanning calorimetry (DSC₇ Perkin-Elmer). The real freezing and thawing rates are presented for each freezing method. The crystallization phenomenon in the cryoprotective solutions are characterized by temperatures measurements of the first ice crystals appearance and estimations of the total quantity of ice formed. Our first calorimetric approach establishes the bases necessary to define the optimal rates for the rabbit semen freezing.

Introduction

La congélation de la semence présente de nombreux intérêts dont la possibilité de conserver à très long terme les potentialités des spermatozoïdes en vue d'une utilisation ultérieure. Ainsi, la dissociation spatio-temporelle entre la collecte et l'utilisation de la semence, son fractionnement et sa dilution entraînerait une meilleure valorisation du travail de sélection et une diffusion plus efficace du progrès génétique par la voie mâle (Theau-Clément, 2001). Par ailleurs, face à l'érosion croissante de la biodiversité et à la perte irréversible de gènes potentiellement utiles, la congélation serait une méthode efficace et sûre de conservation de la diversité génétique naturelle. De la même façon, la diversité génétique créée par les nouvelles biotechnologies comme la transgénèse pourrait être conservée, limitant ainsi les coûts de production des animaux transgéniques (Joly, 1997).

Les résultats satisfaisants obtenus pour la congélation de la semence bovine ont permis de développer cette technique en routine dans les élevages. Cependant, chez beaucoup d'autres espèces domestiques dont le lapin, les résultats restent assez décevants, aussi bien *in vitro* que *in vivo* (Courtens, 1995). Pourtant, la mise en place de semence congelée chez le lapin a parfois donné des résultats prometteurs proches de ceux obtenus en fertilité et prolificité après insémination de semence fraîche (Andrieu et Courot, 1976 ; Chen et Foote, 1989 ; Mocé *et al.*, 2003). Cependant, ces résultats sont difficilement reproductibles avec une grande variabilité de réponse à la congélation entre les différentes populations,

entre individus d'une même population et entre éjaculats d'un même individu (Salveti, 2004). Ainsi, ces méthodes ne constituent pas un outil suffisamment fiable pour la diffusion du progrès génétique dans les élevages de production ou pour conserver les ressources génétiques chez le lapin.

Les méthodes de congélation existantes ne sont pas définies de manière suffisamment précise pour être reproductibles ce qui explique partiellement les variabilités observées. Par conséquent, il semble nécessaire de standardiser les protocoles expérimentaux et de s'intéresser tout particulièrement aux cinétiques de refroidissement et de réchauffement directement liées au taux de survie cellulaire. La vitesse de refroidissement optimale doit être assez basse pour permettre une déshydratation partielle de la cellule et éviter la cristallisation intracellulaire, mais suffisamment élevée pour limiter « l'effet de solution » caractéristique des faibles vitesses de refroidissement (Mazur, *et al.*, 1972).

La cryomicroscopie, grâce à l'observation visuelle du comportement cellulaire et des phénomènes de cristallisation et de fusion, pourrait permettre de déterminer les cinétiques optimales. Cependant, cette technique semble limitée dans le cas des cellules non sphériques comme les spermatozoïdes de lapin du fait des sources d'erreurs liées aux projections en deux dimensions. En revanche, l'utilisation de la calorimétrie différentielle à balayage permet de réaliser des mesures quantitatives et dynamiques de la quantité de glace cristallisée et fondue, indépendamment de la forme et de la taille cellulaire (Devireddy *et al.*, 1998). De ce fait, les premières

applications pour la congélation de semence ont été effectuées dans le but d'optimiser les cinétiques de refroidissement utilisées pour la congélation de la semence de plusieurs espèces : souris (Devireddy *et al.*, 1999), homme (Devireddy *et al.*, 2000), étalon (Devireddy *et al.*, 2002), verrat (Devireddy *et al.*, 2004).

L'objectif de cette étude est de caractériser le comportement thermodynamique des principales solutions cryoprotectrices utilisées dans trois méthodes de congélation de semence : Andrieu et Courot (1976), Chen et Foote (1989) et Mocé *et al.* (2003).

1. Matériel et méthodes

1.1. Origine de la semence

Les semences de lapin utilisées pour les mesures calorimétriques ont été fournies par « Grimaud Frères SA ». Les échantillons de semence pure et diluée au tiers dans du Galap (IMV, France) ont été acheminés par voie postale dans des boîtes maintenues à 5°C. Les études ont été réalisées, en homospermie, 24 à 48h après collecte.

1.2. Confection des milieux de congélation

Les milieux de congélation testés sont : Andrieu et Courot (1976) [eau, jaune d'œuf (20%), DMSO (2,5%), glycérol (0,65%), lactose, D-Glucose, tampon Tris], Chen et Foote (1989) [eau, jaune d'œuf (20%), acétamide (5%), lactose, glucose, raffinose], Mocé *et al.* (2003) [eau, DMSO (12,43%), saccharose, D-Glucose, tampon Tris].

Tous les milieux ont été réalisés à partir de produits chimiques de Fisher Scientific SAS et de jaune d'œufs BIO « Matines ». Les pH ont été ajustés à 6,8.

1.3. Mesures des cinétiques

Les cinétiques exactes de refroidissement et de réchauffement ont été déterminées en suivant l'évolution de la température de semences collectées à la Station d'Amélioration Génétique des Animaux (Centre INRA de Toulouse). L'utilisation de thermocouples a permis le suivi de la température à l'intérieur même des paillettes (0,5 ml, IMV France). Ainsi, quatre thermocouples préalablement étalonnés ont été reliés à un scanner de température multicanaux CONSORT T851 permettant l'acquisition informatique des données avec une fréquence d'enregistrement élevée (1 enregistrement/seconde). Le nombre de répétitions est variable selon l'étape de la méthode considérée : deux répétitions jusqu'au conditionnement en paillettes (semence dans le tube de collecte), huit depuis la mise en paillettes jusqu'au stockage dans l'azote liquide puis quatre pour l'étape de réchauffement. Les valeurs présentées résulteront de la moyenne des mesures effectuées pour chaque répétition.

1.4. Mesures calorimétriques

Afin d'évaluer le comportement thermodynamique des milieux de congélation, les mesures calorimétriques (quantité de glace formée ;

température de début de cristallisation) ont été réalisées au calorimètre différentiel à balayage (DSC₇, Perkin Elmer) avec ou sans semence. Pour chaque méthode de congélation, les échantillons « milieux seuls », « milieux seuls + semence pure » ou « milieux seuls + semence diluée » ont été soumis aux cinétiques précédemment mesurées et programmées sur le calorimètre. Les dilutions de la semence dans les milieux de congélation ont été effectuées selon les modalités décrites par les auteurs. Pour la technique de Andrieu et Courot (1976) qui utilise une double dilution de la semence avec deux milieux de compositions différentes, les mesures calorimétriques ont débuté à 5°C. Les limites techniques du calorimètre n'ont pas permis de descendre au-delà de -180°C ni de reproduire les cinétiques de réchauffement mesurées (vitesse limite : 300°C/min).

Les mesures au DSC₇ étant reproductibles (Devireddy *et al.*, 1998), deux mesures par échantillon ont été suffisantes pour garantir une bonne fiabilité des résultats.

2. Résultats

2.1. Mesures des cinétiques

La figure 1 met en évidence les cinétiques moyennes de congélation et de décongélation des trois méthodes de congélation qui seront reproduites pour les mesures calorimétriques. On observe que la méthode de Mocé *et al.* est plus rapide que les deux autres méthodes du fait de la rapidité du refroidissement à 5°C qui est effectué sur de la semence déjà conditionnée en paillettes. En effet, contrairement aux autres méthodes où le conditionnement de la semence en paillettes de 0,5 ml (IMV France) est réalisé à 5°C, il est effectué à température ambiante pour la méthode de Mocé *et al.* (2003). De plus, on remarque que les cinétiques de réchauffement, pour ces trois méthodes, sont proches (630 à 730°C/min) même si les conditions expérimentales diffèrent.

2.2. Mesures calorimétriques

On observe que les mesures calorimétriques sur la quantité de glace formée (Q) ou sur la température de début de cristallisation (T_c) présentent une variabilité assez importante, notamment en présence de semence pure ou diluée (figure 2 et 3).

D'après la figure 2, on remarque que la méthode de Andrieu et Courot permet de minimiser la quantité de glace formée en présence de semence pure ou diluée (~ 30%) suivie de Mocé *et al.* (~ 34%) puis de Chen et Foote (~ 43%). De plus, la méthode de Andrieu et Courot présente peu de différences entre les résultats obtenus pour les différents échantillons (milieu seul ou avec semence pure ou diluée).

Au niveau des mesures réalisées sur T_c (figure 3), les valeurs moyennes toutes solutions confondues (milieu avec ou sans semence) montrent que les méthodes de Andrieu et Courot et de Mocé *et al.* semblent cristalliser à des températures plus basses que la solution de Chen et Foote.

Figure 1: Cinétiques moyennes de refroidissement et de réchauffement mesurées respectivement pour Andrieu et Courot (1976), Chen et Foote (1989) et Mocé *et al.* (2003).

N.B : Les axes des abscisses présentent des ruptures d'échelles afin de mieux visualiser les étapes rapides des méthodes de congélation. Pour les deux premières méthodes, la durée de refroidissement jusqu'à 5°C a été écourtée.

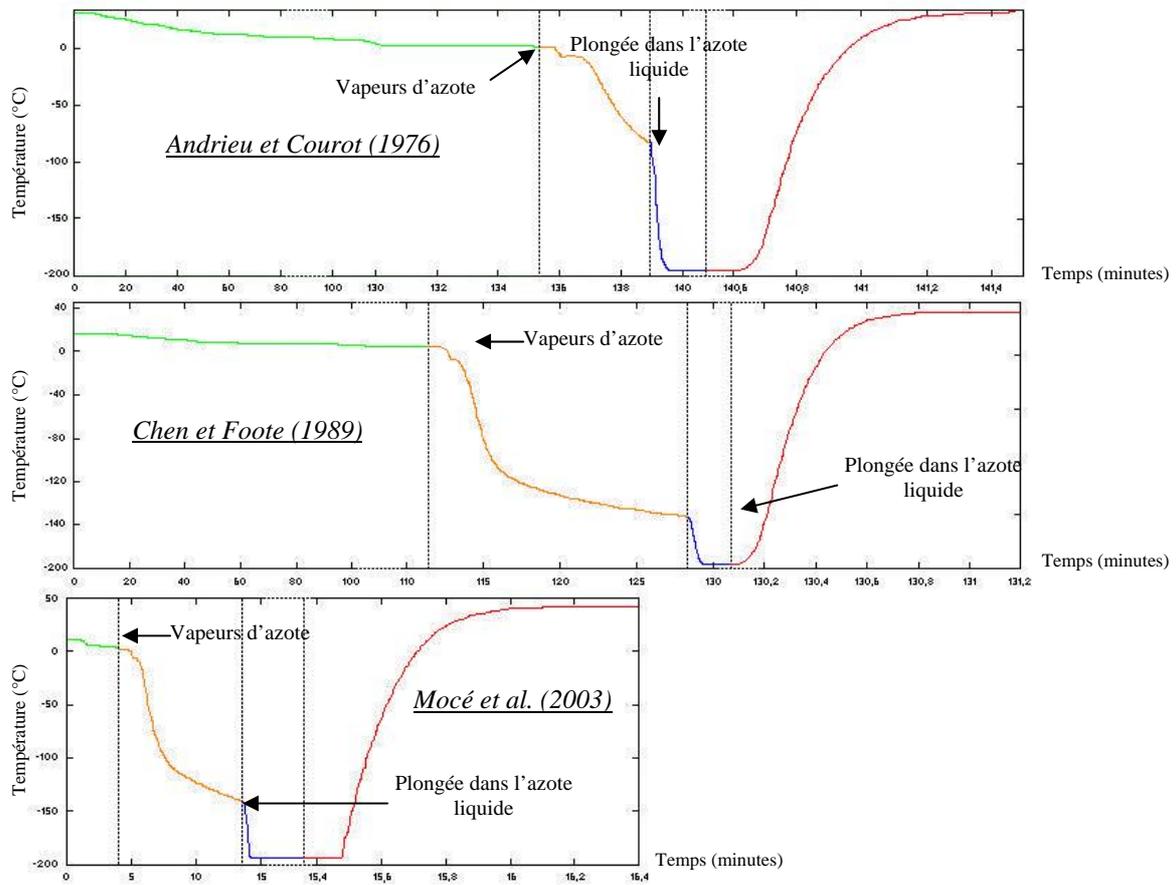


Figure 2 : Quantité de glace formée (Q) dans les solutions avec ou sans semence (diluées ou non) pour chaque méthode de congélation.

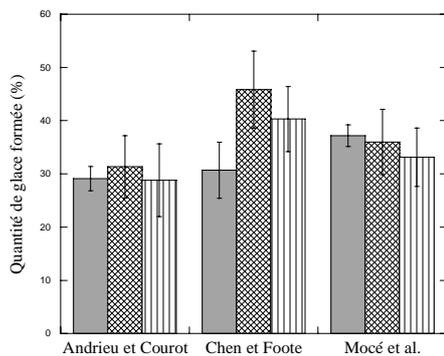
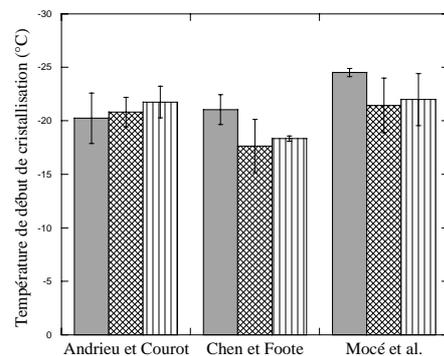


Figure 3 : Température de début de cristallisation (T_c) des solutions avec ou sans semence (diluée ou non) pour chaque méthode de congélation.



Milieu seul
 Milieu + semence pure
 Milieu + semence diluée

3. Discussion

Les mesures calorimétriques montrent que la phase critique de la congélation se situe autour de -20°C lorsque les premiers cristaux de glace apparaissent. D'après les mesures de cinétiques, on observe que ce phénomène se déroule, pour les trois méthodes étudiées, dès que les paillettes de semence sont placées dans les vapeurs d'azote. Contrairement aux idées reçues, les dommages ne sont pas infligés aux spermatozoïdes pendant la plongée dans l'azote liquide mais lors de la période qui la précède. Il est important et nécessaire de mieux maîtriser le refroidissement des paillettes dans les vapeurs d'azote qui reste une étape encore empirique. C'est pourquoi la pratique du « seeding » (technique permettant d'induire la cristallisation dans un milieu en surfusion) permettrait de mieux contrôler la formation de la glace et d'optimiser les résultats comme Chen et Foote, (1994) ont déjà pu le mettre en évidence. De plus, le contrôle des vitesses de refroidissement autour des -20°C (congélateur programmable) permettrait une meilleure maîtrise du phénomène de cristallisation. Ces améliorations pourraient peut être permettre de diminuer une partie de la variabilité des résultats en congélation de semence de lapin.

Les quantités de glace formées en présence de semence montrent que la méthode d'Andrieu et Courot (1976) semble la plus adaptée à la congélation de semence de lapin puisque elle permet de limiter la cristallisation. Cependant, la technique de calorimétrie différentielle à balayage ne précise pas la localisation de la glace dans la solution et en particulier les proportions de glace intra et extracellulaire. De plus, l'adjonction de semence pure ou diluée dans la solution de Andrieu et Courot ne semble pas modifier notablement ses propriétés thermodynamiques. Cet aspect est important pour prendre en compte l'hétérogénéité des éjaculats.

Ainsi, des études calorimétriques et cryomicroscopiques complémentaires doivent être menées pour déterminer les cinétiques optimales et améliorer les méthodes de congélation de la semence de lapin.

Conclusion

Cette étude a permis de caractériser d'un point de vue thermodynamique les méthodes de congélation de Andrieu et Courot (1976), Chen et Foote (1989) et Mocé *et al.* (2003). Ainsi, la détermination des cinétiques de refroidissement et de réchauffement et leur approche calorimétrique ont mis en évidence les phases critiques à étudier pour espérer rendre la cryoconservation de la semence de lapin applicable dans les élevages de production et en conservation des ressources génétiques lapin.

Remerciements

Cette étude a été menée au Centre de Recherches sur les Très Basses Températures (CNRS, Grenoble). Nous remercions vivement Grimaud Frères SA représenté par Jacques Hurtaud pour nous avoir généreusement fourni la semence nécessaire à la réalisation de cette étude ainsi que le personnel de la SAGA pour leur aide précieuse.

Références

- ANDRIEU R, COUROT M ; 1976. Congélation du sperme de lapin en vue de l'insémination artificielle. *1^{er} Congrès International Cunicole*, Dijon, communication n°67.
- CHEN Y, YANG X, FOOTE R.H, 1989. Timed breeding of rabbits with fresh and frozen-thawed semen and evidence of acrosome alteration following freezing and thawing. *Anim. Reprod. Sci.*, 18, 35-41.
- CHEN Y, FOOTE R.H, 1994. Survival of rabbit spermatozoa frozen and thawed at different rates with and without seeding. *Anim. Reprod. Sci.*, 35, 131-143.
- COURTENS J.L ; 1995. La congélation de la semence de lapin. *Cuniculture* n°123, 22 (3), 101-102.
- DEVIREDDY R.V, RAHA D, BISCHOF J.C, 1998. Measurement of water transport during freezing in cell suspensions using a differential scanning calorimeter. *Cryobiology*, 36, 124-155.
- DEVIREDDY R.V, SWANLUND D.J, ROBERTS K.P, BISCHOF J.C, 1999. Subzero water permeability parameters of mouse spermatozoa in the presence of extracellular ice and cryoprotective agents. *Biol. Reprod.*, 61, 764-775.
- DEVIREDDY R.V, SWANLUND D.J, ROBERTS K.P, PRYOR J.L, BISCHOF J.C, 2000. The effect of extracellular ice and cryoprotective agents on the water permeability parameters of human sperm plasma membrane during freezing. *Hum. Reprod.*, 15 (5), 1125-1135.
- DEVIREDDY R.V, SWANLUND D.J, OLIN T, VINCENTE W, TROEDSSON M.H.T, BISCHOF J.C, ROBERTS K.P, 2002. Cryopreservation of equine sperm: optimal cooling rates in the presence and absence of cryoprotective agents determined using differential scanning calorimetry. *Biol. Reprod.*, 66, 222-231.
- DEVIREDDY R.V, FAHRIG B, GODKE R.A, LEIBO S.P, 2004. Subzero water transport characteristics of boar spermatozoa confirm observed optimal cooling rates. *Mol. Reprod. Dev.*, 67, 446-457.
- JOLY T, 1997. Etablissement d'une cryobanque de semence ou d'embryons pour la conservation ex situ de la diversité génétique chez les mammifères domestiques : l'exemple du lapin (*Oryctolagus cuniculus*). *Thèse doctorale en « Analyse et modélisation de systèmes biologiques »* : Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 143 p.
- MAZUR P, LEIBO S.P, CHU E.H.Y, 1972. A two factor hypothesis of freezing injury. *Exp. Cell Res.*, 71, 345-355.
- MOCE E, VICENTE J.S, LAVARA R, 2003. Effect of freezing-thawing protocols on the performance of semen from three rabbit lines after artificial insemination. *Theriogenology*, 60, 115-123.
- SALVETTI P, 2004. Comparaison de deux méthodes de congélation de la semence de lapin. *Mémoire de Fin d'Etudes. ISARA-Lyon*, 97 p.
- THEAU-CLEMENT M, 2001. Etude de quelques facteurs de contrôle de l'interaction entre la lactation et la reproduction chez la lapine conduite en insémination artificielle. *Thèse doctorale en « Sciences agronomiques »*. Institut National Polytechnique de Toulouse, 103 p.

Evaluation de la concentration de semence de lapins selon 2 méthodes : Hématimètre et NucleoCounter SP100

M. THEAU-CLEMENT, J. FALIERES

INRA. Station d'Amélioration Génétique des Animaux BP 52627 - 31326 Castanet Tolosan Cedex, France

Résumé. L'objectif de cette étude est de comparer et de tester la répétabilité et la justesse des mesures de concentration de la semence de lapins selon deux méthodes : l'hématimètre (méthode de référence) et le NucleoCounter® (méthode testée). La concentration a été évaluée sur 106 éjaculats par les deux systèmes. Le pourcentage d'échantillons dont la différence relative entre deux mesures successives d'un même échantillon est supérieure à 10 % varie de 19,8 % (NucleoCounter) à 21,6 % (hématimètre). Au NucleoCounter, la corrélation entre la mesure de concentration de deux gouttes différentes prélevées dans un même tube de semence diluée est de + 0,97 ($P < 0,0001$). A l'hématimètre, la corrélation est de + 0,99 ($P < 0,0001$). Par ailleurs, la corrélation entre les mesures effectuées par les deux systèmes est de + 0,96 ($P < 0,0001$), quelle que soit la goutte. Ces résultats mettent donc en évidence une liaison positive et linéaire entre deux mesures successives d'un même échantillon ainsi qu'entre les deux systèmes. Par rapport à la méthode de référence, il est donc démontré que le NucleoCounter est un outil d'évaluation de la concentration de semence de lapins aussi répétable et juste que la méthode de référence, quelle que soit la concentration de la semence. De plus, simple et rapide, cette méthode devrait permettre, par une généralisation de l'évaluation de la concentration dans les centres d'IA, une meilleure maîtrise quantitative de la dose d'insémination.

