

Reproduction et Physiologie de la Reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture

Thierry JOLY , Michèle THEAU-CLÉMENT^(*)

ISARA-FESIA, 31 place Bellecour - 69288 Lyon Cédex 02

* INRA-Station d'Amélioration Génétique des Animaux, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan Cédex

La session de reproduction, présidée par José Vicente (Professeur à l'Université Polytechnique de Valencia, Espagne) a permis de faire le point sur les connaissances acquises ces dernières années afin de poursuivre le développement de l'utilisation de l'insémination artificielle (IA) et de faciliter la mise en oeuvre de cette technique dans les élevages. Au total, 3 articles de synthèse et 30 publications (8 communications orales et 22 posters) ont été présentés portant sur 3 axes principaux :

- les performances de reproduction du mâle (1/3 des articles) ;
- la maîtrise de la fécondation chez la lapine : biostimulation, induction de l'ovulation, antagonisme lactation-reproduction (1/3 des articles) ;
- les biotechnologies de la reproduction et leurs perspectives d'application chez le lapin (1/4 des articles).

1- Performances de Reproduction du Mâle

Une des caractéristiques de la semence de lapin est la faible concentration spermatique de l'éjaculat et sa variabilité (500 millions/ml en moyenne) ce qui permet en pratique l'insémination de 10 à 30 femelles par mâle et par jour de collecte. Ce coefficient de diffusion, faible par rapport aux autres espèces domestiques inséminées, représente un frein à un plus large développement de l'insémination artificielle dans l'espèce lapin. Cependant, bien que l'insémination soit à la base des modifications de la conduite des élevages rationnels, peu de travaux portent sur la conduite des mâles, sur les facteurs d'influence de la production de la semence, ni sur la recherche de méthodes plus objectives de son évaluation. Les principales publications de ces 10 dernières années sont présentées et analysées dans l'article de synthèse d'Alvarino J.M.R (Université Polytechnique de Madrid).

Quels sont les facteurs d'influence de la composition de la semence?

Le type génétique et l'âge

Les caractéristiques biologiques de la semence (volume, concentration, motilité, altérations morphologiques...) sont très variables entre et intra races, mais en moyenne les valeurs de ces paramètres augmentent avec l'âge des mâles collectés (de 5 mois à 24 mois) ainsi que les résultats de fertilité et de prolificité des femelles inséminées.

L'environnement physique

La spermatogenèse du lapin montre une variation saisonnière liée à la photopériode et à la température externe, l'activité étant maximale au printemps et minimale à l'automne. Pour des températures comprises entre 13°C et 26°C, peu de variations sont observées sur les caractéristiques de la semence d'après Nizza A. Par contre, pour des températures élevées

supérieures à 30°C, température fréquente en été pour des élevages en semi plein air, la supplémentation en zinc dans la ration alimentaire (245 mg ZnSO₄, soit 100 mg Zn/kg) permet de limiter la baisse de production de spermatozoïdes observée en automne (+ 31 10⁶ spermatozoïdes par rapport au témoin) d'après Mocé E. Le zinc est un oligo-élément qui influence directement la synthèse des hormones gonadotropes de l'axe hypothalamo-hypophysaire et stéroïdiennes (androgène et testostérone). Cependant, bien que les mâles semblent capables de s'adapter en quelques semaines à un stress thermique (tous les jours : 22 heures à 32°C et 2 heures à 25°C), la quantité et la qualité de la semence produite sont extrêmement sensibles à de fortes chaleurs couplées à une forte hygrométrie (85 % pendant 6 semaines, d'après Finzi A.). En effet, les caractéristiques de la semence ne retrouvent jamais leurs valeurs initiales.

L'alimentation

L'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculat, de la concentration en spermatozoïdes ainsi qu'un abaissement des performances de reproduction des femelles inséminées (d'après Nizza A.). La supplémentation en vitamines liposolubles de type A, D₃, E d'un aliment standard couvrant les besoins des mâles ne permet pas d'améliorer la quantité et la qualité de la semence produite (nombre de spermatozoïdes, volume, concentration, anomalies morphologiques) (d'après Mocé E.), ni le comportement sexuel du jeune mâle (d'après Lavara R.). Par contre, l'association des 2 vitamines C et E modifie le statut oxydatif des mâles et les caractéristiques de la semence. La supplémentation en alpha tocophérol (200 mg/kg) et en acide ascorbique (1 g/litre de boisson) devrait permettre une meilleure résistance aux stress osmotiques et oxydatifs et en conséquence, une meilleure aptitude à la congélation de la semence (d'après Castellini C.).

Comment maximiser la production de paillettes de semence ?

Il est regrettable qu'il n'y ait pas plus de travaux portant sur la conduite des mâles et sur les conditions influençant la production spermatique dans ses aspects quantitatifs et qualitatifs.