Abstract - Evaluation of the rabbit semen concentration according to two methods: haemocytometer and NucleoCounter SP 100. The aim of that study was to compare and to test the repeatability and the accuracy of concentration measurements of rabbit semen using two methods: haemocytometer (standard method) and the NucleoCounter® (tested method). The concentration was evaluated from 106 ejaculates by both of the methods. At the NucleoCounter, the correlation between the concentration of two different drops coming from a same sample is + 0,97 ($P < 0,0001$). At the haemocytometer, the correlation is + 0,99 ($P < 0,0001$). Moreover, whatever the drop, the correlation between the measurements done by the two systems is + 0,96 ($P < 0,0001$). These results evidenced a positive and linear relation between two successive measurements of a same sample as well as between the two methods. It is demonstrated, whatever the concentration, that the NucleoCounter is an as repeatable and accurate tool for rabbit semen evaluation as the standard method. Moreover, simple and rapid, that method could allow, by a generalisation of concentration evaluation in AI Centers, a better control of quantitative aspects of the rabbit insemination dose.

Introduction

Ces dernières années, des travaux ont été conduits pour définir le nombre de spermatozoïdes minimum que doit contenir une dose pour assurer chez la lapine, une fertilité optimale (Castellini et Lattaioli, 1999 ; Theau-Clément *et al.*, 2003). Alors que l'analyse d'images assistée par ordinateur est un bon outil d'analyse de la motilité de la semence de lapins (Theau-Clément *et al.*, 1996a, Lattaioli et Castellini, 1998), son intérêt pour évaluer la concentration de la semence démontré par Farrel *et al.* (1992) et De Yi Liu *et al.* (1991) n'a pas été confirmé par Pizzi *et al.* (1993) et Theau-Clément *et al.* (1996b). Par ailleurs, la semence de lapins contenant en quantité variable, des granules d'origine prostatique très réfringents, la mesure de la densité optique ne permet pas de dénombrer de manière spécifique et précise les spermatozoïdes (Theau-Clément *et al.*, 1996b). En conséquence, la technique longtemps utilisée en laboratoire médical pour la numération sanguine (comptages sur hématimètre) est la technique de référence, elle prend cependant beaucoup de temps (environ 15 minutes par échantillon). La numération par le système Nucleocounter SP-100® étant très

rapide (35 secondes), l'objectif de ce travail est de tester et de comparer la répétabilité et la justesse des mesures effectuées selon ces deux méthodes.

1. Matériel et méthodes

1.1. Principe de l'appareil.

Le NucleoCounter SP-100 est basé sur la fluorescence de l'iodure de propidium fixé sur l'ADN des noyaux des spermatozoïdes de mammifères. Une première étape consiste à lyser les spermatozoïdes en suspension dans la semence, pour libérer les noyaux. Puis l'iodure de propidium est ajouté à la semence lysée, la lumière verte émise par une diode LED se transforme alors en lumière fluorescente rouge quand l'iodure de propidium se fixe spécifiquement sur les noyaux. Une caméra CCD détecte les signaux excités des noyaux. L'appareil étant équipé d'un système d'analyse d'images, les signaux détectés sont analysés. Par ailleurs, un logiciel permet de visualiser sur l'écran d'un ordinateur, les noyaux fluorescents sur fond noir. Le volume d'analyse étant connu ainsi que le facteur de dilution, la concentration s'affiche directement sur l'écran du NucleoCounter SP-100 (millions de spermatozoïdes/ml).

Photo 1. La semence est diluée avec un réactif permettant la lyse des cellules.



Photo 2. La semence est aspirée dans la cassette SP1.



Photo 3. La cassette est introduite dans le NucleoCounter, l'analyse est lancée.

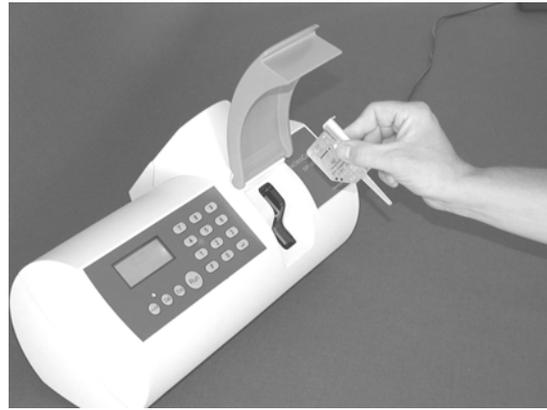
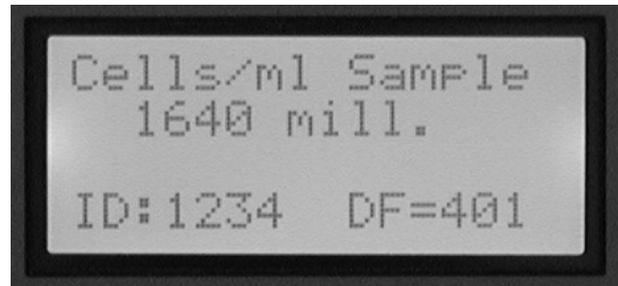


Photo 4. La concentration s'affiche sur l'écran 35 secondes après. ID= identification, DF= facteur de dilution.



Le système NucleoCounter SP-100 comprend outre l'instrument de mesure, le réactif S100 (distribués par ChemoMetec Gydevang 43, 3450 Allerød, Danemark) permettant de lyser les cellules (photo 1) et des cassettes SP1 (photo 2).

1.2. Dispositif expérimental.

Cent six éjaculats provenant de 20 mâles de génotype 1001 ont été analysés selon les 2 méthodes dans les heures suivant la collecte. Pour chacun d'eux, deux tubes de semence diluée sont préparés. Pour chaque système, 2 gouttes d'un même échantillon ont été prélevées et analysées successivement.

Pour l'évaluation de la concentration au NucleoCounter, la semence est diluée dans un premier tube avec un réactif permettant la lyse des cellules (photo 1). Ainsi, 50 µl de semence sont dilués dans 10 ml de réactif S100. En effet, la Société ChemoMetec indique que pour une semence contenant de 250 à 1000 10⁶ spermatozoïdes/ml, la précision est optimale pour une dilution de 1/200. La semence de lapins contenant généralement moins de 1000 10⁶ spermatozoïdes/ml, cette dilution a été systématiquement appliquée. Dans un deuxième temps, la semence est aspirée dans la cassette SP1 (photo 2) en appuyant doucement sur le piston, ainsi

60 µl de semence diluée et lysée est introduite dans la cassette. L'iodure de propidium stocké dans les trois premières pistes de la cassette est mélangé à la semence, il se fixe alors à l'ADN et colore le noyau des cellules. La cassette est introduite dans le Nucleocounter (photo 3), l'analyse est alors lancée. Un microlitre de semence diluée dans du réactif S100 est analysée dans la chambre de la cassette. De 30 à 35 secondes après, la concentration de l'éjaculat s'affiche sur l'écran. (photo 4).

Dans un deuxième tube, la semence est diluée dans les mêmes proportions en remplaçant le réactif S100 par le citrate à 3,6g/l. La numération sur hématimètre (cellule de Thoma) est réalisée selon la méthode décrite par Boussit (1989). Avant la dilution et chaque évaluation de la concentration, les tubes sont homogénéisés énergiquement.

1.3. Analyses statistiques.

La corrélation entre deux mesures successives d'un même échantillon intra-système et la corrélation entre les mesures faites entre les deux systèmes sont analysés en utilisant la procédure Proc Corr de SAS (coefficient de Pearson). De plus, un ajustement par régression linéaire a été réalisé.

2. Résultats et discussion

Sur la première goutte, la concentration mesurée au NucléoCounter est de $636 \pm 429 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, elle a varié de 37 à $1887 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml. Sur la deuxième goutte, la concentration est en moyenne de $629 \pm 418 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, elle a varié de 36 à $1948 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml. A l'hématimètre, sur la première goutte, la concentration est en moyenne de $652 \pm 420 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, elle a varié de 25 à $2006 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml. Sur la deuxième goutte, la concentration est en moyenne de $659 \pm 436 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, elle a varié de 28 à $2265 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml.

La proportion d'échantillons pour lesquels la différence relative entre les 2 mesures est supérieure à 10 % ne varie pas entre les 2 systèmes (NucleoCounter : 19,8 %, hématimètre : 21,6 %). Cependant la proportion d'échantillons pour lesquels la différence relative entre deux mesures est supérieure à 25 % est plus faible pour l'hématimètre (respectivement : 2,8 vs 4,7 %). En fait, l'écart entre les deux systèmes n'est dû qu'à deux échantillons pour lesquels la concentration étant supérieure à $1000 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, une dilution au 1/400 aurait dû être appliquée pour une meilleure précision.

Répétabilité. Au NucleoCounter, la corrélation entre la mesure de concentration de deux gouttes différentes prélevées dans un même tube de semence diluée est de + 0,97 ($P < 0,0001$, figure 1). A l'hématimètre, la corrélation est de + 0,99 ($P < 0,0001$, figure 2). Cependant, 24 % des échantillons avaient une concentration supérieure à $1000 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml pour lesquels une dilution au 1/400 aurait dû être appliquée. Sur les échantillons contenant strictement moins de $1000 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, les corrélations entre les mesures faites au NucleoCounter et à l'hématimètre restent stables (respectivement : $r = + 0,98$, goutte 2 : $r = + 0,99$). Ces résultats mettent donc en évidence intra-système et quel que soit le système, une liaison positive et linéaire entre deux mesures successives d'un même échantillon, quelle que soit la concentration des échantillons.

Justesse. Elle peut être appréciée par l'étude des relations entre les valeurs obtenues par la méthode de référence (hématimètre) et le NucléoCounter. Ainsi, quelle que soit la goutte, la corrélation entre les mesures effectuées par les 2 systèmes est de + 0,96 ($P > 0,0001$, figures 3 et 4). Sur les échantillons de concentration inférieure à $1000 \cdot 10^6$ spermatozoïdes/ml, les corrélations sont similaires (goutte 1 : $r = + 0,97$, goutte 2 : $r = + 0,96$). La corrélation des mesures entre deux systèmes est très supérieure à celles obtenues jusqu'ici. En effet, Pizzi *et al.* (1993) ont obtenu une corrélation de + 0,57 quand la concentration est mesurée sur hématimètre et par analyse d'images assistée par ordinateur (système Cellsoft). De même Theau-Clément *et al.* (1996a) ont

Figure 1. Corrélation entre 2 mesures successives d'un même échantillon (2 gouttes) au Nucléocounter SP 100.

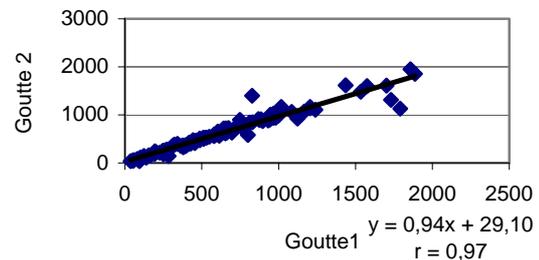


Figure 2. Corrélation entre 2 mesures successives d'un même échantillon (2 gouttes) à l'hématimètre.

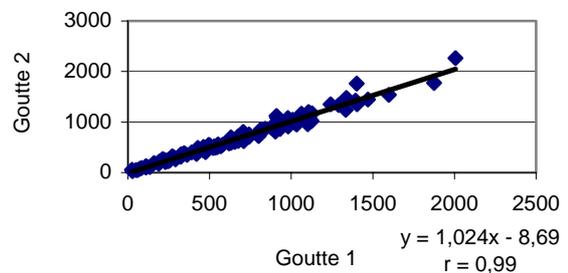


Figure 3. Corrélation entre les mesures faites au NucléoCounter SP100 et à l'hématimètre (goutte1).

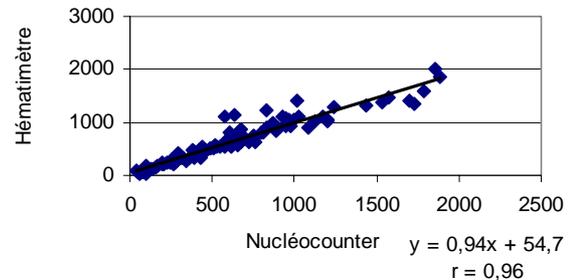
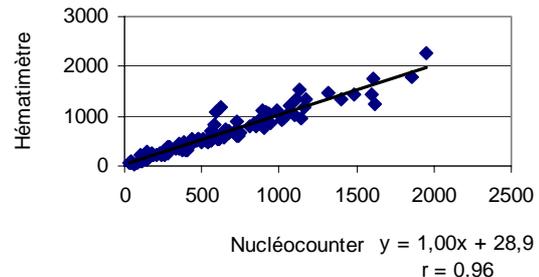


Figure 4. Corrélation entre les mesures faites au NucléoCounter SP100 et à l'hématimètre (goutte2).



obtenu des corrélations plus faibles quand ils ont comparé la concentration mesurée sur hématimère avec celle obtenue par photométrie ($r=+ 0,66$) ou par analyse d'images assistée par ordinateur (système HTMA-Ivos, $r=+ 0,68$).

Conclusion

La corrélation élevée entre deux mesures de concentration intra-système et entre systèmes démontre que le NucleoCounter est un outil d'évaluation de la concentration de semence de lapins aussi répétable et juste que la méthode de référence, quelle que soit la concentration des échantillons. De plus, simple et rapide, cette méthode devrait permettre une meilleure maîtrise quantitative de la dose d'insémination.

Remerciements

Les auteurs remercient la Société ChemoMetec et P. Sigsgaard pour le prêt de l'instrument, la fourniture des accessoires et réactifs nécessaires à cette étude, ainsi que l'ensemble des techniciens de l'élevage lapins de la Station d'Amélioration Génétique des Animaux pour leur collaboration efficace.

Références

BOUSSIT, D. 1989. Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. *Association Française de Cuniculture*, Lempdes, Paris. pp. 234.
CASTELLINI, C. ET LATTAIOLI, P. 1999. Effect of number of

motile sperms inseminated on reproductive performance of rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.* 57: 111-120.
DE YI LIU., CLARKE, G.N., GORDON BAKER, H.W. 1991. Relationship between Sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn Motility Analyser and Fertilization Rates In Vitro. *J. Andrology*, 12 (4): 231-239.
FARRELL, P.B., FOOTE, R.H., LOOMIS, P.R. 1992. Elimination of granule interference facilitating accurate casa analysis of rabbit sperm. *J. Andrology*, abstract 108.
LATTAIOLI, P., ET CASTELLINI, C. 1998. Efficacité d'un système d'analyse d'images pour évaluer la semence de lapin : précision et répétabilité. *7èmes Journées de la Recherche Cunicole*; Lyon, 13-14 mai : 233-236.
PIZZI, F., LUZI, F., CATANZARITI, G., CRIMELLA, C. 1993. Confronto tra un sistema computerizzato di analisi e metodiche classiche per la valutazione del materiale seminale di coniglio. *Atti 10° Congresso Nazionale ASPA*: 715-720.
THEAU-CLEMENT M., LATTAIOLI P., ROUSTAN A., CASTELLINI C. 1996a. A comparison between computerised semen image analyses and visual methods to evaluate various biological parameters in rabbit semen. *6th World Rabbit Congress*, Toulouse 1996, Vol 2, 133-137.
THEAU-CLEMENT, M., LATTAIOLI, P., ROUSTAN, A., CASTELLINI, C. 1996b. Reliability and accuracy of a computerised semen image analyses to evaluate various biological parameters in rabbit semen. *6th World Rabbit Congress*, Toulouse 1996, Vol 2, 139-143.
THEAU-CLEMENT M., DELHOMME, G., VALTEAU, C. RIDEAUD, P., FALIERES, J., MERCIER, P. 2003. Influence du nombre de spermatozoïdes inséminés sur les performances de reproduction des lapines en fonction de leur état physiologique. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 nov.. 2003, Paris: 73-76.

Variabilité et relations phénotypiques de plusieurs caractéristiques de production et de qualité du sperme chez le lapin

M. GARCÍA-TOMÁS^{1,2}, J. SÁNCHEZ², O. RAFEL¹, J. RAMON¹, M. PILES¹

¹IRTA – Unitat de Cunicultura, Torre Marimón s/n., 08140 Caldes de Montbuí, Barcelone, Espagne.

²Departament de Fisiologia. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 645 3^a planta 08028 Barcelone, Espagne.

Résumé. Un total de 2140 éjaculats de 156 mâles adultes appartenant à 4 groupes de mâles a été étudié. L'analyse en composantes principales et l'estimation des corrélations phénotypiques ont été réalisées afin d'examiner les relations existant entre les caractéristiques qualitatives et quantitatives du sperme du lapin. Les quatre premières composantes principales (CP) représentent 62 % de la variation totale. Le pourcentage de spermatozoïdes vivants (Vi), de spermatozoïdes ayant une intégrité acrosomique (NAR), de spermatozoïdes normaux (Nr), et d'anomalies morphologiques du col/pièce intermédiaire (Nm) et du flagelle (T) du sperme sont les variables prédominantes dans la première CP. La motilité d'ensemble et individuelle (Mm, Mi), le pH, la concentration (Cn) et nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (TSE) sont localisés dans la seconde. Le pourcentage de spermatozoïdes avec une gouttelette cytoplasmique proximale et distale (Dp, Dd), Vi, NAR et Nr sont les caractéristiques prédominantes dans la troisième et le volume (V) définit la quatrième.

Abstract. Variability and phenotypic correlations of some production and quality traits of rabbit semen. A total of 2140 ejaculates from 156 adult males pertaining to 4 groups of bucks were analysed. Principal component analysis and phenotypic correlations were performed in order to examine the relationships between qualitative and quantitative traits of rabbit semen. The first four principal components (PC) explained 62 % of total variation. Percentage of sperm viability (Vi), percentage of sperm with acrosome integrity (NAR), percentage of sperm normalcy (Nr), percentage of sperm morphological abnormalities of neck-midpiece (Nm) and tail (T) were the predominant variables in the first PC. Mass and individual motility (Mm, Mi), pH, concentration (Cn) and total number of spermatozoa per ejaculate (TSE) were located in the second. Percentage of sperm with the presence of proximal and distal cytoplasmic droplet (Dp, Dd), NAR, Vi and Nr were the predominant traits in the third and volume (V) defined the fourth.

Introduction

La qualité du sperme est habituellement décrite à travers un large spectre de caractéristiques : caractéristiques qualitatives de l'éjaculat, caractéristiques reliées à la composition biochimique de l'éjaculat, caractéristiques qualitatives des spermatozoïdes ou caractéristiques de la dose d'insémination. La plupart de ces mesures sont corrélées, ce qui rend plus difficile l'analyse des données et l'interprétation des résultats dans les études sur leur relation avec la fertilité. Il est donc important d'établir si elles doivent être remplacées par un plus petit nombre des mesures sans perte importante d'information. Cela impliquerait l'obtention d'un ensemble plus petit de mesures expliquant la plupart de la variabilité observée. En considérant ce fait, l'objectif de cette recherche a été de réaliser une analyse en composantes principales de plusieurs caractéristiques de la qualité du sperme en utilisant du sperme de mâles adultes appartenant à deux souches sélectionnées et leurs croisements réciproques.

1. Matériel et Méthodes

L'essai a été réalisé dans l'élevage expérimental de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) au cours de deux périodes correspondant aux saisons chaude et froide en Espagne.

1.1. Animaux

Les données concernent 156 mâles de deux souches parentales de lapin et leurs croisements réciproques. Après le sevrage, les mâles ont été soumis à une photopériode de 16 heures de lumière/jour et à des plages de températures allant de 14 à 24,4°C. Les animaux ont été alimentés avec 180 g/jour d'un aliment commercial (16% de protéine brute, 4,3% de graisses, 17% de fibres). Ils avaient toujours de l'eau fraîche *ad libitum*.

1.2 Prélèvement du sperme

À l'âge de cinq mois, les mâles ont débuté leur entraînement au vagin artificiel. À l'âge de six mois, ils entrent en phase de production. Pendant 7 semaines, deux éjaculats par mâle et par semaine ont été prélevés, avec un intervalle de 30 minutes entre les prélèvements.

1.3 Évaluation du sperme et caractères contrôlés

Tous les éjaculats ont été stockés à 37°C dans un bain d'eau avant de les évaluer, dans les 15 minutes après leur prélèvement. Les éjaculats contenant des dépôts d'urine et de carbonate de calcium ont été écartés. Le volume (V) et le pH de l'éjaculat ont été déterminés en utilisant une éprouvette graduée et un pH-mètre 507 Crison, respectivement. Les tampons de gels, quand il y en avait, ont été retirés avant l'évaluation du volume. La motilité d'ensemble (Mm) a été

évaluée conformément à une échelle subjective de 1 à 5, en utilisant des aliquots (10µl) de sperme brut et un microscope optique (Nikon) à x10. Des aliquots (10µl) de sperme brute ont été fixées en utilisant une coloration vitale d'éosine-nigrosine (Bamba, 1988) pour permettre des mesures ultérieures des caractéristiques de la qualité du sperme en examinant 200 spermatozoïdes avec un microscope optique (Olympus CH-3) à x1000 et en calculant les rapports suivants : pourcentage de spermatozoïdes vivants (Vi), pourcentage de spermatozoïdes ayant une intégrité acrosomique (NAR), pourcentage de spermatozoïdes normaux (Nr), pourcentage d'anomalies morphologiques de la tête (H), du col/pièce intermédiaire (Nm) et du flagelle (T),

pourcentage de spermatozoïdes avec gouttelette cytoplasmique proximale et distale (Dp, Dd).

Les éjaculats ont été ensuite dilués (1:5) dans un diluent commercial pour sperme de lapin (KUBUS m.r.a S.A, Madrid, Espagne) et la motilité individuelle (Mi) a été évaluée avec un microscope à contraste de phase (Nikon) à x400 en utilisant une échelle subjective de 0 à 5 (Roca *et al.*, 2000). La concentration (Cn) a été mesurée en utilisant des spermatozoïdes fixés (2% de glutaraldéhyde) avec un hématicmètre Thoma-Zeiss (dilution finale 1:50) et un microscope optique (Olympus CH-2) à x400. La variable synthétique nombre total de spermatozoïdes par éjaculat (TSE = V * Cn) a également été calculée.

Figure 1. Projection des variables sur le plan défini par la première et la seconde composante principale.

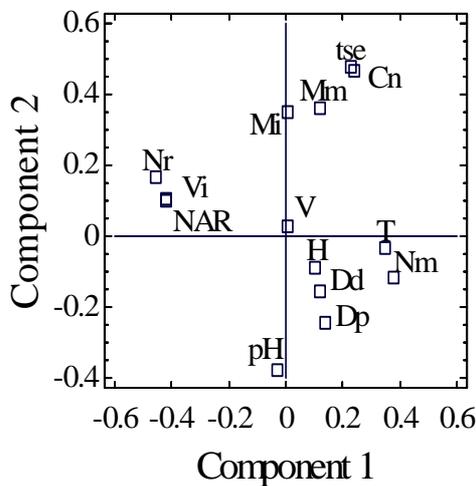


Figure 2. Projection des variables sur le plan défini par la première et la troisième composante principale.

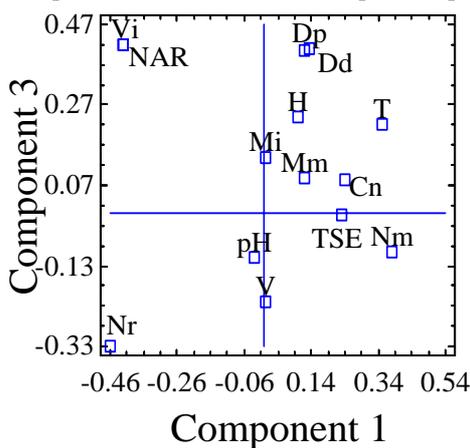


Figure 3. Projection des variables sur le plan défini par la seconde et la troisième composante principale. Abréviations : les abréviations sont les mêmes que dans la figure 1.

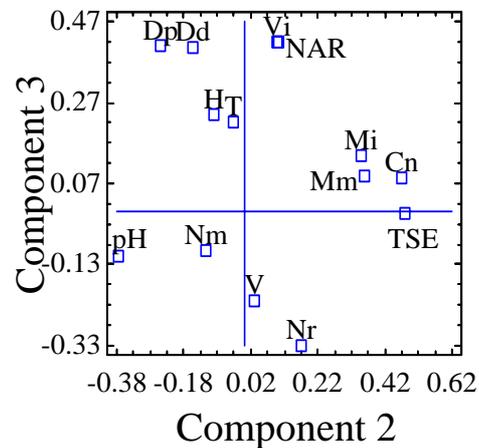


Figure 4. Projection des variables sur le plan défini par la première et la quatrième composante principale.

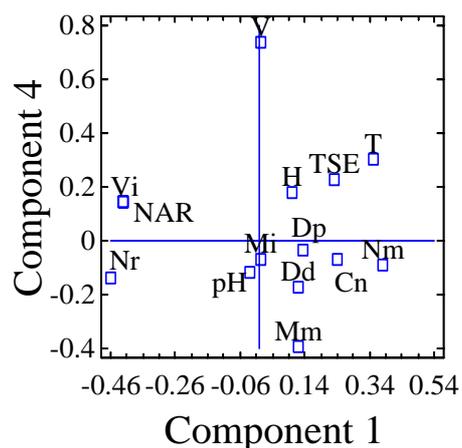


Fig. 1 à 4 :V: volume de l'éjaculat, Mm : motilité d'ensemble, Mi : motilité individuelle, Cn : concentration, TSE: nombre total de spermatozoïdes par éjaculat, Vi : pourcentage de spermatozoïdes vivants, NAR : pourcentage de sperme avec intégrité acrosomique, Nr : pourcentage de spermatozoïdes normaux, H : pourcentage d'anomalies morphologiques de la tête, Nm : pourcentage d'anomalies morphologiques du col/pièce intermédiaire, T : pourcentage d'anomalies morphologiques du flagelle, Dp : pourcentage de sperme avec gouttelette cytoplasmique proximale, Dd : pourcentage de sperme avec gouttelette cytoplasmique distale.

Tableau 1. Coefficients de corrélation entre les variables comprises dans l'analyse en composantes principales.

	PH	V ¹	Mm ¹	Mi ¹	Cn ¹	TSE ¹	Vi ¹	NAR ¹	Nr ¹	H ¹	Nm ¹	T ¹	Dp ¹	Dd ¹
PH	-													
V	-0,07*	-												
Mm	-0,41*	-0,16*	-											
Mi	-0,48*	-0,02	0,52*	-										
Cn	-0,41*	-0,1*	0,47*	0,35*	-									
TSE	-0,41*	0,19*	0,39*	0,34*	0,87*	-								
Vi	-0,24*	-0,07	0,11	0,27*	-0,01	-0,04	-							
NAR	-0,19*	-0,04	0,06*	0,21*	-0,05	-0,07*	0,98*	-						
Nr	-0,02	0,06	-0,02	0,04	-0,14*	-0,13*	0,23*	0,28*	-					
H	0,03	-0,04	0,03	0,02	-0,01	0,01	0,09	0,04	-0,17*	-				
Nm	0,02	0,05	-0,02	-0,03	0	0,02	-0,38*	-0,48*	-0,45*	0,07*	-			
T	0,01	-0,03	0,04	0,04	0,21*	0,21*	-0,15*	-0,16*	-0,72*	0,09*	0,11*	-		
Dp	0,16*	-0,04*	-0,12*	-0,17*	-0,13*	-0,14*	-0,04	-0,07	-0,38*	0,11*	0,12*	0,04	-	
Dd	-0,04	-0,09*	0	-0,02	-0,03	-0,08*	0,05	0	-0,32*	0,09*	0,09*	0,01	0,28*	-

* différence significative a P<0.05

V : volume de l'éjaculat (ml), Mm : motilité d'ensemble, Mi : motilité individuelle, Cn: concentration ($\times 10^6$ /ml), TSE : nombre total de spermatozoïdes par éjaculat ($\times 10^6$), Vi : pourcentage de spermatozoïdes vivants, NAR : pourcentage de sperme avec intégrité acrosomique, Nr : pourcentage de spermatozoïdes normaux, H : pourcentage d'anomalies morphologiques de la tête, Nm : pourcentage d'anomalies morphologiques du col-pièce intermédiaire, T : pourcentage d'anomalies morphologiques du flagelle, Dp : pourcentage de sperme avec gouttelette cytoplasmique proximale, Dd : pourcentage de sperme avec gouttelette cytoplasmique distale.

1.4 Analyses statistiques

Les corrélations phénotypiques entre les caractéristiques du sperme ont été obtenues en utilisant Proc Corr du progiciel SAS v.8. Les corrélations phénotypiques entre les caractéristiques de la qualité du sperme ont été évaluées comme une corrélation résiduelle à partir d'une analyse de variance des caractéristiques du sperme avec les effets fixés : type génétique du mâle (quatre niveaux : C, CxR, RxR, R), ordre de l'éjaculat (premier et second), jour de prélèvement et l'effet aléatoire permanent non additif du mâle auquel correspond l'observation. Une analyse en composantes principales sur les résiduelles de l'analyse de variance a été réalisée avec la procédure Princomp du progiciel SAS v.8.

2. Résultats et discussion

Les figures 1, 2, 3 et 4 montrent les résultats de l'analyse en composantes principales (CP) et le tableau 1 donne les coefficients de corrélation entre toutes les variables étudiées. Les quatre premières CP représentent 62 % de la variation totale (23 %, 18 %, 12 % et 8 %, respectivement). Le pourcentage de spermatozoïdes vivants, NAR, Nr, Nm et T sont les variables prédominantes définissant la première CP puisque elles sont distribuées loin de l'origine. Néanmoins seules Nm et T sont proches des axes. Les pourcentages de spermatozoïdes vivants, NAR et Nr vont également contribuer à la troisième CP puisque elles sont à la même distance des plans définis par CP1 et CP2 et par CP3 et CP2. Les variables liées à la présence de gouttelette cytoplasmique, distribuées loin de l'origine et près de la troisième CP, sont les variables qui définissaient le mieux cette CP. Les variables Vi et NAR ont des positions très proches sur le plan défini par la première et la seconde CP, ce qui

reflète leur forte corrélation (0,98). Ceci indique qu'elles mesurent pratiquement le même phénomène : l'intégrité des membranes. Ces deux variables et Nr sont séparées du groupe des variables définissant les anomalies des spermatozoïdes (Nm, T, H, Dp et Dd) de 180°, ce qui indique une corrélation négative entre les deux groupes de variables. La corrélation avec Nm de Vi et de NAR est modérée et négative (-0,38 et -0,48 respectivement). Conformément à notre critère, les anomalies du col-pièce intermédiaire du spermatozoïde supposent une séparation entre la tête et le flagelle des spermatozoïdes, une rupture de la partie moyenne du flagelle et/ou une pièce intermédiaire épaissie. Les deux premières causes pourraient affecter l'intégrité de la membrane plasmique conduisant à une diminution de Vi et NAR. Comme escompté, Nr est négativement corrélée à tous les types d'anomalies morphologiques (H, Nm, T, Dp et Dd), de façon forte avec T (-0,72) et modérée avec Nm (-0,45), ces types d'anomalies étaient plus fréquents que les autres, comme cela a également été observé par Kuzminsky (1996) et Finzi *et al.* (1995)

Toutes les variables mesurant les différents types d'anomalies morphologiques montrent de faibles corrélations entre elles, ce qui suggère des causes différentes, en particulier parce que ces anomalies se produisent en des lieux différents de l'appareil génital. Par exemple, H et Nm sont créées dans la région testiculaire (Axner *et al.*, 1999 chez le chat; Perez-Sanchez *et al.*, 1997 chez le lapin; Toyama *et al.*, 1996 chez le sanglier) alors que la morphogenèse de T et la migration de la gouttelette cytoplasmique se produisent dans l'épididyme (Axner *et al.*, 1999 chez le chat; Perez-Sanchez *et al.*, 1997 chez le lapin; Holt, 1982 chez le sanglier). Cependant, cette corrélation est positive, ce qui indique que le sperme présentant

un certain degré d'anomalie morphologique tend à montrer d'autres types d'anomalies. Panidis *et al.* (1988) et Rouso *et al.* (2002) ont également observé, chez l'homme, que les spermatozoïdes ayant une tête anormale présentaient de façon significative plus d'anomalies du col, du flagelle et de la gouttelette cytoplasmique. Bonet *et al.* (2000), chez les porcs, ont rapporté que les spermatozoïdes immatures, qui habituellement présentent des gouttelettes cytoplasmiques, un plus grand développement de la protubérance apicale de l'acrosome et une plus grande flexibilité de la tête, sont souvent plus fragiles que les spermatozoïdes matures.

Les variables mesurant la motilité des spermatozoïdes, le pH, le nombre et la concentration des spermatozoïdes dans l'éjaculat sont localisées dans une seconde CP. Ceci indique une variation qui n'est pas reliée à des variables définissant des anomalies morphologiques ni à l'intégrité des membranes des spermatozoïdes, car toutes les CP révèlent des combinaisons de caractéristiques qui ne sont pas en corrélation. Ainsi, les corrélations observées entre ceux deux groupes de variables sont toujours très faibles.

La corrélation entre les deux mesures de la motilité est modérée et positive (0,52) et confirme les résultats de Bencheikh (1995). La corrélation entre TSE et Cn est élevée (0,87), les points étant presque à la même position sur le plan défini par les deux premières CP. Cette corrélation est bien plus élevée que celle entre TSE et V (0,19), ce qui indique que dans cette variable synthétique les différences sont principalement dues à des différences dans Cn. Ce résultat a également été rapporté par Brun *et al.* (2002). TSE et Cn sont aussi positivement corrélées à Mm (0,39 et 0,47) et Mi (0,34 et 0,35), comme cela a déjà été rapporté par Battaglini *et al.* (1992), Bencheikh (1995) et Brun *et al.* (2002). La corrélation entre le pH et Mm, Mi, Cn et TSE est modérée et négative (-0,41, -0,48, -0,41 et -0,41, respectivement). La relation antagoniste entre ces caractéristiques a également été rapportée par Battaglini *et al.* (1992), Bencheikh (1995) et Brun *et al.* (2002). Ceci pourrait être expliqué par l'activité métabolique des spermatozoïdes qui libèrent de l'acide lactique, un acide provoquant une diminution du pH (Brun *et al.* 2002).

La variable V semble importante dans la définition de la 4^e CP. Cette variable n'est pas liée à la plupart des autres caractéristiques. Brun *et al.* (2002) n'ont pas trouvé de corrélations importantes entre V et toute autre caractéristique élémentaire.

Conclusion

Les quatre composantes principales (CP) représentent 62 % de la variation totale. Les caractéristiques de la qualité du sperme ont été réparties en des ensembles indépendants : variables liées à la morphologie et à l'intégrité de la membrane des spermatozoïdes ;

variables mesurant le pH, la motilité des spermatozoïdes et la concentration ; et le volume de l'éjaculat. Nos résultats dégagent trois groupes de variables avec des corrélations intragroupe de fortes à modérées, ce qui suggère qu'elles peuvent être utilisées pour mesurer le même phénomène : le pourcentage de spermatozoïdes vivants et le pourcentage de spermatozoïdes ayant une intégrité acrosomique ; la motilité d'ensemble et la motilité individuelle; le pourcentage de spermatozoïdes normaux et le pourcentage de spermatozoïdes présentant une anomalie morphologique de l'ensemble 'col-pièce intermédiaire' et du flagelle. Ainsi, la variable importante la plus facile à obtenir pourrait être utilisée afin d'améliorer l'efficacité de l'évaluation des caractéristiques du sperme dans des laboratoires ou dans des centres d'insémination artificielle.

Références

- AXNER E, LINDE-FORSBERG C AND EINARSSON S 1999. Morphology and motility of spermatozoa from different regions the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology*, ; 52(5): 767-78.
- BAMBA K. 1988. Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin-nigrosin stain. *Theriogenology* 29:1245-1251.
- BATTAGLINI M, CASTELLINI C AND LATTAIOLI P 1992. Variability of the main characteristic of rabbit semen. *J. Applied Rabbit Res.* 15: 439-446.
- BENCHEIKH N. 1995. Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. *Ann Zootech* 44, 263-279.
- BONET S, BRIZ M, PINART E, SANCHO S, GARCIA-GIL N AND BADIA E 2000. Morfología Espermática en porcí. Ed. Intitut d'Estudis Catalans, 1e éd., Barcelone.
- BRUN JM, THEAU-CLEMENT M AND BOLET G 2002 Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. *Anim. Res.* 51:433-442.
- FINZI A, MORERA P AND KUZMINSKY G 1995. Sperm abnormalities as possible indicators of rabbit chronic heat stress. *World Rabbit Sci.* 3(4): 157-161.
- HOLT W 1982. Epididymal origin of a coiled-tail sperm defect in a boar. *J. Reprod. Fert.*; 64(2): 485-489.
- KUZMINSKY G, FAUSTO AM AND MORERA P 1996. Morphological abnormalities of rabbit spermatozoa studied by scanning electron microscope and quantified by light microscope. *Reprod. Nutr. Dev.* 36: 565-575.
- PANIDIS D, VLASSIS G, VAYIONAS M, MATALLIOTAKIS I AND KALOGEROPOULOS A 1988. Coexistence of spermatozoa morphological abnormalities in the semen of potentially fertile men. *European J. Obst. Gyn. Reprod. Biol.* 29(4):281-286.
- PEREZ-SANCHEZ F, TABLADO L AND SOLER C 1997. Sperm morphological abnormalities appearing in the male rabbit reproductive trait. *Theriogenology*, 47: 893-901.
- ROUSSO D, KOURTIS A, MAVROMATIDIS G, GKOUTZIOULIS F MAKEDOS G AND PANIDIS D 2002. Pyriform head: a frequent but little-studied morphological abnormality of sperm. *Arch. Andrology*; 48(4): 267-272.
- ROCA J, MARTINEZ S, VAZQUEZ JM, LUCAS X, PARRILLA I AND MARTINEZ EA 2000. Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15°C. *Anim. Reprod. Sci.* 64 (2000) 103-112.
- TOYAMA Y AND ITOH Y 1996. Ultrastructural features and pathogenesis of decapitated spermatozoa in boar. *Andrologia*; 28 (2): 109-115.

Effet d'une infection intra-utérine avec des lipopolysaccharides bactériens (LPS) sur certains aspects de la fonction reproductive de la lapine

A. DAL BOSCO¹, G. BRECCHIA², R. CARDINALI¹, C. CASTELLINI¹, C. BOITI²

¹ Dip. Biologia Vegetale, Biotecnologie Agroambientali e Zootecniche, Borgo 20 Giugno, 74 - Perugia, Italie

² Dip. Scienze Biopatologiche Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Via S. Costanzo, 1 - Perugia, Italie

Résumé: L'objectif de cette expérimentation était de définir un protocole pour induire une inflammation subclinique de l'appareil génital des lapines et de déterminer le rôle du plasma séminal sur le transport des spermatozoïdes. Soixante heures après l'administration de 500 µg de lipopolysaccharides bactériens (LPS) de *E. coli*, les lapines étaient inséminées en inoculant près de la région cervicale, 0.2 ml d'un pool de semence (expérimentation 1) et 0.5 ml de semence diluée avec du dilueur TALP ou du plasma séminal (expérimentation 2). Douze heures plus tard les lapines étaient sacrifiées. Le nombre de spermatozoïdes remontés dans les différentes zones de l'appareil génital a été déterminé et des échantillons de l'utérus ont été soumis à un examen histologique. Le nombre de spermatozoïdes récupérés dans les cornes utérines est plus faible dans le groupe des lapines traitées avec LPS, tandis qu'il est nul dans les oviductes; le plasma séminal a donc favorisé le transport des spermatozoïdes, cependant leur nombre est plus faible que chez les lapines non traitées. L'examen histologique a démontré une inflammation semblable à une endométrite chez les lapines traitées avec LPS, et l'action immunoprotectrice du plasma séminal ne garantit le transport des spermatozoïdes.

Abstract. Effect of an intrauterine infection with bacterial lipopolysaccharids on some aspects of rabbit does reproduction. The aim of the trial was to define a protocol for obtaining sub-clinical inflammation in the genital tract of rabbit does and to assess the role of seminal plasma on spermatozoa transport. The does were inoculated 500 µg of bacterial lipopolysaccharids (LPS) of *E. Coli* close to the cervix region, 60 h before artificial insemination carried out by inoculating 0.2 ml of pooled semen (experiment 1) and 0.5 ml of sperm diluted in TALP or in seminal plasma (experiment 2); after 12 h, the does were sacrificed. The number of spermatozoa in the different genital tracts was counted and uterine tissue was examined by histological technique. The spermatozoa recovery was significantly lower in the uterine horn of LPS-treated does, and absent in the oviducts; the addition of seminal plasma helped the transport of spermatozoa, but their number was, in any case, lower than in non treated does. Histological examinations of LPS-does showed an endometritis-like inflammation. The immunoprotective action of seminal plasma is not strong enough to protect spermatozoa.

Introduction

Généralement les lapines sont inséminées pendant la lactation, la superposition de la lactation et de la gestation réduit la réceptivité sexuelle et la fertilité de même que la carrière reproductive. Les facteurs concourant au déterminisme d'une telle situation sont divers, et surtout liés à l'influence négative de la prolactine et aux conditions corporelles défavorables. Malgré l'élimination des principaux facteurs négatifs (par exemple avec l'insémination post-sevrage, Castellini *et al.*, 2003), nous observons encore environ 15 à 20% de cas d'infertilité. Parmi les éventuelles causes, il faut certainement mentionner le rôle essentiel des conditions sanitaires des lapines. En effet il faut souligner que dans les élevages intensifs, les pathologies de l'appareil reproducteur peuvent être très diffuses, celles-ci étant favorisées par les mauvaises conditions hygiéniques dont les animaux sont soumis durant les différentes procédures de l'insémination artificielle (IA).

Les lipopolysaccharides (LPS), des macromolécules constituant la paroi des bactéries Gram-négatif, sont de puissants stimulateurs de la synthèse des prostaglandines et sont largement employés pour provoquer l'inflammation de différents organes. L'objectif de cette étude est de mettre au point un modèle d'inflammation sub-clinique de l'appareil

reproducteur de la lapine (Expérience 1) et d'évaluer le rôle du plasma séminal sur la remontée des spermatozoïdes (Expérience 2).

1. Matériel et méthodes

1.1. Expérience 1

Cette expérience a été réalisée dans la section expérimentale du Département de Biologie Végétale et Biotecnologies Agro-Ambiant et Zootechniques sur 24 lapines de race Néo-Zélandaises blanches (sélectionnées par ANCI-AIA; poids vif 4 kg) non allaitantes: les animaux ont été répartis en deux groupes et soumis à l'administration intracervicale de: Soit 2 ml de sérum physiologique (Lot Témoin)

Soit 2 ml de sérum physiologique +500 µg de LPS (lot LPS)

Les endotoxines utilisées ont été produites par *Escherichia coli* (0127:B8, Sigma-Aldrich).

1, 2, 4, 8, 24, 48 et 72 heures après l'administration intra-utérine, des prises de sang (2 ml) ont été réalisées dans la veine marginale de l'oreille et le nombre total de leucocytes a été déterminé au moyen d'un hématimètre de Thoma .

Simultanément, la température rectale a été enregistrée. Soixante heures après le début du traitement, les lapines ont été inséminées en déposant près du cervix 0.2 ml de pool de semence diluée avec

du dilueur TALP (1:10) contenant environ 10×10^6 spermatozoïdes ayant une motilité progressive de 75%. L'ovulation a été induite avec l'injection de 10 µg de GnRH synthétique (Réceptal, Hoechst-Roussel Vet, Milan, Italy); 12 heures plus tard les lapines ont été sacrifiées en injectant un surdosage de Tanax (Hoechst, Frankfurt) par voie intraveineuse. Ensuite l'appareil génital a été prélevé et sectionné en séparant le cervix, les cornes utérines et les oviductes (Morton et Glover, 1974). Chaque côté du tractus a été perfusé avec 5 ml de sérum physiologique. La concentration des spermatozoïdes a été estimée avec un hématimètre de Thoma. Les ovaires ont été immédiatement séparés et les follicules pré ovulatoires, matures et hémorragiques ont été dénombrés. Des examens histologiques ont été effectués sur les échantillons utérins. Les échantillons ont été fixés dans le tampon de Bouin, déshydratés dans une série croissante d'alcool et inclus dans de la paraffine. Des sections de 6 µm ont été successivement colorées avec de l'hématoxiline-éosine et observées au microscope optique.