La fréquence des collectes

Bien que la production de sperme soit très variable entre les mâles et selon les éjaculats pour un même mâle, la fréquence des collectes influence directement la quantité et la qualité de la semence, donc le nombre théorique de femelles inséminées par éjaculat, et les performances de reproduction. Un rythme de collecte trop intense altère la spermatogenèse (augmentation du nombre de spermatozoïdes immatures) et diminue les résultats de fertilité. Arroita Z. confirme que la concentration et le nombre de doses d'insémination produites (sur la base de 0,5 ml contenant 15 millions de spermatozoïdes) par éjaculat décroît quand la fréquence de collectes augmente (1 jour, 2 jours, 3 jours de collecte de 2 éjaculats successifs). Si le nombre de doses produites par semaine est plus élevé pour les rythmes intensifs, l'auteur ne conclue pas sur la meilleure adéquation entre la production de semence hebdomadaire et la quantité de travail pour l'obtenir.

Le taux de dilution

Généralement, les doses d'insémination diffusées contiennent entre 20 et 30 millions de spermatozoïdes. Il semble cependant possible de réduire le nombre de spermatozoïdes jusqu'à 8 millions par dose dans 2 dilueurs commerciaux sans affecter la fertilité (66%) ni la prolificité (10,2) des lapines. Cet essai a porté sur plus de 2100 femelles, élevées dans des conditions de terrain. Ces lapines étaient généralement réceptives, (observation de la couleur de la vulve 48 heures avant l'insémination et injection de 12 UI de PMSG pour les non-réceptives) (d'après Lavara R.). Le nombre optimal de spermatozoïdes par dose varie selon les types génétiques des mâles. En effet, une insémination avec une dose faible de 6 millions de spermatozoïdes entraîne pour certaines lignées de mâle une diminution des caractéristiques de la semence et une diminution de la prolificité des femelles multipares (9,4 vs 10,9, d'après Vicente J.).

2- Maîtrise de la fécondation chez la lapine

La maîtrise de la fécondation est l'aspect prépondérant qui conditionne la réussite de l'insémination artificielle chez la lapine. Contrairement aux autres espèces domestiques, une lapine qui n'est pas en oestrus (non-réceptive) au moment de l'insémination est quand même capable de se reproduire. Cependant son niveau de performances est très altéré : respectivement 4,1 vs 11,0 œufs segmentés par insémination réalisée (Theau-Clément M.). De nombreux travaux ont été menés avec succès afin d'induire et de synchroniser l'oestrus des lapines en utilisant des méthodes hormonales (principalement PMSG). Cependant, afin de répondre aux attentes des consommateurs et à l'évolution prévisible de la réglementation européenne concernant les hormones exogènes, la filière cunicole doit s'orienter de plus en plus vers des pratiques d'élevage qui excluent l'utilisation des hormones gonadotropes. L'objectif est de présenter aux consommateurs la viande de lapin comme une production saine et « naturelle » respectant le bien-être de l'animal même s'il semble très difficile aujourd'hui de proposer des méthodes permettant de quantifier le bien-être du lapin. Ces méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones permettant d'induire et de synchroniser la réceptivité des lapines au moment de l'insémination, sont appelées les « biostimulations ».

Depuis le dernier Congrès Mondial de Cuniculture à Toulouse (1996), les principales publications concernant les biostimulations étudiées chez la lapine sont rapportées dans l'article de synthèse de M. Theau-Clément (INRA-SAGA, Toulouse). Il faut souligner le travail important réalisé ces dernières années par l'International Rabbit Reproduction Group autour de ce thème.

Quelles sont les approches de biostimulation applicables en élevage?

La manipulation des animaux

La manipulation des animaux (changement de cage, regroupement de plusieurs femelles dans une même cage avant l'insémination...) n'améliore pas toujours la productivité des lapines. En effet, les conclusions de différents auteurs utilisant les mêmes méthodes peuvent être opposées. Cependant, au cours de ce congrès, Rodriguez de Lara R. a montré que le regroupement des femelles dans une même cage durant 8 heures avant l'insémination permet d'améliorer la prolificité des femelles nullipares. Il reste que ces méthodes sont très consommatrices en temps de travail et difficiles à mettre en oeuvre dans les élevages.

Effet du mâle

Dans différentes situations physiologiques, la présence du mâle influence l'équilibre hormonal et le comportement des femelles des espèces ongulées : l'introduction du mâle dans un troupeau peut être une méthode efficace de contrôle de la reproduction. Chez la lapine, ce pourrait être une méthode alternative aux méthodes hormonales pour induire la réceptivité. Dans un travail préliminaire, l'introduction d'un mâle parmi des femelles, 4 jours avant l'insémination n'a modifié ni la réceptivité ni la fertilité des femelles (Kustos K).