1.2. Expérience 2

Tenant compte des résultats de l'expérience 1, 12 autres lapines ont été traitées avec un dosage de 500 µg de LPS et autres 12 avec 2 ml de sérum physiologique (Témoin). Soixante heures après le début du traitement, les lapines ont été distribuées en deux lots, elles ont été inséminées avec:

- 10×10^6 de spermatozoïdes centrifugés, dépourvus du

plasma séminal et dilués dans 0.5 ml de dilueur TALP (lot TALP) ou:

- 10×10^6 de spermatozoïdes dilués dans 0.5 ml de plasma séminal (lot PS).

Le nombre total de spermatozoïdes dans les différentes fractions du tractus génital a été dénombré, comme décrit précédemment.

L'analyse statistique des données a été réalisée en utilisant un modèle linéaire qui évalue l'effet fixe de l'administration de LPS (Expérience 1) et de la présence du plasma séminal et les interactions (Expérience 2).

2. Résultats

2.1. Expérience 1 (définition d'un modèle d'inflammation sub-clinique).

Le traitement intra-utérin avec du LPS n'a modifié de façon significative ni la température corporelle, ni le nombre total de leucocytes (Figure 1). Même au niveau des ovaires il n'y a pas de modifications particulières induites par ce traitement (Tableau 1).

La remontée des spermatozoïdes est significativement freinée par la lésion inflammatoire tant au niveau des cornes utérines ($P < 0.01$) que des oviductes ($P < 0.05$). La lésion inflammatoire est confirmée par l'examen histologique (Figure 2). En effet, le traitement avec du LPS a induit une augmentation du volume et du nombre des glandes utérines. Une hyperémie et une infiltration leucocytaire sont également mises en évidence.

Figure 1 – Courbe de la température corporelle (a) et de la concentration des leucocytes (b) (n=24)

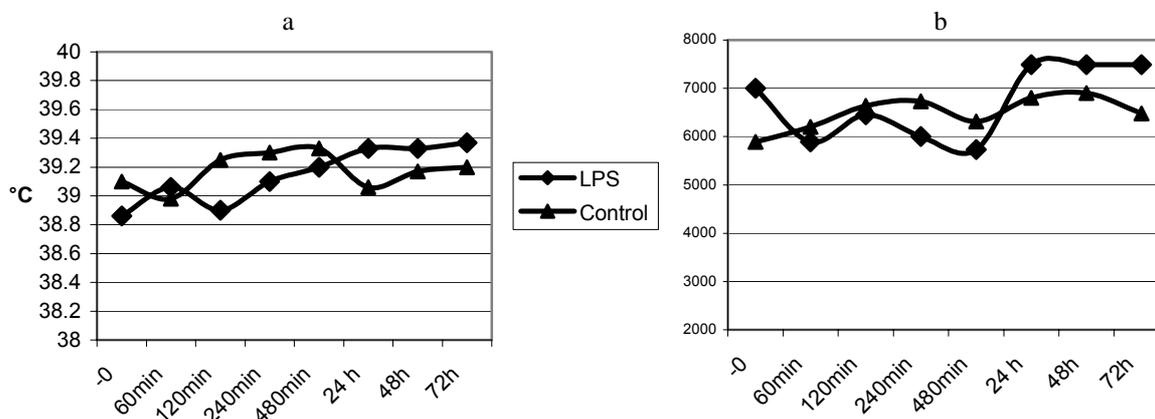


Tableau 1. Spermatozoïdes récupérés dans l'appareil génital et aspect des ovaires 12 h après l'IA (n=24)

	Témoin	LPS	DSE
Spermatozoïdes récupérés (%)			
Corne utérine	9.33 ^B	0.43 ^A	0.45
Oviducte	1.41 ^b	0.00 ^a	0.05
Aspect des ovaires			
Nombre de follicules préovulatoires	n.	5.4	5.1
Nombre de follicules ovulatoires	“	4.5	5.2
Nombre de follicules hémorragiques	“	0.2	0.4

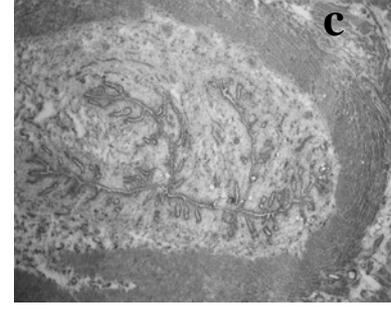
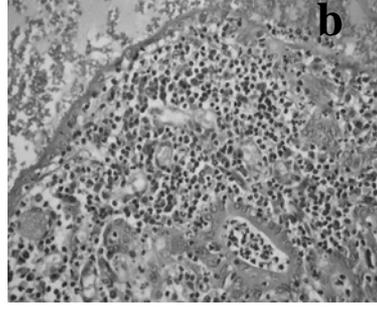
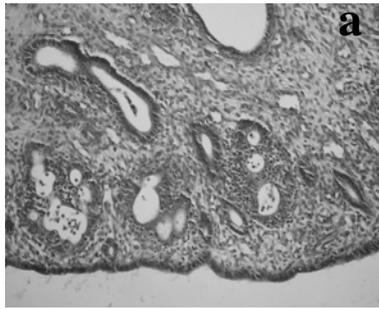
A..B: $P < 0.01$; a,b: $P \leq 0.05$

Figure 2 – Examen histologique de l’utérus

a: Lapine traitée avec LPS(20x);

b: Lapine avec endométrite spontanée(40x);

c: Lapine saine (20x).



2.2. Expérience 2 (évaluation du rôle du plasma séminal sur la remontée des spermatozoïdes)

Un effet positif du plasma séminal sur l’aptitude au déplacement des spermatozoïdes est mis en évidence. En effet, surtout chez les femelles traitées avec du LPS, le plasma séminal a déterminé une augmentation significative de la remontée des spermatozoïdes au niveau des cornes utérines. Cet effet n’est pas observé au niveau des oviductes, là où chez les même lapines les spermatozoïdes ne sont pas arrivés (Tableau 2).

3. Discussion

L’absence de symptômes évidents chez les lapines (fièvre, anorexie, prostration) démontre que le dosage employé et surtout la voie d’inoculation peuvent être en accord avec les objectifs préconisés. En effet, dans cette étude l’objectif était de créer un modèle d’étude comparable à celui des lapines qui ne présentent pas d’anomalies particulières visibles que l’éleveur peut relever, mais qui présentent une très faible fertilité. Au contraire, au cours de nos recherches précédentes (Castellini *et al.*, 2005), une administration intrapéritonéale de 100 µg/kg PV de LPS, a déterminé une augmentation de la sévérité de l’inflammation chez les femelles, surtout dans les premières 24-48 heures avec une augmentation significative de la température rectale tandis que la concentration des leucocytes a présenté une courbe biphasique. De même Yamashiro *et al.* (1993), à travers l’inoculation intra-veineuse de 5 µg/kg PV de LPS à des lapines, ont observé une brusque augmentation de la température corporelle

(d’environ 1°C/heure pendant 3 heures) avec une courbe leucocytaire identique à celle observée dans la précédente expérimentation (Castellini *et al.*, 2005).

Au niveau de l’utérus, même si les lésions étaient de faible intensité, par rapport à celles observées chez les lapines présentant une endométrite spontanée, le traitement a de même fortement influencé la remontée des spermatozoïdes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kaushik *et al.* (2004), qui ont observé chez des femelles de souris gestantes traitées avec du LPS une baisse du pourcentage d’implantation embryonnaire, due à l’infiltration massive leucocytaire, à la dégénération des glandes épithéliales et à l’hyperplasie utérine. Chez les lapines témoin, la remontée des spermatozoïdes a présenté des valeurs semblables à celles trouvées dans la littérature (Morton et Glover (1974). Chez les lapines, les lésions inflammatoires attirent les prostaglandines, probablement préviennent la régulière luthéolyse des corps jaunes, ce qui favorise le maintien d’une progestéronémie élevée (> 1 ng/ml) (Boiti *et al.*, 1999) et la diminution de la fertilité (Facchin *et al.*, 1999). La progestéronémie, observée les premiers jours après la mise-bas, pourrait être due à l’altération de la luthéolyse ou à des ovulations spontanées anormales (Theau-Clément *et al.*, 2000); chez les lapines non allaitantes. Les données bibliographiques (Facchin *et al.*, 1998) indiquent comme plus probable la première cause. Dans ce contexte il faut souligner le rôle de l’insémination artificielle et en particulier

Tableau 2: Effet du plasma séminal sur la remontée des spermatozoïdes (n=24)

	Témoin		LPS		SDE
	TALP	PS	TALP	PS	
Spermatozoïdes récupérés (%)					
Corne utérine	4.06 ^{ab}	6.59 ^b	2.62 ^a	5.93 ^b	1.58
Oviducte	1.32 ^b	1.71 ^b	0 ^a	0 ^a	0.05
Aspect des ovaires					
Nombre de follicules préovulatoires	5.2	5.3	5.0	5.2	0.5
Nombre de follicules ovulatoires	4.0	4.9	4.1	4.6	0.9
Nombre de follicules hémorragiques	0.3	0.1	0.5	0.4	0.1

a.b: P ≤ 0.05

celui du plasma séminal. En effet, une fois la semence inséminée dans le tractus génital de la femelle, quelques composants du liquide séminal (prostaglandine PGE₂) peuvent moduler la réponse immunitaire (Kelly, 1997). Plusieurs auteurs, (Mackler *et al.*, 2003; Katsuki *et al.*, 1997), constatent que les LPS augmentent l'activation de macrophages et la production de prostaglandines qui ont à leur tour provoquent les contractions utérines. Selon Rozeboom *et al.* (2000), les modifications de l'environnement utérin et la réabsorption des spermatozoïdes sont les causes principales de l'échec du transport de gamètes. Les PGE contrôlent les phénomènes immunodépresseurs à travers une répartition différente des cytokines (augmentation de l'IL-10, inhibition de la synthèse et réduction des IL-12, facteur stimulant des Natural Killer). Quand le rapport IL-10/IL-12 augmente, la concentration des PGE se réduit. Dans cette étude, l'inoculation intra-utérine a pu provoquer une inflammation sub-clinique sans provoquer de modifications substantielles des paramètres physiologiques de la lapine. Seul l'examen histologique a démontré les altérations inflammatoires, toutefois modérées, semblables à celles décrites chez les lapines avec endométrite, causées par des fécondations répétées, quand la réponse immunitaire de l'appareil reproducteur de la femelle est diminuée grâce à sa tolérance pour les spermatozoïdes considérés des antigènes. Si ce phénomène d'une part favorise les fonctions des spermatozoïdes, il crée d'autre part, les conditions nécessaires pour la diffusion de certaines maladies vénériennes. De même, au cours de l'infection, l'action immunodépresseive du plasma séminal devient insuffisante pour la protection des spermatozoïdes (Kelly, 1997). En cas de lésions inflammatoires, il est possible que suite à l'insémination artificielle, il y ait une réabsorption excessive des spermatozoïdes par les leucocytes d'origine utérine (Rozeboom *et al.*, 2000) puisque le plasma est fortement dilué.

Conclusions

Des recherches ultérieures seront nécessaires pour vérifier l'effet de l'inflammation locale sur le fonctionnement de l'appareil génital de la lapine et sur les spermatozoïdes éjaculés. L'infection sub-clinique (latente) pourrait, en association avec d'autres facteurs, réduire la fertilité dans les élevages. Bien que modestes, les altérations observées sont probablement suffisantes pour empêcher ou freiner la remontée des spermatozoïdes sur le lieu de fécondation.

Remerciements:

Cette recherche a été financée par le MURST 40%.

Références

- BOITI, C., CANALI, C., BRECCHIA, G., ZANON, F., FACCHIN, E. 1999. Effects of induced endometritis on the life-span of corpora lutea in pseudopregnant rabbits and incidence of spontaneous uterine infections related to fertility of breeding does. *Theriogenology*. 52: 1123-1132.
- CASTELLINI C., DAL BOSCO A., MUGNAI C. 2003. Comparison of different reproductive protocols for rabbit doe: effect of litter size and re-mating interval. *Livest. Prod. Sci.*, 83: 131-139.
- CASTELLINI C., CARDINALI R., BRECCHIA G., DAL BOSCO A. 2005. Effect of LPS-induced inflammatory state on some aspects of reproductive function of rabbit does. *Proc. XVI ASPA Congress*, Torino, 532-534.
- FACCHIN E., CASTELLINI C., ZANON F., CANALI C., BOITI C. 1998. Infertilità della coniglia: effetto del trattamento associato alfaprostol + PMSG sulle performances riproduttive delle coniglie "ritorno". *Rivista di Zootecnia e Veterinaria* 26: 3-7.
- FACCHIN E., ZANON F., CASTELLINI C., BOITI C., 1999. Hypofertilità chez la lapine; étude sur les causes possibles et les traitements. *8^{èmes} J. Rech. Cun.* 159-161.
- KATSUKI, Y., KAGA, N., KAKINUMA, C., TAKAGAKI, K., KAJIKAWA, S., SHIBUTANI, Y. 1997. Ability of intrauterine bacterial lipopolysaccharide to cause in situ uterine contractions in pregnant rabbits. *Acta Obs. Gyn. Scan.* 76: 26-32.
- KAUSHIK, D., CHATURVEDI, M., JAISWAL, K.A 2004. A "minimum dose" of lipopolysaccharide required for implantation failure: assessment of its effect on the maternal reproductive organs and interleukin-1 expression in the mouse. *Reproduction*. 1470-1626.
- MACKLER, A.M., DUCSAY, T.C., DUCSAY, C.A., YELLON, S.M. 2003. Effects of endotoxin and macrophage-related cytokines on the contractile activity of the gravide murine uterus. *Biol. Repr.* 69: 1165-1169.
- MORTON D.B., GLOVER T.D., 1974 Sperm transport in the female rabbit: the effect of inseminate volume and sperm density. *J. Reprod. Fertil.*, 38: 139-146.
- YAMASHIRO, O., MORIMOTO A., SAKATA, Y., WATANABE, T., MURAKANI, N., 1993. Febrile and metabolic tolerance to endotoxin and human recombinant interleukin-1 in rabbits. *Am. J. Physiol.* 33: R1180-1185.
- ROZEBOOM, K.J., TROEDSSON, M.H., HODSON, H.H., SHURSON, G.C., CRABO, B.G. 2000. The importance of seminal plasma on the fertility of subsequent artificial inseminations in swine. *J Anim Sci.* 78:443-448.
- THEAU-CLEMENT M., BOITI C., MERCIER P., FALIERES J., 2000. Description of the ovarian status and fertilising ability of primiparous rabbit does at different lactation stages. *7th World Rabbit Congress*, A, 259-266.

Une réduction du rythme de reproduction et de la durée de la lactation améliore l'état corporel et la fertilité des lapines

A. FEUGIER^{1,2}, L. FORTUN-LAMOTHE¹, E. LAMOTHE², H. JUIN²

¹ INRA, Station de Recherches Cunicoles, BP 52627, 31 326 Castanet-Tolosan, France

² INRA, Elevage Alternatif et Santé des Monogastriques, Domaine du Magneraud 17700 Surgères, France

Résumé – Cette étude a pour objectif d'évaluer l'influence du rythme de reproduction (insémination 11 j ou 25 j après la parturition) et de l'âge des lapereaux au sevrage (23 ou 35 j) et leur interaction sur l'évolution de l'état corporel et les performances de reproduction des lapines. 250 lapines primipares ont été réparties dans quatre groupes expérimentaux, suivant un schéma factoriel 2x2 : I11S23, I11S35, I25S23 et I25S35. Des femelles représentatives de chacun des lots ont été sacrifiées à différents stades pour évaluer leurs performances de reproduction et/ou leur état corporel. Un ralentissement (extensification) du rythme de reproduction augmente la fertilité (+13,7% ; P<0,05) et les réserves corporelles adipeuses des femelles à la seconde parturition (+27,9% ; P<0,05). Un sevrage plus précoce n'affecte pas les performances de reproduction des femelles, mais limite de façon importante la mobilisation des réserves lipidiques entre la première et la seconde parturition (-40,5% vs -56,5% dans les groupes sevrés à 23 et 35 jours respectivement). Les effets positifs d'une réduction du rythme de reproduction et de la durée de la lactation sur l'état corporel des femelles s'additionnent.

Reduction of reproductive rhythm and lactation length improve body condition and fertility of rabbit does– This research aimed to evaluate the respective influence of reproductive rhythm (artificial insemination at the 11th or 25th day after kindling) and age at weaning (at 23 or 35 days of lactation) and interaction, on evolution of body condition and reproductive performance of rabbit does. 250 primiparous does were assigned to one of four treatments in a 2x2 factorial design : I11S23, I11S35, I25S23 and I25S35. Does representative of each group were slaughtered at successive stages to evaluate reproductive performance and/or body condition. A reduction (extensification) of reproductive rhythm increases the fertility of females (+13.7% ; P<0.05) and the adipose stores at 2nd parturition (+27.9% ; P<0.05). Early weaning has no effect on reproductive performance of the does, but reduce significantly adipose mobilisation from 1st to 2nd parturition (-40.5% vs -56.5% in groups weaned at 23 and 35 days respectively ; P<0.001). The effects of a reduction of reproductive rhythm and age at weaning on corporal condition of the does add together.

Introduction

Dans les élevages cunicoles actuels, les lapines sont inséminées alors qu'elles allaitent la portée précédente (insémination le plus souvent 11 jours après la mise bas). En conséquence, elles superposent gestation et lactation pendant plus de la moitié du cycle de reproduction ce qui entraîne des besoins nutritionnels difficiles à satisfaire et une mobilisation importante des réserves corporelles. En effet, les besoins nutritionnels associés à la production laitière et à la croissance fœtale s'additionnent (Parigi-Bini *et al.* 1992). Cette situation peut expliquer en partie le fort taux de renouvellement des femelles reproductrices (>100% par an) (Lebas, 2005). Des études précédentes ont démontré qu'une augmentation de la teneur en énergie de l'aliment n'est pas suffisante pour annuler le déficit énergétique et éviter la mobilisation corporelle au cours de la lactation. C'est pourquoi il paraît nécessaire de développer des stratégies d'élevage permettant d'améliorer la maîtrise de la reproduction et la gestion des réserves corporelles des lapines. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt d'une modification de la conduite de la reproduction chez la lapine portant sur le rythme de reproduction et la durée de la lactation.

1. Matériel et méthodes

1.1. Animaux et contrôles

250 lapines primipares (INRA 0067) ont été réparties à leur première parturition dans 4 groupes expérimentaux (I11S35 = témoin, I11S23, I25S35, I25S23 = conduite alternative). Deux rythmes de reproduction définis par l'intervalle mise bas/insémination 11 jours vs 25 jours (I11 vs I25) ont été combinés à deux âges au sevrage à 23 j ou à 35 j (S23 vs S35) dans un schéma factoriel 2x2. Les portées ont été égalisées à 9 lapereaux par adoption ou élimination. Les femelles ont été nourries avec un aliment commercial formulé pour répondre aux besoins nutritionnels des lapines reproductrices (De Blas et Mateos, 1998). Aucun antibiotique n'a été administré pendant l'expérience. Aucune hormone ou biostimulation n'a été utilisée pour induire la réceptivité des lapines.

L'ingestion alimentaire, le poids des femelles, la taille et le poids de la portée ont été contrôlés les jours de parturitions (1^{ère} et 2^{nde}), de l'insémination artificielle (IA), des sevrages et 12 jours après l'insémination. La réceptivité sexuelle a été déterminée en fonction de la couleur et la turgescence de la vulve. La fertilité a été définie comme le pourcentage de mise bas en fonction du nombre d'insémination.

1.2. Abattages

Des femelles représentatives de chacun des groupes expérimentaux ont été sacrifiées tout au long du cycle de reproduction (1ère mise bas, insémination, 12 jours après fécondation, 2nde mise bas) pour évaluer leur état corporel (poids des différents organes et des tissus musculaires et adipeux) et leurs performances de reproduction (intensité d'ovulation, taux de gestation, croissance et mortalité fœtale). Le poids vif vide a été défini comme la différence entre le poids vif et le poids des contenus digestif, utérin et de la vessie.

1.3. Analyses statistiques

Les variables ont été analysées à l'aide du logiciel SAS (2002). Les procédures GLM et Catmod ont été utilisées pour analyser les variables quantitatives (poids, nombre de corps jaunes, nombre de lapereaux) et qualitatives (mortalité embryonnaire et fœtale, réceptivité et fertilité), respectivement. Pour les lapines inséminées 11 jours après la mise bas, les lots I11S23 et I11S35 ne sont pas différenciés avant le 12^{ième} jour de gestation. Par conséquent pour les mesures effectuées le jour de l'insémination et 12 jours après l'insémination le modèle statistique comprend un effet lot avec 3 niveaux. Des analyses complémentaires ont été réalisées pour tester l'effet du rythme de reproduction (Rr ; tableau 1). Pour les mesures réalisées à la deuxième mise bas, le modèle statistique comprenait les effets du rythme de reproduction (Rr) et de l'âge au sevrage (S) et leur interaction comme effets fixés (tableaux 2 et 3).

Aucune interaction significative entre le rythme de reproduction et l'âge au sevrage n'a été enregistrée sur les paramètres étudiés.