La séparation mère - portée

Une séparation courte de 36 à 48 heures entre la mère et ses lapereaux (fermeture de la boîte à nid) pourrait être une alternative intéressante aux traitements hormonaux de synchronisation de l'œstrus. En effet, quand cette stimulation est appliquée juste avant l'insémination, dans les conditions d'un allaitement libre de la portée avant et après la stimulation et l'insémination, la fertilité est améliorée, ce qui entraîne un gain de productivité au sevrage de + 9 à + 28 % (gain de poids de lapereaux sevrés/ insémination, en comparaison avec un témoin non stimulé). En effet, Bonnano a démontré que l'allaitement libre est plus efficace que l'allaitement contrôlé, avant et après 48 heures de séparation mère-lapereaux, pour améliorer la productivité au sevrage (28 % vs 7 %, respectivement). Ubilla observe qu'une séparation ponctuelle de la mère et ses produits, augmente le pourcentage de lapines réceptives, et augmente le taux plasmatique des oestrogènes. Par contre, vraisemblablement lié à des effectifs d'animaux faibles (14 femelles par lot), Rebollar P.G. ne retrouve pas l'effet positif d'un traitement hormonal (25 UI PMSG) ni d'une séparation mère-portée pendant 48 heures.

L'alimentation

Le flushing consiste à augmenter le niveau alimentaire (ou niveau énergétique) juste avant la saillie ou l'insémination. Le flushing est très utilisé pour améliorer les performances de reproduction d'espèces d'intérêt zootechniques telles que : brebis, cochettes, ... Cependant chez le lapin, peu de travaux ont été menés pour étudier les conséquences du déficit énergétique sur les performances de reproduction, particulièrement pour les femelles multipares en lactation.

Les travaux de Luzi F. ont permis de comparer un traitement hormonal classique (25 UI PMSG, 60 heures avant IA) avec un flushing énergétique basé sur l'incorporation du 1,2 propanediol dans l'eau de boisson (2% dans l'eau pendant 5 jours avant l'insémination). Les résultats n'ont montré aucune différence significative sur la fertilité des femelles et le taux de mortalité des lapereaux au sevrage; cependant les lapines traitées avec le propanediol étaient en meilleur état physique (poids, gain moyen quotidien, ...). Mieux maîtrisée, cette biostimulation, basée sur un court flushing énergétique pourrait représenter une voie alternative à l'utilisation d'hormone pour induire l'œstrus. De plus, cette méthode peu coûteuse est facile à mettre en oeuvre en élevage et semble compatible avec le notion de bien être animal chez le lapin.

L'utilisation de vitamines et d'oligo-éléments permettrait de surmonter l'antagonisme entre le début de lactation et la fonction de reproduction. L'injection d'un complexe vitaminique (B₁, B₂, B₆, B₁₂) et de minéraux (K, Mn, Fe) 2 jours avant l'insémination ne modifie pas les performances de reproduction mais permet d'améliorer les conditions physiques des lapines et le poids des lapereaux au sevrage (d'après Maertens L.).

La photopériode

L'activité sexuelle de la lapine, espèce naturellement saisonnée, est liée à la durée de la lumière du jour. Cependant, on peut regretter l'absence de travaux utilisant des modifications de programmes lumineux comme stimulation avant l'insémination. En effet, les programmes

lumineux sont faciles d'application et ne demandent pas de main d'œuvre importante. Ils seraient d'autant plus efficaces dans le cadre d'une conduite en bande, dans la mesure où dans une même cellule d'élevage, toutes les lapines sont au même stade physiologique.

Comment déclencher l'ovulation chez la lapine?

La lapine est une espèce à ovulation induite par le coït. Cette stimulation naturelle doit être remplacée dans le cas de l'insémination par une injection d'hormone (GnRH ou hCG). La dose de Réceptal (Labo HOECHST Roussel Vet) jusque ici conseillée est de 0,2 ml (0,4 µg buséréline). Perrier G a montré qu'une injection de 0,1 ml n'entraîne pas de diminution de performances de reproduction des primipares et des multipares.

Cependant, d'autres méthodes alternatives peuvent être proposées : l'utilisation d'un mâle vasectomisé au moment de l'insémination (Khalifa RM) ou une injection intraveineuse d'acétate de cuivre capable d'induire une décharge de LH (Kishk W). Il convient de préciser que ces méthodes ne sont pas vulgarisables car respectivement trop chronophages ou insuffisamment testées.