2. Résultats

2.1- Effet du rythme de reproduction et de l'âge au sevrage sur l'état corporel

2.1.1. De l'IA au 12^{ième} jour de gestation

Le poids vif, le poids vide et le poids de la carcasse des lapines à l'insémination ne sont pas affectés par le rythme de reproduction. Le poids des réserves adipeuses est inférieur à l'insémination lorsque celle-ci est réalisée plus tardivement après la mise bas (79,4g vs 121,5g dans les groupes I25 et I11 respectivement ; $P < 0,001$). Cependant, 12 jours après l'insémination, le poids de la carcasse est supérieur de 8,1% chez les femelles inséminées 25 jours au lieu de 11 jours après la mise bas (Tableau 1). On note également que seul le groupe des femelles inséminées après un sevrage précoce (I25S23) augmente ses réserves corporelles adipeuses durant les 12 jours suivant l'insémination (+32,0% ; $P = 0,016$). En conséquence, les femelles du groupe I25S23 possèdent les réserves adipeuses les plus importantes 12 jours après l'insémination, (+35,5% par rapport aux autres lots, $P = 0,001$). D'autre part, les femelles I25S35 ont un poids vif et un poids vif vide plus important que les autres lapines 12 jours après

l'insémination ($P < 0,01$).

2.1.2. De la 1^{ière} à la 2^{nde} parturition

Les résultats présentés ici ne concernent que les femelles qui ont été fécondées suite à l'insémination réalisée après la première mise bas (Tableau 2).

Globalement, une perte importante des réserves adipeuses est observée entre la 1^{ière} et la 2^{nde} parturition dans tous les groupes expérimentaux (-46,3%, -63,8%, -37,6% et -51,0% dans les groupes I11S23, I11S35, I25S23 et I25S35 ; $P < 0,001$). Les femelles inséminées 25 jours après la mise bas ont des réserves adipeuses, un poids vif, un poids vif vide et un poids de carcasse supérieurs au moment de la 2^{nde} mise bas comparées aux femelles inséminées 11 jours après la parturition (+27,9%, $P < 0,05$; +3,7%, $P < 0,05$; +4,3%, $P < 0,005$; +4,5%, $P < 0,001$; Tableau 2).

Lorsque les lapereaux sont sevrés précocement (à 23 jours), les réserves adipeuses des femelles à la deuxième parturition sont supérieures de 36,7% par rapport à celles dont la portée est sevrée à 35 jours.

2.2- Effet du rythme de reproduction et de l'âge au sevrage sur les performances zootechniques et les performances de reproduction

Une réduction du rythme de reproduction des lapines primipares augmente significativement la réceptivité sexuelle (67,7% vs 93,0% dans les lots I11 et I25 respectivement ; $P < 0,001$), et la fertilité des femelles (+13,7% ; $P < 0,05$; Tableau 3).

Une augmentation de la viabilité fœtale a également été observée 12 jours après l'insémination chez les femelles inséminées plus tardivement après la parturition (Tableau 1). Mais cet effet est trop faible pour affecter significativement la taille de portée à la 2^{nde} mise bas. Le nombre d'ovules pondus et le poids de la portée à la naissance ne sont pas influencés par le rythme de reproduction. Les performances de reproduction ne sont pas affectées par l'âge au sevrage des lapereaux.

3. Discussion

3.1- Effet du rythme de reproduction et de l'âge au sevrage sur l'état corporel

La diminution progressive du poids des tissus adipeux du 11^{ième} jour au 25^{ième} jour de lactation, par rapport au jour de la parturition, confirme l'importance de la mobilisation des réserves lipidiques au cours de la lactation comme il a été démontré précédemment (Parigi-Bini *et al.*, 1990 ; Pascual *et al.*, 2002). Dans cette expérience le sevrage précoce avait pour objectif de réduire la durée de la lactation et les besoins nutritionnels des lapines nécessaire à la production laitière, afin de limiter la mobilisation corporelle des femelles. Nos résultats montrent que l'âge au sevrage est fortement impliqué dans l'évolution de l'état corporel puisque les femelles dont la portée est sevrée à 23 jours ont des réserves adipeuses nettement plus importantes à la 2^{ième} parturition que celles dont les lapereaux sont sevrés à 35 jours. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Xiccato *et al* (2001) qui

Tableau 1 : Composition corporelle et performances de reproduction des lapines à l'IA et au 12^{ème} jour de gestation

Rythme de reproduction	I 11		I 25		ETM	Pr>F	
	S23 and S35*		S23	S35		Lot	Rr**
Age au sevrage	I11S23/ I11S35*		I25S23	I25S35			
Lots expérimentaux	I11S23/ I11S35*		I25S23	I25S35	ETM	Lot	Rr**
<i>Le jour de l'IA :</i>							
Nombre de lapines	12		12	12			
Poids vif (g)	4337,1		4116,3	4270,4	265,7	0,129	0,134
Poids vif vide (g)	3892,1		3855,6	3819,8	245,2	0,772	0,537
Carcasse (g)	2401,8		2345,8	2400,0	149,7	0,580	0,585
Tissus adipeux (g)	121,5 ^a		86,8 ^b	72,1 ^b	32,2	<0,001	<0,001
Nombre de lapines	96		71	71			
Réceptivité sexuelle (%)	67,7 ^b		95,8 ^a	90,1 ^a		<0,001	<0,001
<i>12 jours après fécondation :</i>							
Nombre de lapines	20		20	20			
Poids vif (g)	4340,3 ^{ab}		4225,0 ^b	4551,1 ^a	307,7	0,005	0,573
Poids vif vide (g)	3830,8 ^b		3859,8 ^b	4115,7 ^a	279,5	0,004	0,045
Carcasse (g)	2324,1 ^b		2561,9 ^a	2495,6 ^a	159,9	<0,001	<0,001
Tissus adipeux (g)	85,4 ^b		114,6 ^a	83,8 ^b	30,7	0,003	0,107
Nb de corps jaunes	16,4		16,4	17,5	1,9	0,123	0,301
Nb fœtus vivants	13,3		13,7	14,6	2,4	0,243	0,228
Nb fœtus morts	1,9 ^a		1,3 ^{ab}	0,9 ^b	1,2	0,044	0,026
Mortalité embryonnaire(%)	7,3		8,5	9,4		0,913	0,724
Mortalité fœtale (%)	12,5 ^a		8,7 ^{ab}	5,5 ^b		0,022	0,015
Contenu utérin (g)	24,2		23,5	23,1	5,7	0,826	0,633

* les lots I11S23 et I11S35 sont similaires jusqu'au 12^{ème} jour de gestation inclus , **Rr : Rythme de reproduction ; a, b, c : les moyennes affectées de la même lettre ne diffèrent pas au seuil P=0,05 ; ETM : Ecart Type Moyen.

Tableau 2 : Composition corporelle des lapines à la 1^{ère} et 2^{nde} parturition

Rythme de reproduction	1 ^{ère} Parturition		2 ^{nde} Parturition				Pr>F	
			I 11		I 25			
			S23	S35	S23	S35	ETM	Rr* S**
Age au sevrage								
Lots expérimentaux	I11S23 I11S35		I25S23	I25S35	ETM			
Nombre de lapines	12		16	20	32	27		
Poids vif (g)	3984,4		3918,6 ^b	3859,3 ^b	4093,0 ^a	3966,3 ^{ab}	276,0	0,011 0,092
Poids vif vide (g)	3644,7		3550,6 ^{ab}	3463,6 ^b	3724,3 ^a	3580,5 ^{ab}	244,3	0,003 0,017
Carcasse (g)	2303,5		2249,7 ^b	2233,9 ^b	2406,4 ^a	2303,0 ^{ab}	152,4	<0,001 0,060
Tissus adipeux (g)	148,8		79,9 ^a	53,9 ^b	92,9 ^a	72,9 ^{ab}	28,3	0,014 <0,001

*Rr : Rythme de reproduction ; **S : âge au sevrage ; a, b, c : les moyennes affectées de la même lettre ne diffèrent pas au seuil P=0,05 à la 2^{nde} parturition ; ETM : Ecart Type Moyen

Tableau 3 : Performances de reproduction des lapines à la 2^{nde} parturition

	Groupes expérimentaux				ETM	Pr > f	
	I11 S23	I11 S35	I25 S23	I25 S35		Rr*	S**
Nombre de lapines	16	20	32	27			
Fertilité (%)	75,0 ^{ab}	67,8 ^b	88,1 ^a	81,4 ^{ab}		<0,05	NS
Nombre de corps jaunes	16,3	16,8	16,2	17,4	2,2	NS	NS
Nombre de lapereaux vivants	13,1	12,5	12,7	12,9	2,4	NS	NS
Poids de la portée (g)	735,8	721,4	756,8	749,6	138,2	NS	NS

*Rr : Rythme de reproduction ; **S : âge au sevrage ; ETM : Ecart Type Moyen ; a, b, c : les moyennes affectées de la même lettre ne diffèrent pas au seuil P=0,05 à la 2^{nde} parturition.

constatent une diminution du déficit énergétique des femelles lorsque la durée de la lactation est réduite.

Le rythme de reproduction est également impliqué dans l'évolution de l'état corporel des femelles. En effet, lorsque le rythme de reproduction diminue, les réserves corporelles adipeuses et protéiques sont supérieures à la 2nde mise bas. De même, Parigi-Bini *et al.* (1996) observent un déficit énergétique plus important à la 2^{ème} parturition chez les lapines inséminées 12 jours après la 1^{ère} mise bas par rapport à celles inséminées 28 jours après la 1^{ère} mise bas. Toutefois les lapines primipares ne sont pas capables de restaurer leurs réserves adipeuses initiales quelque soit le rythme de reproduction utilisé.

Nos résultats suggèrent que les effets de l'âge au sevrage et du rythme de reproduction sur l'état corporel s'additionnent. Les effets négatifs d'une lactation longue sur la mobilisation des réserves corporelles des femelles sont plus importants lorsque les lapines sont été inséminées plus tôt après la mise bas. En effet, la combinaison du rythme de reproduction et de l'âge au sevrage détermine la durée de la période de tarissement pendant laquelle les femelles n'allaitent pas et peuvent restaurer les réserves corporelles qu'elles ont mobilisées pendant la lactation. Dans notre expérience, seules les femelles (I25S23) inséminées après un sevrage précoce (période de tarissement la plus longue) reconstituent partiellement leurs réserves adipeuses au début de la gestation.

3.2- Effet du rythme de reproduction et de l'âge au sevrage sur les performances de reproduction

La réceptivité et la fertilité augmentent lorsque les lapines sont inséminées plus tardivement après la mise bas. Ces résultats confirment le retour progressif de l'aptitude à la reproduction des lapines pendant la lactation (Theau-Clément *et al.*, 2000, Castellini *et al.*, 2003 ; Theau-Clément et Fortun-Lamothe, 2005). Le déficit énergétique associé à la production laitière explique en partie l'influence négative de la lactation sur les performances de reproduction des lapines (Fortun-Lamothe et Prunier, 1999). Cependant, des réserves corporelles plus élevées au moment de l'insémination ne sont pas la garantie absolue d'une meilleure fertilité des lapines. En effet, notre étude révèle que les femelles qui ont été inséminées plus tard pendant la lactation (25j post-partum) sont plus fertiles que les femelles inséminées plus précocement (11j post-partum) alors que leurs réserves adipeuses le jour de l'insémination sont beaucoup plus faibles. D'autres facteurs (hormones) associés à la lactation sont impliqués dans l'effet négatif de la lactation sur la fertilité. Dans cette étude, la fertilité des femelles n'est pas influencée par la durée de la lactation.

Conclusion

Les résultats de cette étude montrent qu'une limitation de la sollicitation nutritionnelle des lapines en diminuant la durée de la lactation ou le temps de

superposition entre lactation et gestation, réduit la mobilisation corporelle des lapines primipares. Les effets de ces 2 stratégies sur l'état corporel s'additionnent. Une réduction du rythme de reproduction augmente la fertilité des femelles malgré des réserves adipeuses inférieures au moment de l'insémination. A l'inverse l'âge au sevrage ne semble pas affecter les performances de reproduction. Ces résultats méritent d'être confirmés chez des lapines multipares et d'être approfondis en étudiant l'effet du rythme de reproduction et de l'âge au sevrage sur la longévité des lapines.

Remerciements

Cette étude a été financée par l'INRA et la région Poitou Charentes.

Références

- CASTELLINI C., DAL BOSCO A., MUGNAI C., 2003. Comparison of different reproduction protocols for rabbit does : effect of litter size and mating interval. *Livest. Prod. Sci.* 83, 131-139.
- DE BLAS J.C., MATEOS G.G., 1998. Feed formulation, in : De Blas J.C. and Wiseman J (Eds), *The Nutrition of the rabbit*, CABI publishing, CABInt., Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK, 241-253.
- FORTUN-LAMOTHE L., PRUNIER A., 1999. Effects of lactation, energetic deficit and remating interval on reproductive performance of primiparous rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.* 55, 289-298.
- LEBAS F., 2005. Productivité et rentabilité des élevages cynicoles professionnels en 2003. *Cuniculture Magazine*, 32, 14-17.
- PARIGI-BINI R., XICCATO G., CINETTO M., 1990. Energy and protein retention and partition in rabbit does during first pregnancy. *Cuni-sci.* 6, 19-29.
- PARIGI-BINI R., XICCATO G., CINETTO M., DALLE-ZOTTE A., 1992. Energy and protein utilization and partition in rabbit does concurrently pregnant and lactating. *Anim. Prod.* 55, 153-162.
- PARIGI-BINI R., XICCATO G., DALLE-ZOTTE A., CARAZZOLO A., CASTELLINI C., STRADAILOLO G., 1996. Effect of remating interval and diet on the performance and energy balance of rabbit does. *Proc 6th World Rabbit Congress*, Toulouse, France, 253-258.
- PASCUAL J.J., MOTTA W., CERVERA C., QUEVEDO F., BLAS E., FERNANDEZ-CARMONA J., 2002. Effect of dietary energy source on the performance and perirenal fat thickness evolution of primiparous rabbit does. *Anim. Sci.* 75, 267-273.
- Statistical Analysis System, 1999. SAS User's Guide, version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC.
- THEAU-CLEMENT M., BOITI, MERCIER, FALIERES 2000. Description of the ovarian status and fertilising ability of primiparous rabbit does at different lactation stages. *Proc. 7th World Rabbit Congress*, Valencia, Spain, 8, 259-266.
- THEAU-CLEMENT M., FORTUN-LAMOTHE L., 2005. Evolution de l'état nutritionnel des lapines après la mise bas et relation avec leur fécondité. *11èmes Journ. Rech. Cunicole.*, Paris. 111-114.
- Xiccatto G., Trocino A., Queaque P.I., Sartori A., 2001. Effect of weaning age and parity order on reproductive performance and body balance of rabbit does. *Proc 2nd meeting of workgroups 3 and 4. COST Action 848*, Godollo, Hungary, 54-55.

Evolution de l'état nutritionnel des lapines allaitantes après la mise bas et relation avec leur fécondité

M. THEAU-CLÉMENT¹, L. FORTUN-LAMOTHE²

¹INRA. Station d'Amélioration Génétique des Animaux BP 52627 - 31326 Castanet Tolosan Cedex, France

²INRA. Station de recherches Cunicoles BP 52627 - 31326 Castanet Tolosan Cedex, France

Résumé. Cent trente cinq lapines primipares allaitantes ont été inséminées à 1, 4, 12, 19 jours post partum ou 2 jours après sevrage (soit 30 jours post partum). Au cours de la lactation (1 à 19 jours), l'augmentation des besoins des lapines se traduit par une augmentation de la consommation quotidienne et la diminution des réserves corporelles protéiques (carcasse) et lipidiques (gras périrénal), et les indicateurs sanguins indiquent que le métabolisme est orienté vers le catabolisme des réserves. Par ailleurs, la productivité (nombre d'œufs segmentés/IA) mesurée 24 heures après l'IA augmente de la mise bas jusqu'au stade 12 jours post partum, malgré la mobilisation progressive des réserves corporelles, notamment lipidiques, au cours de la lactation. Ces résultats suggèrent qu'au moment de l'insémination, le stade de lactation est un facteur de contrôle de la fécondité des femelles plus important que leur état nutritionnel.

Abstract - Evolution of the nutritional status of rabbit does after parturition and relation with their fecundity. One hundred and thirty five lactating primiparous rabbit does were inseminated 1, 4, 12, 19 days *postpartum* or 2 days post-weaning (30 days *post partum*). During the lactation (1 to 19 days), the increase in the needs for the does results in the increase of daily feed intake, the reduction in the proteic (carcass) and lipidic body reserves (fat périrénal) and blood indicators showed that the metabolism is directed towards reserves catabolism. In addition, the productivity (number of segmented ova 24 hours/AI) measured 24 hours after the insemination increases from the kindling to 12 days *post partum* despite, the progressive mobilization of the body and in particular lipidic reserves during lactation. These results suggest that at the moment of the insemination, the lactation stage is a factor of fecundity control stronger than the nutritional status.

Introduction

Plusieurs études ont mis en évidence un antagonisme partiel entre les fonctions de lactation et de reproduction (Fortun-Lamothe et Bolet, 1995), en particulier chez les lapines non-réceptives au moment de l'insémination (Theau-Clément et Roustan, 1992 ; Castellini et Lattaioli, 1999). De plus, l'intensité de cet antagonisme varie en fonction du stade de lactation et de la parité des lapines. Si au niveau hormonal, un antagonisme entre la prolactine et les hormones gonadotropes a été démontré (Ubilla *et al.*, 2000), le déficit nutritionnel engendré par la production laitière déprime aussi certaines composantes de la fécondité (Fortun-Lamothe et Bolet, 1995).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'évolution de l'état nutritionnel des lapines primipares au cours de la lactation et la relation avec leur fécondité. Un travail précédent, réalisé sur les mêmes animaux, avait permis de montrer que la productivité des lapines primipares augmente avec l'intervalle entre la mise bas et l'insémination (Theau-Clément *et al.*, 2000).

Cet antagonisme étant particulièrement marqué chez les lapines après leur première mise bas (Chmitelin *et al.*, 1990 ; Pujardieu et Theau-Clément, 1995), la lapine primipare a été choisie comme modèle. Les stades de lactation étudiés correspondent aux rythmes de reproduction qui ont été utilisés dans les élevages commerciaux (stade 1, 4 et 12 jours *post partum*), au pic de lactation (19 jours *post partum*) et 48 heures après sevrage (30 jours *post partum* : lapine non allaitante).

1. Matériel et méthodes

1.1. Animaux et conduite.

Un total de 135 lapines INRA 0067 (2 séries à 3 semaines d'intervalle, série 1 : n = 51, série 2 : n = 84) sont inséminées à l'âge de 18 semaines avec des mélanges hétérospermiqes de mâles Hyplus (Grimaud frères Sélection). Seules, les femelles primipares ayant au moins 5 lapereaux sont incluses dans l'expérimentation. Les portées sont homogénéisées à 9 lapereaux au fur et à mesure de l'observation des naissances. Eclairées 16 heures par jour, les lapines reçoivent un aliment commercial (16,5 % de protéines, 15,5 % de cellulose). L'aliment et l'eau sont distribués à volonté.

1.2. Dispositif expérimental.

Immédiatement après la première mise bas, les lapines sont divisées en 5 groupes comparables, en tenant compte de leur généalogie, du moment précis de la mise bas (matin ou après midi) et du nombre de lapereaux nés totaux. Elles sont inséminées 1, 4, 12, ou 19 jours *post partum*. Enfin, les lapines du 5^{ème} groupe sont inséminées au stade 30 jours *post partum*, les lapereaux ayant été sevrés à l'âge moyen de 28 jours, elles ne sont plus allaitantes.

Avant l'insémination artificielle (IA), la réceptivité sexuelle des lapines est testée par présentation successive à 2 mâles. Elles sont considérées réceptives si, dans la minute qui suit la présentation, elles se mettent en position de lordose avec au moins l'un des 2 mâles. Immédiatement après le test (à partir de 9 heures), les lapines sont inséminées. Après

l'insémination, mais avant l'injection de 0,2 ml de Réceptal, des prélèvements de sang sont réalisés au niveau de la veine marginale de l'oreille. Aucune autre hormone ou biostimulation n'est utilisée dans cette expérimentation.

Le lendemain de l'insémination, (à partir de 9 heures), les lapines sont abattues. Les oviductes et les cornes utérines sont perfusés avec 5 ml de sérum physiologique autant de fois que nécessaire, pour ne retrouver ni ovocyte ni œuf segmenté dans la perfusion. Tous les ovocytes et les œufs segmentés récoltés sont comptés et observés sous une loupe binoculaire (x 50). Un œuf qui a subi la première division de segmentation est considéré fécondé.

1.3. Variables étudiées.

Le poids des lapines au moment de l'insémination, le poids de la carcasse et du tissu adipeux périrénal au moment de l'abattage sont mesurés ainsi que la consommation d'aliment entre la mise bas et 18 jours (jusqu'au début d'ingestion d'aliment des lapereaux). Les concentrations plasmatiques de glucose (Boehringer Mannheim), des acides gras non estérifiés (Unipath SA) et de l'insuline (Prunier *et al.*, 1993) sont mesurées afin d'appréhender le métabolisme glucidique et lipidique des femelles. Le pourcentage de lapines réceptives au moment de l'insémination et la productivité (mesurée par le nombre d'œufs fécondés/IA) sont étudiés.

1.4. Analyses statistiques.

L'influence du stade de lactation (5 niveaux : 1, 4, 12, 19 jours et 30 jours *post partum*) est estimée par analyse de variance à effet fixé. Le taux de lapines

réceptives, considéré comme une variable de Bernoulli (variable 0-1), est analysé comme une variable continue classique. Dans une analyse préliminaire, l'effet de la série n'étant jamais significatif, ce facteur n'est pas pris en compte dans le modèle. Les niveaux des effets principaux ont été comparés à l'aide d'une statistique t généralisée de Bonferroni. La part de la variabilité expliquée par le modèle (R^2) est indiquée.

2. Résultats

2.1. Etat corporel.

Au moment de l'IA, le poids moyen des lapines varie significativement en fonction du jour d'IA et donc du stade de lactation ($P < 0,001$) : il augmente de 1 à 12 jours *post partum* (respectivement de 3720 g vs 4064 g, tableau 1), pour diminuer ensuite jusqu'à la période post-sevrage (3874 g). Vingt quatre heures après l'IA, au moment de l'abattage, le poids de carcasse varie significativement ($P = 0,040$) en fonction du stade de lactation ; il diminue progressivement de 1 à 19 jours *post partum* (respectivement 2382 g vs 2235g) pour augmenter ensuite jusqu'à la période post-sevrage (2339 g). De la même manière, la masse de tissu périrénal diminue ($P < 0,001$) progressivement de 1 à 19 jours *post partum* (respectivement de 120,4 g à 44,6 g) pour se stabiliser ensuite jusqu'à la période post-sevrage (40,1 g).

2.2. Consommation.

La consommation moyenne quotidienne des lapines varie en fonction du stade de lactation ($P < 0,001$). Elle augmente dès la mise bas jusqu'au 19^{ème} jour de lactation (respectivement de 138 g à 286 g).

Tableau 1. Etat nutritionnel et performances de reproduction des lapines en fonction du stade de lactation.

	Effectif à l'IA	Poids			Consommation moyenne (g)	Marqueurs sanguins			Réceptivité (%)	Productivité (œufs segmentés /IA)
		Carcasse (g)	Tissus adipeux périrénal (g)	Glucose (µg/ml)		Acides gras non estérifiés (µmole/ml)	Insuline (UI/ml)			
Moyennes		3886	2333	70,1	225	1320	245	18,4	88,9	10,1
Ecart type résiduel	135	275	182	28,2	58,5	114	91,7	12,2	0,30	4,9
R^2		0,15	0,07	0,56	0,53	0,26	0,38	0,13	0,11	0,31
Stade de lactation		***	*	***	***	***	***	*	**	***
1 jour <i>p.p</i>	36	3720 ^a	2382 ^a	120,4 ^a	138 ^a	1362 ^a	307 ^a	22,3 ^a	97,2 ^a	6,6 ^a
4 jours <i>p.p</i>	26	3922 ^{bc}	2361 ^a	95,6 ^b	197 ^b	1266 ^{bc}	243 ^b	18,1 ^{ab}	70,4 ^b	6,8 ^a
12 jours <i>p.p</i>	19	4064 ^b	2314 ^{ab}	71,6 ^c	258 ^c	1337 ^{ab}	302 ^{ab}	15,0 ^{ab}	82,4 ^c	12,1 ^b
19 jours <i>p.p</i>	24	3984 ^{bc}	2235 ^b	44,6 ^d	286 ^c	1214 ^c	276 ^{ab}	9,4 ^b	91,7 ^d	13,3 ^b
Non allaitantes (2 jours <i>post sevrage</i>)	31	3874 ^c	2339 ^{ac}	40,1 ^d	284 ^c	1379 ^a	136 ^c	20,1 ^a	96,8 ^d	13,6 ^b

Dans une même colonne, les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil $P = 0,05$, elles correspondent aux moyennes estimées par l'analyse de variance. Les seuils de signification pour l'effet stade de lactation sont notés en début de colonne: * : $P < 0,05$, ** : $P < 0,01$, *** : $P < 0,001$.

2.3. Marqueurs sanguins.

La concentration de tous les marqueurs sanguins étudiés varie significativement en fonction du stade de lactation. La glycémie est plus faible au cours de la lactation que le lendemain de la mise bas ou après le sevrage. Le taux d'acides gras fluctue entre 1 et 19 jours de lactation (respectivement de 307 à 243 $\mu\text{mole/ml}$) et chute fortement 2 jours après le sevrage (136 $\mu\text{mole/ml}$). L'insulinémie chute progressivement de 1 à 19 jours *post partum* (respectivement de 22,3 à 9,4 UI/ml) pour revenir au niveau initial (20,1 UI/ml) 2 jours après sevrage.

2.4. Performances de reproduction.

La réceptivité (en moyenne 88,9%), varie significativement en fonction du stade de lactation ($P=0,004$). En effet, le taux de lapines réceptives est très élevé (97,2 %) dans les 24 heures suivant la mise bas, il chute au 4^{ème} jour (70,4 %) pour augmenter progressivement jusqu'au 19^{ème} jour de lactation (91,7 %) et se maintenir après sevrage (96,8 %). La productivité, mesurée 24 heures après l'IA, varie en fonction du stade de lactation ($P<0,001$). Les lapines aux stades 1 et 4 jours *post partum* produisent significativement moins d'œufs fécondés/IA, que les lapines inséminées aux stades 12 et 19 jours *post partum* ou non-allaitantes (respectivement 6,6 – 6,8 vs 12,1 – 13,3 et 13,6).

3. Discussion

3.1. Evolution de l'état nutritionnel des lapines au cours de la lactation.

La consommation des lapines augmente au fur et à mesure de l'évolution de la lactation. Toutefois, chez la lapine primipare, cette augmentation des apports est insuffisante pour faire face à l'augmentation des besoins nutritionnels associés à la production de lait. En effet, la diminution du poids de carcasse et surtout de tissu adipeux périrénal dans la période *post partum*, montre une mobilisation protéique et surtout lipidique progressive au cours de la lactation. Ces résultats sont en accord avec les travaux précédents (Parigi-Bini et Xiccato, 1998). Paradoxalement, le poids vif des femelles augmente de la mise bas à 19 jours (pic de lactation) pour diminuer ensuite après le sevrage. Ce résultat confirme qu'en l'absence de maîtrise précise du moment de la consommation (aliment et eau) et de l'allaitement, le poids vif n'est pas un bon indicateur de l'évolution de l'état corporel des animaux (contenu du tube digestif, de la vessie et du tissu mammaire variable).

Associé à l'évolution de la composition corporelle, le dosage de quelques marqueurs sanguins permet de mieux appréhender l'état nutritionnel des animaux. Ainsi, la glycémie est un bon reflet de la balance énergétique des animaux. Chez le lapin, Gilbert *et al.* (1984) et Parigi-Bini (1988) ont observé une diminution de la glycémie au cours de la gestation en réponse à l'augmentation progressive des besoins pour la croissance fœtale. Dans nos conditions

expérimentales, la glycémie diminue entre 1 et 19 jours *post partum*, c'est à dire au cours de l'évolution de la production laitière pour revenir au niveau initial après sevrage. Cette évolution est une réponse à l'augmentation des besoins des lapines pour la production laitière. En effet, la glande mammaire est un capteur important de glucose pour la synthèse des lipides du lait (Jones et Parker, 1988). Par ailleurs, une augmentation des concentrations en acides gras non estérifiés indique généralement une mobilisation des lipides corporels. Dans notre étude, les niveaux circulants d'acides gras sont toujours plus élevés au cours de la lactation qu'après le sevrage. En accord avec Fortun-Lamothe (2003), ceci indique une orientation du métabolisme lipidique vers la mobilisation des réserves pendant la phase d'allaitement. L'insuline, est une hormone qui favorise l'utilisation du glucose par les tissus adipeux et donc le stockage d'énergie sous forme de graisses. L'insulinémie diminue très fortement au cours de la lactation, pour revenir au niveau d'origine (parturition) 2 jours après sevrage.

L'ensemble de ces résultats (composition corporelle, marqueurs sanguins) montre qu'au cours de la lactation, le métabolisme des lapines est orienté vers le catabolisme et se traduit par une mobilisation progressive des réserves corporelles.

3.2. Relation entre état nutritionnel et fécondité.

L'évolution du pourcentage de lapines réceptives après la mise bas confirme les résultats bibliographiques (Theau-Clément et Roustan, 1992): il est élevé 24 heures après la mise bas, chute au 4^{ème} jour pour remonter à 11 jours *post partum* et retrouver le niveau initial après le sevrage. Lié à une réceptivité faible, le taux de fécondation des lapins au stade 4 jours *post partum* est significativement déprimé. De plus les lapines aux stades 1 et 4 j *post partum* produisant significativement moins de corps jaunes (Theau-Clément *et al.*, 2000), ont une productivité affaiblie, alors que les réserves corporelles sont encore assez importantes. A l'inverse, à partir de 12 jours *post partum*, la fécondité des primipares semble se restaurer progressivement après la parturition malgré un état corporel qui se dégrade au cours de la lactation. Néanmoins, pour un rythme de reproduction donné, les travaux concernant la relation entre l'état nutritionnel et la fertilité apportent des résultats contradictoires (synthèse : Pascual *et al.*, 2003).

Conclusion

Malgré une élévation de la consommation d'aliment, l'augmentation des besoins des lapines primipares allaitant 9 lapereaux se traduit par une diminution des réserves corporelles protéiques et lipidiques. Les marqueurs sanguins du métabolisme indiquent que les animaux passent d'une orientation catabolique (mobilisation des réserves) pendant la lactation à une orientation anabolique (stockage) après le sevrage. Ces résultats suggèrent qu'au moment de l'insémination, le stade de lactation est un facteur de

contrôle de la fécondité des femelles plus important que leur état nutritionnel. En effet, la fécondité des femelles est plus élevée lorsqu'elles sont inséminées à partir de 11 jours après la mise bas, malgré des réserves corporelles plus faibles. Dans les stades précoces du développement, chez la lapine allaitante et primipare, l'antagonisme entre la lactation et la reproduction pourrait être plus lié à un antagonisme entre la prolactine et les hormones gonadotropes alors que l'effet dépressif du déficit énergétique agirait plus au cours du développement embryonnaire sur la viabilité et la croissance ainsi que l'ont montré Fortun-Lamothe *et al.* (1999).

Remerciements

Les auteurs remercient E. Lamothe et l'ensemble des techniciens de l'élevage lapins de chair du Magneraud, A.M. Mounier, A. Prunier et M. Etienne, pour les dosages sanguins ainsi que R. Duzert et son équipe pour leur collaboration efficace.

Références

- CASTELLINI, C., LATTAIOLI, P. 1999. Effect of number of motile sperms inseminated on reproductive performance of rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.* 57: 111-120.
- CHMITELIN, F., ROUILLERE, R., BUREAU, J. 1990. Performances de reproduction des femelles en insémination artificielle en post partum. *5èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 12-13 Décembre, 1990, Paris, France. Tome I: Comm. 4.
- FORTUN-LAMOTHE, L., BOLET, G. 1995. Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine. *INRA Prod. Anim.* 8(1): 49-56.
- FORTUN-LAMOTHE, L., PRUNIER A., BOLET G., LEBAS F. 1999. Physiological mechanisms involved in the effects of concurrent pregnancy and lactation on foetal growth and survival in the rabbit. *Livest. Prod. Sci.*, 60, 229-241.
- FORTUN-LAMOTHE, L. 2003. Bilan énergétique et gestion des réserves corporelles de la lapine : mécanismes d'action et stratégies pour améliorer la fertilité et la longévité en élevage cunicole. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 nov. 2003. Paris, 89-103.
- GILBERT, M., HAY, W.W., JOHNSON, R.L., BATTAGLIA, F.C. 1984. Some aspects of maternal metabolism through out pregnancy in the conscious rabbit. *Pediatr. Res.*, 18, 854-859.
- JONES, C.S., PARKER, D.S. 1988. Mammary blood flow and cardiac output during initiated involution of the mammary gland in the rabbit. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91, 21-25.
- PARIGI-BINI, R. 1988. Recent developments and future goals in research on nutrition of intensively reared rabbits. *4th World Rabbit Congress*, Budapest Hungary, 3, 1-19.
- PARIGI-BINI, R., XICCATO, G., 1998. Energy metabolism and requirements. in: *The nutrition of the rabbit*. C. De Blas and J. Wiseman Eds. CABI publishing, chapter 7, 103-132.
- PASCUAL, J.J., CERVERA, C., BLAS, E., FERNANDEZ-CARMONA, J., 2003. High-energy diets for reproductive rabbit does: effect of energy source. *Nutr. Abs. Rev.* 73, 27-39.
- POUJARDIEU, B., THEAU-CLEMENT, M. 1995. Productivité de la lapine et état physiologique. *Ann. Zoot.* 44: 29-39.
- PRUNIER A., MARTIN C., MOUNIER AM., BONNEAU M. 1993. Metabolic and endocrine changes associated with undernutrition in the peripubertal gilt. *J. Anim. Sci.* 71: 1887-1890.
- THEAU-CLEMENT, M., ROUSTAN, A. 1992. A study on relationships between receptivity and lactation in the doe, and their influence on reproductive performances. *5th World Rabbit Congress*, 25-30 July, 1992, Corvallis, U.S.A., Vol A: 412-421.
- THEAU-CLEMENT, M., BOITI C., MERCIER, P., FALIERES, J. 2000. Description of the ovarian status and fertilising ability of primiparous rabbit does at different lactation stages. *7th World Rabbit Congress*, Valencia 2000, Vol A, 61-79.
- UBILLA, E., REBOLLAR, P.G., PAZO, D., ESQUIFINO, A.I., ALVARIÑO, J.M.R. 2000. Pituitary and ovarian response to transient doe-litter separation in nursing rabbits. *J. Reprod. Fert.* 118: 361-366

Influence de différentes modalités de rationnement des futures reproductrices sur leur productivité ultérieure

C. BRIENS¹, L. GRENET², J.M. SALAUN³

¹CCPA, 35150 Janzé, France

²Terrena 44150 Ancenis, France

³Eurolap 35370 Argentré

Résumé. De 13 semaines d'âge à la 1^{ère} mise bas (24 semaines), 3 lots de 72 lapines parentales HYLEA ont reçu 135 (S135) ou 150 g/j (S150) d'un aliment S (sevrage) ou 140 g/j d'un aliment M (maternité)(M140), soit 324, 360 et 357 Kcal/j. La semaine précédant l'IA, les animaux ont été alimentés à volonté. A partir de la 1^{ère} mise bas, les 3 lots recevaient à volonté l'aliment M (ou S une semaine avant sevrage). Pour les lots S135, S150, M140, les lapines pesaient à 18 semaines respectivement 3364a, 3561b et 3563bg ($p < 0,001$), et, sur 5 cycles successifs sans renouvellement, leur fertilité (75,8 vs 76,0 vs 81,2% $p = 0,09$), leur prolificité (9,21a vs 9,52ab vs 9,92b nés totaux / mise bas $p = 0,005$), le poids de leurs portées à 35 jours (7988ab, 7788a, 8038bg $p = 0,038$) étaient supérieurs pour le lot M140 qui a permis de sevrer 16% de lapereaux en plus.

Abstract. Effect of different feed restriction of rabbit does during the rearing period on their subsequent productivity. From 13 weeks old and till the 1st parturition (24 weeks), 3 groups of 72 rabbit does HYLEA received 135 (S135) or 150 g / day (S150) of a weaning feed (S) or 140 g / day of a rabbit doe feed (M), and thus received respectively 324, 360 or 357 Kcal DE/day. Each feed was given ad libitum during the week before the 1st AI. From the 1st parturition, each female received M feed except during the week before weaning (S feed). For S135, S150 and M140 groups, rabbit does weighted respectively at 18 weeks of age 3364^a, 3561^b et 3563^b g ($p < 0,001$), and, over 5 reproductive cycles without female replacement, their mean fertility (75,8a vs 76,0ab vs 81,2%b $p = 0,09$), prolificacy (9,21^a vs 9,52^{ab} vs 9,92^b nés totaux / mise bas $p = 0,005$) and 35 days litter weight (7988^{ab}, 7788^a, 8038^b g $p = 0,038$) were higher in the M140 group which produced 16% more weaned rabbits.

Introduction

L'alimentation de la future reproductrice a une forte influence sur sa carrière ultérieure. Coudert et Lebas (1984) ont montré que des lapines alimentées à volonté à partir de 11 semaines sevrèrent, sur les 3 premiers cycles, 19% de lapereaux en plus que celles soumises à 3 modalités différentes de rationnement avant la première mise bas. Maertens (1992) recommande, pour des futures reproductrices mises à la reproduction tardivement (17-18 semaines), une alimentation rationnée avec un aliment engraissement suivie d'un flushing de 4 jours avant IA (Insémination artificielle). Il souligne le risque d'engraissement excessif avec une alimentation ad libitum. Gyovai M. et Al. (2004) ont montré une amélioration du poids de portée et du poids individuel des lapereaux à 3 semaines avec un rationnement des futures reproductrices jusqu'à leur première insémination.

Le rationnement des futures reproductrices est aujourd'hui une pratique courante. Quel aliment utiliser et quelle quantité d'énergie convient-il de distribuer aux femelles pour améliorer leur carrière? Ce sont ces questions que l'expérimentation suivante se propose d'explorer.

1. Matériel et méthodes

L'essai a eu lieu dans la station expérimentale d'Eurolap (France).

1.1. Animaux et habitat

L'expérimentation a été conduite dans des salles en claustration totale.

En juin 2004, 216 femelles parentales HYLEA à 13 semaines d'âge ont été pesées, classées en fonction de leur poids vif, et mises en 3 lots de 72 femelles de poids vif moyen équivalent. Ces femelles ont été disposées dans des cages individuelles de précheptel - attente d'une surface de 0,108 m², dans la même salle, jusqu'à la première mise bas. La répartition des femelles dans la salle s'est effectuée selon un dispositif par blocs de 3 femelles de poids équivalent, pour éviter l'interaction avec les effets étudiés d'un éventuel effet zone dans la salle.

Une semaine avant chaque mise bas, l'ensemble des femelles était transféré dans une salle nettoyée, désinfectée, et disposé dans des cages mères de 0,336 m² selon un dispositif par bloc pour éviter l'interaction avec l'effet régime étudié d'un éventuel effet zone dans la salle.

Du début de l'essai (juin 2004) jusqu'à sa fin en mars 2005, sevrage du 5^{ème} cycle, aucune femelle n'a été réintroduite dans les lots expérimentaux. Les lapines ont donc toujours été contemporaines et disposées dans une même salle.

L'insémination a été réalisée avec de la semence de Mâle PS AB HYLEA.

Le programme lumineux consistait en des périodes d'éclairage continu de 12 heures par jour sauf sur la période autour de l'IA (une semaine avant et 11 jours après) où l'éclairage était de 16 heures par jour.

1.2. Alimentation et schéma expérimental (tableau 1)

Un flushing a été réalisé en mettant à volonté, pendant la semaine précédant la première IA, l'aliment distribué auparavant.

Tableau 1 : plan d'alimentation de la mise en lots (13 semaines) à la 1^{ère} mise bas (22 semaines) :

Lot	S135	S150	M140
Aliment	S (Sevrage)		M (Maternité)
ED aliment (Kcal/kg)	2400		2500
Quantité g/jour	135	150	140
ED Kcal / j	324	360	357

A partir de la première mise bas et jusqu'à la fin de l'essai, au 5^{ème} sevrage, les 3 lots ont reçu l'aliment M sauf la semaine précédant le sevrage (aliment S), l'un et l'autre à volonté. Les aliments expérimentaux distribués en cours d'essai ont été analysés au laboratoire Deltavit, unité de biochimie. Les normes et les références des modes opératoires internes utilisés pour la réalisation des analyses chimiques des aliments sont données dans le tableau 2.

1.3. Conduite d'élevage

La première IA a été effectuée lorsque les femelles ont atteint 19 semaines d'âge. L'intervalle entre mises bas était de 42 jours (IA 11 jours après mise bas). Le diagnostic de gestation est réalisé 14 jours après IA et le sevrage s'effectue à 35 jours d'âge.

La stimulation de l'ovulation utilise, outre le programme lumineux décrit précédemment, 24 UI de PMSG 48 heures avant IA uniquement chez les primipares, la condamnation des nids 24 heures avant IA et le Réceptal (0,2 ml, soit 0,8µg de buséréline en injection intramusculaire) à l'IA.

Les adoptions à la mise bas ont été autorisées afin de laisser le même nombre de lapereaux à chaque femelle (maximum 8 lapereaux en 1^{ère} mise bas, 9 en 2^{ème}, et 10 ensuite). Ainsi le nombre de lapereaux gardés à la naissance a été le plus proche possible d'un régime à l'autre.

1.4. Enregistrement des performances zootechniques.

Les femelles ont été pesées toutes les semaines de 13 à 22 semaines d'âge, puis à chaque palpation et sevrage. A chaque mise bas, les lapereaux nés totaux, nés vivants, éliminés, retirés, adoptés, gardés, sevrés sont enregistrés pour chaque lapine. Les portées ont été pesées au sevrage.

1.5. Traitements statistiques.

Le poids des lapines a été analysé comme mesures répétées dans le temps avec la procédure MIXED de SPSS 13.0 avec le modèle linéaire mixte suivant : $Poids_{ijk} = \mu + R_i + S_j + (S \times R)_{ij} + P13_k + E_{ijk}$ avec μ =moyenne générale, R_i =effet régime, S_j =effet âge, $P13$ = poids à la semaine 13 en covariable, $(R \times S)_{ij}$ interaction

régime x semaine, E_{ijk} =erreur résiduelle.

La structure de covariance de type autorégressive d'ordre 1 a été utilisée. La comparaison des régimes a été faite par le calcul des contrastes entre S135 et la moyenne (S150+M140).

Le nombre de lapereaux nés totaux, nés vivants, sevrés, le poids des portées au sevrage, le poids moyen des lapereaux au sevrage ont été analysés comme mesures répétées dans le temps avec la procédure MIXED de SPSS 13.0 selon le modèle linéaire mixte : $Y_{ijk} = \mu + R_i + B_j + (R \times B)_{ij} + E_{ijk}$ avec Y_{ijk} =observation, μ =moyenne générale, R_i =effets régimes, B_j =effets bandes, $(R \times B)_{ij}$ interaction bande régime, E_{ijk} =erreur résiduelle. Une structure de covariance de type diagonale a été utilisée, la structure autorégressive n'apportant pas de précision supérieure au modèle. Les comparaisons de moyennes ont été réalisées par le test de Bonferroni.