Antagonisme lactation-reproduction, pseudogestation

Theau-Clément a confirmé l'influence du stade de lactation sur les capacités reproductives des lapines primipares 24 heures après l'insémination et plus généralement, l'antagonisme entre les fonctions de lactation et de reproduction. Il faut souligner que 20 % des primipares étaient pseudogestantes au moment de l'insémination et avaient en conséquence des niveaux élevés de progestérone. Cette observation suggère des ovulations spontanées qui n'empêchent pas une nouvelle ovulation mais bloque complètement la fécondation. En effet, aucune des lapines ayant un niveau élevé de progestérone au moment de l'insémination n'a été fécondée. Cette observation est nouvelle, la fréquence et les causes de ce phénomène doivent être étudiées car ces lapines sont incapables de produire tant qu'elles sécrètent de la progestérone. Tout traitement hormonal ou biostimulation demeurent inefficaces.

Fortun-Lamothe a présenté une étude sur l'influence de l'intensité de la lactation (4, 7 et 10 lapereaux allaités) sur les performances de reproduction de la femelle conduite en rythme intensif (primipares accouplées 1 jour après la parturition ; intervalle mise bas de 37 jours sur 4 cycles de reproduction). L'allaitement d'une portée nombreuse de 10 lapereaux entraîne une diminution de la fertilité des femelles, du poids des lapereaux au sevrage et de la composition corporelle en tissu adipeux des femelles au sevrage, mais par contre augmenterait la taille de portée aux mises basses suivantes.

3- Biotechnologies de la reproduction et perspectives d'application dans la filière lapin

Le lapin est la seule espèce à être considérée à la fois comme animal domestique, animal de compagnie et animal modèle de recherche. Cette situation lui confère un statut particulier, notamment dans le domaine des biotechnologies de la reproduction, où l'essentiel des travaux sont pris en charge par le monde de la recherche médicale et de l'industrie pharmaceutique depuis plus d'un siècle (premier transfert embryonnaire réalisé en 1896 ; premier succès de fécondation *in vitro* en 1954). L'état des connaissances actuelles sur la production d'embryons, la congélation des cellules germinales, la multiplication et les transformations génétiques des

embryons est présenté dans l'article de synthèse de U. Besenfelder (Institut de biotechnologie animale, Tulln, Autriche).

Même si l'insémination est désormais largement appliquée en élevage, la maîtrise de la congélation de semence constitue un enjeu stratégique pour favoriser le développement de l'insémination artificielle. La méthode de congélation en pellets permet de diminuer les coûts de la cryocongélation par rapport à l'utilisation classique des paillettes, sans modifier les aptitudes fécondantes de la semence congelée (Awad MM.). Cependant, cette méthode doit être utilisée avec précaution en raison de l'augmentation des risques sanitaires et une traçabilité peu fiable.

Depuis près de 30 ans, la congélation des embryons de lapins est une technique bien maîtrisée. Cette dissociation spatio-temporelle entre la collecte et la remise en place des embryons facilite les échanges de matériel génétique avec un maximum de sécurité sur le plan sanitaire, mais aussi permet de préserver les ressources génétiques chez le lapin. Dans 2 articles, Garcia ML rapporte la recréation de 2 lignées synthétiques espagnoles à partir d'embryons vitrifiés exportés en Uruguay et montre l'intérêt des programmes de cryopréservation pour recréer des populations témoins de différentes générations de sélection.

Les perspectives futures portent essentiellement sur le clonage et la transgénèse. Dès à présent, il est important de considérer ces biotechnologies en association avec les connaissances de la cartographie du génome lapin, afin d'envisager les perspectives d'application de ces nouveaux outils dans les schémas de sélection du lapin.

4- Conclusion et perspectives

Face à une pression croissante des consommateurs, la sécurité alimentaire et le bien être animal sont des nouvelles exigences citoyennes importantes à prendre en compte par la filière cunicole.

De plus, l'évolution prévisible de la réglementation européenne sur l'utilisation des hormones nous engage à rechercher de nouvelles approches non hormonales pour induire l'oestrus. Ainsi, de nombreux travaux sur la biostimulation ont été publiés depuis le dernier congrès mondial de cuniculture à Toulouse en 1996, et la recherche sur ce thème devrait être activement poursuivie au niveau européen.

Une dernière remarque concerne la nécessaire ouverture des acteurs de la reproduction du lapin à d'autres disciplines scientifiques et humaines mais aussi à d'autres acteurs de la recherche dans le monde médical et pharmaceutique. Le programme COST 848 devrait favoriser les collaborations entre disciplines. En effet, l'Europe a souhaité encourager une approche pluridisciplinaire (pathologie, nutrition, reproduction, bien être, qualité de la viande et sécurité alimentaire) dont l'objectif est de garantir une production de lapins régulière, saine, économique afin de diffuser une viande de qualité produite en respectant le bien être animal.