Les tests avec $p \leq 0,05$ sont considérés comme significatifs et ceux avec $p \leq 0,10$ comme tendance.

Nous avons fait le choix de calculer ces critères par portée et par bande classiquement comme dans une Gestion Technico Economique. Mais nous avons aussi calculé le cumul de production par lapine et par lot sur la durée totale de l'expérimentation.

Les moyennes indiquées sont des valeurs brutes, non corrigées par le modèle.

Mortalité, mortalité des lapereaux au nid, mortalité et réforme des reproducteurs, fertilité ont été analysés par régression logistique multinomiale sur les nombres de nés totaux et nés morts, les lapereaux gardés et sevrés, d'IA et de femelles gestantes, avec la bande et le régime en variables explicatives.

2. Résultats

2.1. Analyse des aliments.

Tableau 2 : Analyse des aliments expérimentaux.

Analyse	Méthode	M	S
Humidité	MD 0002.0.B	11,1%	10,8%
Cendres	MD 0010.0.F	7,6%	6,9%
Protéines	NF V18-120	17,1%	15,3%
Mat. Grasses	MD 0012.0.D	3,6%	3,0%
Cellulose	NF V03-040	13,3%	17,1%

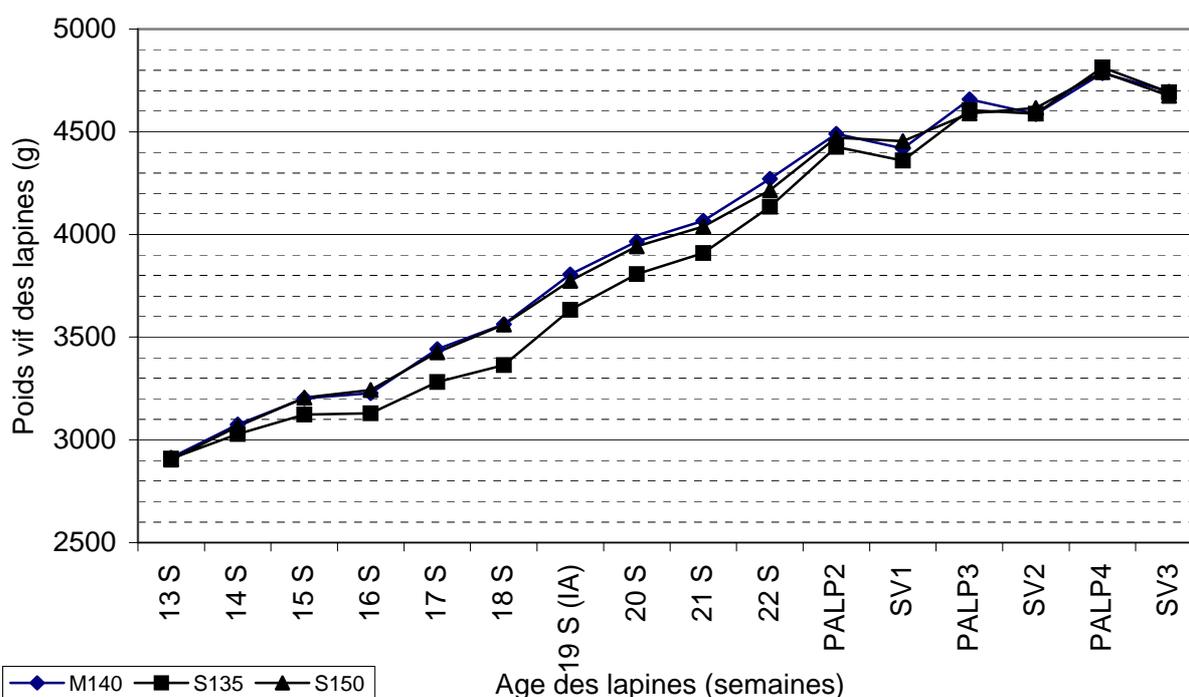
Le tableau 2 montre des aliments bien différenciés, l'aliment maternité étant plus riche en protéines brutes (+1,8%) et matières grasses (+0,6%) et moins riche en cellulose brute Weende (-3,8%).

2.2. Courbe de croissance des lapines.

Le tableau 3 montre une sélection de pesées placées à des points caractéristiques de la courbe de croissance des régimes de cet essai. Les courbes de poids des régimes S150 et M140 sont pratiquement superposées jusqu'à 18 semaines (figure 1). Ce résultat est logique puisque ces lapines reçoivent chaque jour la même quantité d'énergie. A l'opposé, le poids des lapines du lot S135 est significativement inférieur à partir de la 15^{ème} semaine jusqu'à la 22^{ème} semaine. Le déficit de poids des lapines du régime S135 par rapport aux 2

Tableau 3. Poids vif des lapines en cours d'élevage puis en production

Age (semaines)	S 135	S 150	M 140	Pr<f	
				Régime	Poids 13 j
13	2909 ± 190	2904 ± 186	2913 ± 191	NS	
18	3364 ^a ± 178	3561 ^b ± 178	3563 ^b ± 172	<0,001	<0,001
19 (IA)	3633 ^a ± 252	3774 ^b ± 238	3805 ^b ± 236	<0,001	<0,001
22	4134 ^a ± 289	4215 ^{ab} ± 288	4271 ^b ± 282	0,002	<0,001

Figure 1. Courbes de poids vif des lapines en cours d'élevage et en production**Tableau 4 :** performances techniques moyennes sur les 5 bandes de l'essai

	Régime			Bande					Pr < f		
	S135	S150	M140	1	2	3	4	5	Régime	Bande	Interactio n régime x bande
Nombre IA	318	300	325	213	199	192	185	154			
Fertilité	75,8% ^a	76,0% ^{ab}	81,2% ^b	84,5%	77,4%	84,4%	56,8%	85,7%	0,093	<0,08	
Nés totaux / MB	9,21 ^a	9,52 ^{ab}	9,92 ^b	8,37	10,00	9,15	10,17	10,71	0,005	<0,001	0,039
Mortinatalité	7,2%	6,0%	6,5%	7,17%	11,60%	5,25%	16,62%	2,52%	0,110	<0,025	
Nés vivants / MB	8,55 ^a	8,95 ^{ab}	9,28 ^b	7,67	9,30	8,82	8,97	10,34	0,027	<0,001	0,146
Gardés / MB	8,74	8,76	8,81	7,77	8,84	8,67	8,48	10,44	0,938	<0,001	0,632
Mortalité sevrés / gardés	6,1% ^a	7,9% ^b	7,1% ^{ab}	7,5%	4,7%	9,6%	4,5%	7,8%	0,025	<0,07	
Sevrés / MB	8,42	8,37	8,44	7,31	8,48	8,35	8,77	9,63	0,514	<0,001	0,084
Poids de portée 35 jours (g)	7988 ^{ab}	7788 ^a	8038 ^b	6910	8534	7821	8732	8211	0,033	<0,001	0,171
Poids lapereaux 35 jours (g)	951	936	957	950	1008	936	999	856	0,121	<0,001	0,188
Sevrés / IA	6,38	6,36	6,86	6,10	6,52	6,61	4,60	8,25	0,170	<0,001	0,960
Poids sevré / IA	6054	5919	6529	5769	6561	6192	4578	7038	0,079	<0,001	0,994

autres régimes atteint son maximum, 199g, au début du flushing à 18 semaines. La covariable poids à 13 semaines influence significativement le poids jusqu'au premier sevrage.

2.3. Productivité des lapines.

Le tableau 4 présente les performances des lapines. La fertilité du lot M140 est supérieure de 5% à celle

des 2 autres lots (tendance). La prolificité (nés totaux) du lot M140 est supérieure de respectivement 0,7 et 0,4 lapereaux à celle des lots S150 et S135 ($p < 0,05$). Le nombre de lapereaux sevrés par mise bas ne diffère pas significativement entre lots. Par contre, le poids de portée à 35 jours d'âge du lot M140 est supérieur de 250 g à celui du lot S150 ($p < 0,05$).

2.4. Mortalité des lapereaux, taux de fonte des lapines.

Tableau 5. Taux de fonte du troupeau de lapines reproductrices

Lot	S135	S150	M140	Pr < f
Réformées (%)	26	19	22	NS
Mortes (%)	11	17	11	NS
Fonte (%)	37	36	33	NS

La mortinatalité n'est pas différente selon les régimes (Tableau 5). La mortalité des lapereaux du lot S135 est significativement inférieure à celle du lot S150.

Aucune différence significative n'a pu être notée entre lots pour la mortalité des reproducteurs, leurs taux de réforme et de fonte.

2.5 Productivité totale des lapines sur 5 bandes.

Les éléments de cette production sur 5 bandes sont repris dans le tableau 6.

Le nombre de nés totaux et nés vivants produits par lapine sur 5 bandes est supérieur (tendance) sur le lot M140 par rapport aux 2 autres lots.

Bien que les lapines du lot M140 aient sevré en moyenne plus de 9% de lapereaux supplémentaires, cette différence n'est pas significative

2.6. Production totale par lot sur les 5 bandes.

Le tableau 7 totalise la production de chaque lot sur la durée de l'essai, soit 5 bandes consécutives. Si l'on compare le poids de lapereaux sevrés dans chaque lot, on constate que les lapines du lot M140 ont produit 20% de plus que le lot S150, le lot S135 ayant une situation intermédiaire. Cet avantage du régime M140 est lié pour 40% à la meilleure longévité et 40% à la meilleure fertilité des lapines de ce lot.

Tableau 6 : Cumul de la production par lapine sur les 5 premières bandes de l'essai

Régime	Nés totaux	Nés vivants	Gardés	Sevrés	Poids des sevrés (kg)
S135	39,4 ± 16,6	36,9 ± 17,3	37,2 ± 14,8	35,4 ± 13,7	33,5 ± 13,1
S150	39,6 ± 15,7	37,1 ± 15,3	36,7 ± 15,5	33,8 ± 14,6	31,5 ± 14,2
M140	45,3 ± 15,8	42,4 ± 15,4	40,1 ± 13,8	37,0 ± 13,1	35,2 ± 13,0
Pr < f régime	0,059	0,078	0,364	0,409	0,274

Tableau 7. Cumul de production par lot

Données	S135	S150	M140	Ecart S150/M140
Nombre d'IA	318	300	325	8%
Nombre de Mises bas	241	228	264	16%
Nés totaux	2219	2171	2620	21%
Nés vivants	2060	2040	2449	20%
Lapereaux gardés	1979	1841	2161	17%
Lapereaux sevrés	2107	1998	2327	16%
Poids de lapereaux sevrés (t)	1,88	1,71	2,06	20%

3. Discussion

Nous nous attendions à l'avantage dégagé par l'utilisation de l'aliment maternité à 140 g / j , car des retours terrain nous permettaient de le prédire. Par contre, l'ampleur de la différence nous a surpris. L'apport énergétique au cours de la phase d'élevage ne semble pas impliqué puisque les lots S150 et M140 recevaient théoriquement la même quantité d'énergie. L'effet quantité et qualité de protéines distribuées pendant la phase d'élevage a pu jouer sur le développement d'organes liés à la reproduction. L'autre hypothèse tient à la différence d'apports de vitamines et oligoéléments.

Conclusion

L'aliment maternité distribué à raison de 140 g/j (lot M140) a permis une diminution du taux de fonte, une amélioration de la fertilité et de la prolificité et par conséquent du nombre de lapereaux produits en comparaison avec les animaux recevant l'aliment S pendant la période de croissance. Ce régime paraît donc le plus approprié pour les femelles PS HYLA.

Remerciements

Nous remercions Philippe BONIFACE, CCPA, pour son aide dans l'interprétation statistique des résultats.

Références

- COUDERT P, LEBAS F. 1984, Effet du rationnement alimentaire avant et après la première gestation sur la productivité et la morbidité des lapines reproductrices *Proc. 3rd World Rabbit Congress Roma*, Vol 2 131-140.
- GYOVAI M , SZENDRO Zs., MAERTENS L., BIRO-NEMETH E., RADNAI I., MATICKS Zs., GERENCSEK Zs., PRINCZ Z., HORN P. 2004 Effect of the rearing method on the performance of rabbit does *Proc. 8th World Rabbit Congress Mexico*, Vol 2 281-287
- MAERTENS L., 1992, Rabbit nutrition and feeding : a review of some recent développements *Proc. 5th World Rabbit Congress Oregon*, Vol 2 889-913

Comparaison de deux programmes alimentaires pour la préparation des futures reproductrices

S. Verdelhan¹, A. Bourdillon¹, J.J. David², J. Hurtaud²,
L. Lédan¹, B. Renouf¹, X. Roulleau³, J.M. Salaun³

¹CYBELIA, Centre d'affaires Odyssée, ZAC Cicé Blossac, 35 170 Bruz, France
(sandrine.verdelhan@cybelia.fr)

²GRIMAUD FRERES SELECTION SAS, La Corbière, 49 450 Roussay, France

³EUROLAP, Le moulin aux Moines, 35370 Argentré du Plessis, France

Résumé : L'objectif de notre étude était de tester l'effet de 2 programmes alimentaires sur des futures reproductrices de 11 à 19 semaines : rationnement de l'aliment (2550 ou 2250 kcal/kg) ou aliment spécifique de faible niveau énergétique (1550 kcal/kg) à volonté. Deux essais ont été réalisés sur 2 souches différentes. Dans l'essai 1, aucune différence n'a été observée sur le poids à la première insémination, ni sur les résultats des trois premières mises bas. Dans l'essai 2, le poids des lapines à la première insémination était légèrement inférieur dans le lot à volonté, et on a observé une tendance favorable sur les taux de mise-bas. La distribution d'un aliment spécifique à volonté en précheptel est donc une alternative satisfaisante au rationnement de l'aliment.

Abstract : **Effect of 2 different feeding programs for young does between 11 and 18 weeks.** The aim of our study was to test 2 different feeding programs for young rabbit does between 11 and 18 weeks. The first program was a feed restriction, and the second program was a specific *ad libitum* food with a very low energetic level (1550 kcal/kg). 2 field trials have been conducted on 2 different commercial strains. In the first trial there was no significant difference between the 2 programs. In the second one, the young does were lighter with the *ad libitum* food. However, their results in fertility, prolificacy and weaning were better. Therefore, it is possible to feed young does with a specific *ad libitum* food, and this specific program could be a solution to satisfy nutritional requirement of the young doe.

Introduction

La préparation des futures reproductrices conditionne les performances des élevages en production. Les pratiques actuelles consistent à rationner l'aliment distribué en précheptel afin de diminuer le poids à la première insémination. Le rationnement représente cependant un temps de travail important et ne peut pas toujours être fait de façon précise. L'utilisation d'un aliment précheptel très peu énergétique et distribué à volonté permet, par un rationnement énergétique et non volumétrique, de diminuer le poids des lapines à la première insémination (Verdelhan *et al.*, 2003, JRC). Il s'agit ici de tester sur le terrain, dans des conditions d'élevages différentes et sur deux souches de lapin différentes (parentale Hyplus et grand-parentale Hyla) l'effet de ce type d'aliment sur les performances de reproduction et d'apporter de nouveaux éléments à la connaissance des besoins nutritionnels des futures reproductrices.

1. Matériel et Méthodes

Deux essais ont été réalisés en station expérimentale. Le premier essai a eu lieu en 2003 dans la station expérimentale de Grimaud Frères Sélection (France), le second essai a eu lieu en 2004 dans la station expérimentale d'Eurolap (France).

1.1. Animaux et habitat

L'essai 1 a été réalisé avec 140 lapines de souche parentale Hyplus pesées à 88 jours et mises en place pour le début de l'essai, tandis que l'essai 2 a été réalisé avec 120 lapines de souche grand parentale

Hyla, pesées individuellement et mises en lot à 84 jours.

Pour chaque essai, les lapines sont réparties en deux lots de même effectif en fonction de leur poids à la mise en lot et mises en place en cage individuelle flat deck dans une seule salle. Chaque cage est munie d'une pipette pour l'eau et d'une mangeoire individuelle.

A l'exception de l'alimentation, la technique d'élevage est rigoureusement la même pour l'ensemble des lapines de chaque essai. Toutefois, les lapines de l'essai 1 sont inséminées à 19 semaines, tandis que celles de l'essai 2 sont inséminées à 18 semaines.

1.2. Alimentation

A partir de la mise en lot, la moitié des lapines reçoit un aliment engraissement rationné à 150 g par jour (lot RE) dans le cas de l'essai 1 ou un aliment maternité rationné à 140g par jour (lot RM) dans le cas de l'essai 2. La semaine précédent l'IA, les aliments RE et RM sont distribués à volonté. Les lapines sont ensuite de nouveau rationnées jusqu'à 5 jours avant la mise-bas.

Dans chaque essai, la seconde moitié des lapines reçoit un aliment précheptel (aliment P, lot P1 dans l'essai 1 et lot P2 dans l'essai 2) distribué à volonté de la mise en lot jusque 5 jours avant la mise-bas. Il s'agit d'un aliment fibreux de faible niveau énergétique (1550 kcal/kg).

Cinq jours avant la mise-bas, toutes les lapines reçoivent le même aliment maternité distribué à

Tableau 1, caractéristiques nutritionnelles des aliments

	RE	RM	P1 & P2
Type d'aliment	Engraissement	Maternité	Précheptel
Energie digestible (kcal/kg)	2250	2550	1550
Protéines brutes (%)	15,5	17,3	12,8
Matières grasses (%)	2,7	3,6	2,5
Cellulose brute (%)	16	14,2	27
Amidon (%)	11	14	6.5

Tableau 2. Effet du programme alimentaire sur la prolificité et le poids de portée (essai n° 1)

bande		RE	P1	lot	bande	Lot*bande	ETR
1 à 3	Nés totaux	10,5	10,7	P=0.443	P=0.173	P=0.934	2.6
	Nés vivants	9,6	9,6	P=0.980	P=0.628	P=0.661	3.4
1	Nés totaux	10.2	10.5	P=0.452			2.2
	Nés vivants	9.2	9.5	P=0.637			2.9
2	Nés totaux	10.5	10.6	P=0.911			2.8
	Nés vivants	10.0	9.5	P=0.474			3.5
	Poids de portée à 1j (g)	726	713	P=0.486			89
	Poids de portée sevrage(g)	6973	6943	P=0.897			1077
3	Nés totaux	10.8	11.1	P=0.574			2.8
	Nés vivants	9.6	9.9	P=0.751			3.9

volonté (Aliment RM). Les caractéristiques nutritionnelles des aliments utilisés figurent dans le tableau 1. L'eau est distribuée à volonté pendant toute la durée de l'essai.

1.3. Données enregistrées

Les lapines sont pesées individuellement à 88, 99, 115 et 130 jours, puis lors des inséminations 1, 2 et 4 et mise-bas 1, 2 et 3 pour l'essai 1. Pour l'essai 2, elles sont pesées chaque semaine jusqu'à la première IA, puis à la première mise-bas et au sevrage correspondant.

Les performances en maternité sont suivies sur les trois premières bandes : taux de mise bas, nés totaux et nés vivants. Dans l'essai 1, les poids de portées à la mise bas et au sevrage, ainsi que le nombre de lapereaux sevrés sont enregistrés sur la deuxième bande. Dans l'essai 2, le nombre de sevrés est enregistré pour chacune des bandes.

1.4. Analyse statistique

Les taux de mise-bas sont comparés avec le test du chi². La prolificité, le nombre de sevrés et les poids de portée sont comparés grâce à une analyse de variance avec le programme alimentaire et le numéro de bande en facteur fixé. Le traitement statistique est réalisé avec le logiciel SPSS.

2. Résultats de l'essai 1

2.1. Effet sur le poids des lapines (figure 1)

Le programme alimentaire a eu un effet sur la croissance des lapines jusqu'à la première insémination ($p < 0.001$). Jusqu'à 130 jours, âge où les lapines rationnées passent à volonté, la croissance est plus lente avec le rationnement (lot RE). Ainsi à 130 jours, les lapines du lot P1 pèsent 335 g de plus que les lapines rationnées (lot RE). Cependant à la première IA, le poids des lapines est comparable dans

les 2 lots. La période d'alimentation à volonté pour le lot rationné (flushing) a permis une croissance compensatrice. A partir de la première insémination, et jusqu'à la quatrième, les poids sont comparables dans les 2 lots. Le programme alimentaire en précheptel n'a pas d'effet sur le poids des lapines une fois entrées en production.

2.2. Effet sur les performances de reproduction (tableaux 2 et 3)

Le taux de mise bas moyen sur les trois premières bandes est de 86,35%, la prolificité moyenne est de 10,6 nés totaux et 9,5 nés vivants par mise-bas. Il n'y a pas eu d'effet significatif du programme alimentaire ou du numéro de bande sur les résultats de ces trois premières bandes. L'interaction bande*traitement n'est pas significative. Les poids de portées enregistrés sur la bande 2 à 1 jour et au sevrage ne diffèrent pas non plus en fonction du programme alimentaire en précheptel.

Tableau 3. Effet du programme alimentaire sur le taux de mise-bas (essai n° 1)

	RE	P1	Statistiques
Bande 1	92,9%	87,1%	P = 0,260
Bande 2	77,4%	79,3%	P = 0,802
Bande 3	88,5%	92,5%	P = 0,479
Moyenne bandes 1 à 3	86,5%	86,2%	P = 0,924

3. Résultats de l'essai 2

3.1. Effet sur le poids des lapines (figure 2)

Jusqu'à 18 semaines il n'y a pas de différence significative observée sur la croissance des futures reproductrices. Lors de la semaine précédant l'IA, les lapines du lot RM sont alimentées à volonté. Elles ont une croissance significativement supérieure aux lapines recevant l'aliment précheptel à volonté depuis

Figure 1. Evolution du poids des lapines jusqu'à la 4^{ème} insémination

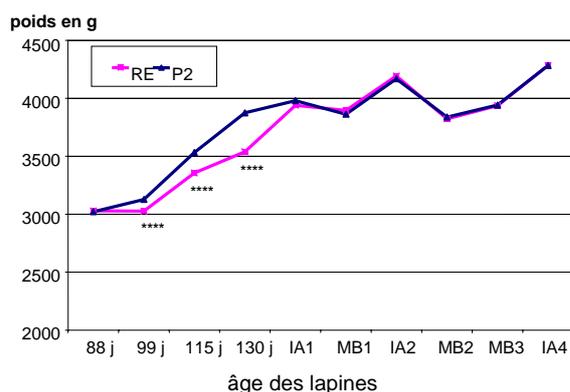
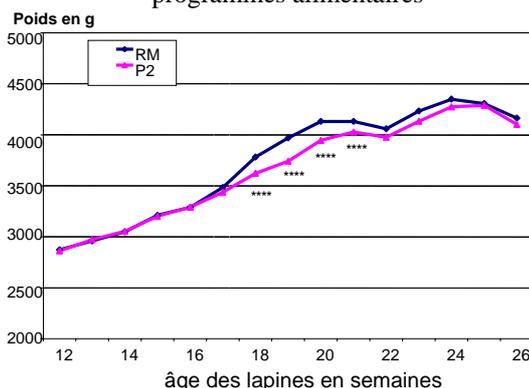


Figure 2. Evolution du poids en fonction des programmes alimentaires



le début de l'essai. La différence de poids à la première insémination est de 159 g. Cette différence se maintient jusqu'à la mise-bas, puis s'estompe. Dans le lot PE, les poids des lapines sont plus homogènes, l'écart type du poids à l'insémination est inférieur de 110g.

3.2. Effet sur les performances de reproduction (tableaux 4 et 5)

Tableau 4. Effet du programme alimentaire sur le taux de mise-bas (essai n° 2)

	RM	P2	Statistiques
Bande 1	75.9%	84.2%	p=0.274
Bande 2	67.3%	74.0%	p=0.467
Bande 3	78.7%	84.8%	p=0.45
Moyenne bandes 1 à 3	74.0%	81.0%	p=0.142

On observe une tendance favorable sur le taux de mise-bas dans le lot P2, avec une moyenne sur l'ensemble des trois bandes de 74% dans le lot RM et de 81% dans le lot P2 (p=0.142). Concernant l'effet sur la prolificité, il y a une interaction significative entre l'effet bande et l'effet traitement. En effet l'utilisation de l'aliment P a eu un effet favorable sur les nés totaux et les nés vivants des bandes 1 et 3, (effet significatif sur la bande 1, tendance sur la bande

3), mais un effet significativement défavorable sur la bande 2.

Les poids de portées sont améliorés de façon significative sur la bande 1 avec l'aliment P, il n'y a pas de différence significative sur les bandes 2 et 3.

4. Discussion

Il s'agit ici, non pas de comparer les résultats entre essais dans la mesure où les facteurs d'environnement varient, mais de s'intéresser pour chaque essai à la différence entre les 2 traitements.

4.1.. Effet sur la croissance des futures reproductrices

La distribution à volonté d'un aliment précheptel de faible niveau énergétique a permis d'obtenir dans le premier essai un poids à la première insémination comparable au poids obtenu avec le rationnement, et dans le second essai un poids inférieur. Ces résultats confirment les résultats de Verdelhan *et al.* (2003) qui ont montré qu'un niveau énergétique de l'aliment précheptel compris entre 1330 et 1550 kcal/kg permet de limiter le poids à la première IA par un rationnement énergétique mais non volumétrique.

Dans les 2 essais présentés ici, à la fin du premier cycle les poids de lapines sont identiques. On observe cependant une accélération de la croissance lors de la semaine de mise à volonté dans le lot rationné, tandis

Tableau 5. Effet du programme alimentaire sur la prolificité et le poids de portée au sevrage (essai n° 2)

bande		RM	P2	lot	bande	Lot*bande	ETR
1 à 3	Nés totaux	8.1	8.3	P=0.602	P<0.001	P=0.008	2.6
	Nés vivants	7.5	7.9	P=0.408	P<0.001	P=0.002	2.5
	Poids portée au sevrage (g)	6897	7067	P=0.484	P<0.001	P=0.142	1219
1	Nés totaux	7.3	8.1	P=0.088			2.3
	Nés vivants	5.9	7.4	P=0.024			3.0
	Poids portée au sevrage (g)	6000	6580	P=0.025			1130
2	Nés totaux	8.3	6.9	P=0.027			2.5
	Nés vivants	8.2	6.7	P=0.014			2.6
	Poids portée au sevrage (g)	6952	6710	P=0.539			1452
3	Nés totaux	9.0	10	P=0.122			2.9
	Nés vivants	8.8	9.8	P=0.119			2.8
	Poids portée au sevrage (g)	8183	8227	P=0.881			1066

que la croissance est plus régulière dans le lot alimenté à volonté sur l'ensemble de la préparation. Les écarts de performances observés dans le deuxième essai, bien qu'observés uniquement dans cet essai, incitent à se poser la question de l'effet de la vitesse de croissance en précheptel sur les performances en maternité. La forte augmentation d'énergie ingérée pendant la période de mise à volonté permet-elle une mise en place optimale des différents tissus de la lapine, et notamment des tissus de reproduction ou favorisent-elle les dépôts graisseux ? Une adaptation des plans de rationnement en précheptel, tenant compte de l'augmentation des besoins énergétiques entre 11 et 18 semaines afin de faire face à la mise en place des tissus de reproduction pourrait également permettre une amélioration des performances en maternité, et peut-être aussi de la longévité des lapines.

4.2. Effet sur les performances et l'efficacité alimentaire

L'effet du rationnement sur la fertilité et la prolificité ne fait pas l'unanimité dans la littérature. Ainsi la diminution de fertilité et de prolificité observée dans le second essai a été mise en évidence par Lebas (1985) sur des lapines en saillie naturelle, mais Rommers *et al.* (2004) ont observé le résultat contraire. Dans ces deux publications cependant, les aliments distribués à volonté étaient beaucoup plus énergétiques que l'aliment précheptel utilisé ici et les poids des lapines à la première insémination (ou saillie) étaient plus élevés avec l'aliment à volonté. Rommers *et al.* (2004) notent également une amélioration de la capacité laitière dans le lot rationné, avec un poids de portée supérieur lorsque les lapines ont été rationnées en précheptel. Cette amélioration s'explique par une augmentation de la consommation alimentaire des jeunes lapines et par une faible quantité de réserves corporelles sous forme de dépôt adipeux. Dans une autre publication Nizza *et al.* (1997) observent une augmentation des capacités d'ingestion et laitière pour les lapines ayant reçu à

volonté un aliment très fibreux. Ainsi l'utilisation d'un aliment précheptel très peu énergétique pourrait permettre à la fois d'augmenter la capacité d'ingestion des lapines en production et, grâce au rationnement énergétique, d'améliorer leur efficacité alimentaire.

Conclusion

L'utilisation d'un aliment très peu énergétique distribué à volonté en précheptel testé sur deux souches différentes a permis d'obtenir des résultats comparables, voire meilleurs, au rationnement de l'aliment. La croissance des futures reproductrices est plus régulière, et les poids à la première insémination sont plus homogènes. Un tel aliment constitue donc une alternative satisfaisante au rationnement du précheptel, particulièrement lorsque le rationnement est difficile à mettre en place de façon précise ou trop coûteux en temps de travail. Enfin, les deux essais réalisés montrent qu'une connaissance plus précise des besoins nutritionnels de la lapine entre 11 et 18 semaines et une adaptation des plans de rationnement pourrait permettre d'améliorer la productivité en maternité.

Références

- COUDERT P., LEBAS F., 1984. Effets du rationnement alimentaire avant et pendant la première gestation sur la productivité et la morbidité des lapines reproductrices. *World Rabbit Congress*, 131-140.
- LEBAS F., 1985. L'alimentation des lapines futures reproductrices, *Cuniculture* n° 63 – 12, 159-164.
- NIZZA A., DI MEO C., ESPOSITO L., 1997. Influence of the diet used before and after the first mating on reproductive performance of rabbits does. *World Rabbit Sci.*, 5, 107-110.
- ROMMERS J.M., MEIJERHOF R., NOORDHUIZEN J.P.T.M., KEMP B., 2004. Effect of feeding program during rearing and age at first insemination on performances during subsequent reproduction in young rabbit does. *INRA, EDP Sciences*, 321-331.
- VERDELHAN S., BOURDILLON A., MOREL-SAIVES A., 2003. Effet de la distribution d'aliments à faibles teneurs en énergie sur l'ingestion et la croissance des lapines de 10 à 19 semaines. *10 èmes Journ. Rech. Cunicole*, nov 2003, 85-88.

Effets d'une stratégie alimentaire associant deux aliments énergétiques sur les performances des lapines et de leurs portées

S. MONTESSUY, N. FERCHAUD, J-L. MOUSSET, S. REYS

Techna, B.P 10, 44220 Couëron, France.

Résumé – Afin de trouver une réponse nutritionnelle adaptée aux lapines et à leurs portées, 2 programmes ont été comparés durant 3 cycles de reproduction. Le lot témoin correspond à la combinaison classique utilisée dans les élevages pour privilégier la sécurité digestive (aliments Maternité et Engraissement). Le lot Essai associe 2 aliments énergétiques (Allaitante et Présevrage-Gestation) avec pour objectif d'extérioriser le potentiel de croissance des lapereaux avant sevrage, sans pénaliser ni leur viabilité ni les performances zootechniques des lapines. Sur l'ensemble des 3 cycles, fertilité, prolificité, poids des lapines et mortalité naissance-sevrage sont comparables entre les 2 lots. Le programme essai a un effet significatif sur le poids moyen des lapereaux : +28,4g/lapereau à 18 jours d'âge, +44,2g/lapereau à 35 jours d'âge ($p < 0.001$).

Abstract – **Effects of feeding strategy based on high energy diets on rabbit does and their litters performances.** In order to find an adapted nutritional response to does and their litters, two feeding programs were compared during three reproduction cycles. Control group is fed with a standard program used in rabbit farms to increase digestive safety (mother and weaning feed). Trial group combines 2 energetic feeds (lactation and pregnancy-weaning feed) in order to express growth potential of young rabbits before weaning, without impairing neither their viability nor the zootechnical performance of does. During all the three cycles, fertility, prolificacy, does weight and mortality between birth and weaning were similar for both groups. Trial group shows a significative effect on mean weight of rabbits : +28,4g/rabbit at 18 days old, +44,2g/ rabbit at 35 days old ($p < 0.001$).

Introduction

Les besoins nutritionnels de la lapine et des lapereaux sont différents. Ainsi, selon le contexte de l'élevage, le programme alimentaire adopté privilégie soit les besoins de production des mères (lactation-gestation) soit la sécurité digestive des lapereaux.

Gidenne (1997) émet l'hypothèse que les troubles digestifs des lapins autour du sevrage sont la conséquence d'une perturbation dans le développement du système digestif, due à l'ingestion d'aliment inadapté. Fortun-Lamothe (2001) décrit que la stratégie alimentaire qui donne les meilleurs résultats est la distribution séparée d'un aliment spécifique femelles et d'un autre pour les jeunes.

Pour répondre aux attentes technico-économiques des éleveurs, il convient d'étudier des programmes alimentaires susceptibles d'extérioriser le potentiel de croissance des lapereaux avant le sevrage, tout en maintenant leur viabilité sans pénaliser les performances zootechniques des femelles.

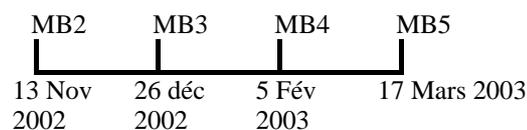
L'objectif de cette étude est de comparer 2 programmes alimentaires à deux aliments : le programme témoin correspond à une combinaison classique utilisée dans les élevages pour limiter les troubles digestifs ; le programme essai associe deux aliments énergétiques : l'un pour la lactation et l'autre pour la période présevrage-gestation. Cette étude est faite dans le prolongement d'un essai déjà publié en 2004 (Montessuy *et al.*) et qui visait à mesurer l'effet d'un programme haute énergie sur les performances des lapines et des lapereaux.

1. Matériel et méthodes

1.1. Animaux

Deux groupes de 41 femelles sont formés pour mesurer l'influence de 2 programmes alimentaires sur les paramètres zootechniques et sanitaires en maternité. La comparaison se fait pendant 3 cycles de reproduction successifs avec un intervalle mise-bas de 42 jours (figure 1). L'essai est réalisé dans le cadre du GIE Euronutrition sur 2 lots de femelles (souche Hyplus) mises en lot lors de la palpation de leur deuxième IA. Le suivi démarre après la 2^{ème} MB.

Figure 1 : planning de l'essai (MB= mise-bas)



1.2. Programme alimentaire (tableau 1)

Tableau 1 : Programme alimentaire

Régime	Témoin	Essai
-2 j à 18 jours	Maternité	Allaitante
18 j à 28 jours	Maternité	Présevrage
28 j à 35 jours	Engraissement	Présevrage
35 j à -2 jours	Maternité	Présevrage

- Lot Témoin :

De 35 jours post mise-bas à 28 jours après la mise-bas suivante, aliment maternité.

De 28 jours après la mise-bas jusqu'à 35 jours, aliment engraissement.

Tableau 2 : caractéristiques des aliments expérimentaux

Aliment	Témoïn		Essai	
	Maternité	Engraissement	Allaitante	Présevrage
ED INRA (kcal/kg)	2460	2250	2700	2500
Matières grasses (%)	3,5	4,3	5,9	4,7
Protéines Brutes (%)	17,3	15,0	17,5	16,5
Cellulose Brute (%)	16,7	21,1	14,8	17,0
Amidon (%)	12,0	10,0	18,0	12,0
Matières minérales (%)	8,4	7,5	7,8	8,0

- Lot Essai :

De 2 jours avant la mise-bas jusqu'à 18 jours après, aliment allaitante.

De 18 jours après la mise-bas jusqu'à 2 jours avant la mise-bas suivante, aliment présevrage.

1.3. Aliments

Les aliments fabriqués sont granulés avec un diamètre de 3,25mm et sont distribués à volonté. Les caractéristiques de formulation sont données dans le tableau 2. Les aliments sont supplémentés avec de la tiamuline et contiennent un anticoccidien (robénidine).

1.4. Contrôles

Les lapines sont pesées individuellement à la mise-bas, à 11, 18, 28 et 35 jours à chaque cycle. Les portées de lapereaux sont pesées à 1, 11, 18, 28 et 35 jours d'âge. Le taux de mise-bas est mesuré sur les bandes 3, 4 et 5. Celui de la bande 2 n'est pas pris en compte.

1.5. Analyse statistique

L'effet du lot est testé par bande ; puis toutes bandes confondues, l'effet lot, l'effet bande et leur interaction sont testés.

Dans chaque cas, les données ont été soumises aux analyses suivantes : test du khi2 pour les taux de mise-bas et de mortalité ; test de rang (Mann-Whitney) pour les performances de mise-bas ; modèle linéaire général univarié (GLM) pour les poids.

Aucune d'interaction lot-bande n'a été constatée.

Le traitement statistique est effectué avec le logiciel SPSS.

2. Résultats et discussion

2.1. Taux de mise-bas

La valeur moyenne du taux de mise-bas pour l'ensemble des bandes est de 88,8% pour le lot témoin contre 87,9% pour le lot essai (NS). Il n'y a donc pas d'effet du niveau énergétique de l'aliment sur le taux de fertilité comme cela a déjà été démontré dans d'autres publications (Lebas et Fortun-Lamothe, 1996 ; Maertens, 1998).

2.2. Prolificté

Le nombre moyen des nés totaux est de 10,98 pour le lot témoin vs 11,27 pour le lot essai. Il n'y a pas d'effet significatif du programme alimentaire sur la prolificité et la mortinatalité moyenne sur les 3 bandes.

2.3. Mortalité des lapereaux

Sur la mortalité entre la naissance et le sevrage, aucune différence significative n'est observée : 4,19% sur le lot témoin vs 3,85% sur le lot essai.

2.4. Poids des femelles et des lapereaux

La comparaison du poids moyen des femelles sur l'ensemble des bandes à chaque pesée ne laisse apparaître aucune différence significative entre les deux lots. A 18 jours notamment, la moyenne des poids des femelles du lot témoin est de 4381,9g versus 4424,0g pour le lot essai.

En parallèle, le suivi des poids de portée montre des différences hautement significatives : à 18 jours, la moyenne des poids de portées sur les 3 bandes est de 3099,6g pour le lot témoin vs 3395,6g pour le lot essai (+9,5% ; $p < 0,001$). La différence de poids se poursuit jusqu'à 35 jours de manière significative : 8808,6g pour le lot témoin vs 9287,3g pour le lot essai (+5.5% ; $p < 0,05$).

A 18 jours, le poids des lapereaux du lot essai est supérieur de 28,4g soit une augmentation de 8% par rapport au lot témoin. Avant 18 jours d'âge, les lapereaux ont une alimentation lactée exclusive et leur poids est fortement corrélé avec la production laitière de leur mère. Par conséquent, la production laitière des femelles serait plus élevée lorsqu'elles consomment l'aliment « allaitante » au début de la lactation. Ce résultat a déjà été décrit par Maertens et De Groote (1988).

Les poids des lapereaux au sevrage sont significativement plus élevés pour le lot essai : 937,0g vs 892,8g ($p < 0,001$) soit une augmentation de 44,2g. Sur la période 18-28 jours, les lapins du lot témoin nourris avec l'aliment maternité ont une croissance compensatrice par rapport aux lapins du lot essai qui

Tableau 3 : Principaux résultats

	MB2			MB3			MB4		
	T	E		T	E		T	E	
Nombre de femelles	41	41		39	39		38	36	
Poids des femelles à la mise-bas (g)	3953,2	3949,9	NS	4062,1	4071,5	NS	4162,5	4169,2	NS
Poids des lapines 18 jours après MB	4277,8	4359,2	NS	4383,4	4399,2	NS	4499,0	4524,7	NS
Nombre de portées	40	41		36	36		33	34	
Mortalité naissance – sevrage (%)	2,25	1,71	NS	3,61	4,17	NS	6,89	5,88	NS
Poids des portées (g)									
à 1 jour (après adoption)	750,1	761,4	NS	834,0	867,0	NS	849,6	846,8	NS
Nombre de portées	40	41		36	36		33	34	
Nombre de lapins par portée	10	10		10	10		11	11	
à 11 jours	1964,5	2146,8	***	2013,1	2221,9	***	2177,6	2285,5	NS
à 18 jours	2959,0	3283,9	***	3110,4	3460,2	***	3258,4	3461,9	**
à 28 jours	5282,7	5547,4	*	5479,2	5671,6	NS	5576,7	5733,7	NS
à 35 jours	8494,1	9179,8	***	8985,5	9231,9	NS	8996,7	9475,4	NS
	NS= non significatif			* = p<0,05			** = p<0.01		
				*** = p<0.001					

reçoivent l'aliment présevrage : le GMQ est de 24,2 g/j et 23,0 g/j respectivement (p<0,05) pour le lot témoin et le lot essai sur la période 18-28 jours.

De 28 à 35 jours, la croissance des lapins du lot essai (aliment présevrage) est de 53,1 g/j vs 49,2 g/j (p<0,001) pour les lapins du lot témoin (aliment engraissement).

Conclusion

Cette étude a été réalisée dans l'objectif de mesurer les effets d'un programme alimentaire bi-phase riche en énergie sur les performances des lapines et de leurs portées. Les résultats obtenus démontrent que cette stratégie alimentaire est bénéfique à la croissance des lapereaux avant sevrage, sans effet sur la mortalité. Les autres paramètres mesurés (taux de mise-bas, performances et poids des lapines,...) sont restés comparables à ceux du lot témoin. Le suivi des lapins en engraissement n'a pas été réalisé, néanmoins, la bibliographie montre que la croissance des lapins en engraissement est moins favorable pour des lapins plus légers au sevrage. (Lebas, 1973 ; Xiccato, 2003).

Références

FORTUN-LAMOTHE L., GIDENNE T., CHALAYE F., DEBRAY L., 2001. Stratégie d'alimentation autour du sevrage chez le

lapin: effet du ratio amidon/fibres. *9èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Paris (France) : 195- 198.

GIDENNE T., 1997. Caeco-colic digestion in the growing rabbit: impact of nutritional factors and related disturbances. *Livestock Production Science*, Vol 51, 73-88.

LEBAS F., FORTUN-LAMOTHE L., 1996. Effects of dietary energy level and origin (starch vs oil) on performance of rabbits does and their litters: average situation after 4 weanings. *6th World Rabbit Congress*, Toulouse (France), Vol. 1: 217-222.

LEBAS F., 1973. Effet chez le lapin du poids au sevrage sur les performances de croissance ultérieures. *Journées de Recherche Avicole et Cunicole*, Paris (France) 63-65.

MAERTENS L., DE GROOTE G., 1988. The influence of the dietary energy content on the performances of post-partum breeding does. *4th World Rabbit Congress*, Budapest (Hungary), Vol. 1: 42-52.

MAERTENS L., 1998. Fats in rabbit nutrition : a review. *World Rabbit Science*, Vol 6 (3-4), 341-348.

MONTESSUY S., MOUSSET J.L., FERCHAUD N., 2004. Effect of a specific feeding program based on high energy lactation and pregnancy diets on rabbit does and young rabbits performances. *8th World Rabbit Congress*, 140.

XICCATO G., TROCINO A., SARTORI A., QUEAQUE P.I., 2003. Effet de l'âge, du poids de sevrage et de l'addition de graisse dans l'aliment sur la croissance et la qualité bouchère chez le lapin. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Paris (France) : 13- 16.

