

# Influence de l'intervalle entre le sevrage et le début d'un traitement de superovulation sur la production d'embryons et leur qualité chez la lapine

M. THEAU-CLÉMENT<sup>1</sup>, P. SALVETTI<sup>2</sup>, G. BOLET<sup>1</sup>,  
L. BODIN<sup>1</sup>, H. GARREAU<sup>1</sup>, J. FALIÈRES<sup>1</sup>, T. JOLY<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Université de Lyon, ENVL/ISARA-LYON, Unité CRYOBIO, 1, avenue Bourgelat, 69280 Marcy L'Etoile, France

**Résumé.** L'objectif de cet essai était d'observer si l'intervalle entre le début d'un traitement de superovulation des lapines et le sevrage des lapereaux, est susceptible d'influencer la production quantitative et qualitative des embryons. Vingt lapines de souche commerciale AGP22 (Grimaud Frères) issues de 3 générations de sélection divergente sur l'homogénéité intra-portée du poids des lapereaux à la naissance, sont utilisées pour cette expérimentation. Autour du sevrage de la 4<sup>ème</sup> portée, 10 lapines de la souche « hétérogène » et 10 lapines de la souche « homogène » reçoivent un traitement de superovulation (5 injections successives de pFSH à 12 heures d'intervalle). Douze heures après la dernière injection, les lapines sont inséminées. Les lapines des deux lignées sont réparties en 2 lots expérimentaux : début du traitement de superovulation le jour du sevrage (Lot 0) ou 5 jours après sevrage (Lot 5). De 65 à 72 heures après IA, les ovaires sont observés, les tractus génitaux sont perfusés. La lignée n'influence pas clairement la réponse au traitement de superovulation. Cependant, lorsque la 1<sup>ère</sup> injection est réalisée le jour du sevrage des lapereaux, la réponse ovarienne est supérieure (35,0 vs 24,4 corps jaunes, P=0,058). Le nombre d'embryons de qualité varie peu (15,7 et 12,4, respectivement pour les lots 0 et 5), cependant le nombre d'embryons fécondés mais dégénérés, est significativement plus faible (5,9 vs 1,5, P=0,044). Cette étude préliminaire montre donc que le stade physiologique des lapines autour du sevrage, influence la réponse à un traitement de superovulation ainsi que la production d'embryons de qualité.

**Abstract. Influence of the interval between weaning and the beginning of a superovulation treatment, on rabbit embryo production and their quality.** This experiment aimed at studying if the interval between weaning and the beginning of a superovulation treatment influences the rabbit embryo production and their quality. Twenty rabbit does of a commercial strain (AGP22, Grimaud Frères) coming from 3 generations of a divergent selection experiment on within litter homogeneity of birth weight were used. At weaning of the 4<sup>th</sup> litter, 10 does of the heterogeneous line and 10 does of the homogeneous line are injected to induce superovulation (5 successive injections in a 12 hours interval). Twelve hours after the last injection, rabbit does were inseminated. Does of both lines were distributed in 2 experimental groups : beginning of the treatment of superovulation the day of weaning (group 0) or 5 days after weaning (group 5). From 65 to 72 hours after insemination, the ovaries are observed and the genital tracts are flushed. The line clearly does not influence the response to the treatment of superovulation. However, when the 1st injection is carried out the day of the weaning of young rabbits, the ovarian response is higher (35,0 vs 24,4 corpora lutea, P=0,058). The number of embryos of quality varies little (15,7 and 12,4, respectively for groups 0 and 5), however the number of fertilized but degenerated embryos, is significantly weaker (5,9 vs 1,5, P=0,044). This preliminary study thus shows that the physiological stage of rabbit does around weaning influences the response to a treatment of superovulation as well as the production of embryos of quality.

## Introduction

La sauvegarde des ressources génétiques animales implique généralement l'utilisation de techniques de production et de congélation d'embryons. Afin de valoriser au maximum les potentialités des lapines donneuses d'embryons, un traitement de superovulation est généralement réalisé 68 à 72 heures avant l'insémination artificielle (IA). En effet, l'administration de FSH permet d'augmenter la croissance folliculaire et le nombre d'ovocytes ovulés (Besenfelder, 2000). Généralement, les lapines donneuses sont en fin de production, le traitement est donc initié à des moments variables après le sevrage des lapereaux.

Dans la phase *post partum*, des études ont mis en évidence une grande variabilité de production en fonction du stade de lactation des lapines abattues le

lendemain de l'IA (7,0 - 7,0 - 12,1 - 13,3 – et 13,6 œufs fécondés/IA, respectivement à 1, 4, 12, 19 jours post partum et 48 heures après sevrage, Theau-Clément *et al.*, 2000). Cette variabilité semble être le reflet d'un antagonisme partiel au niveau hypothalamo-hypophysaire, entre la prolactine et les hormones gonadotropes et d'un déficit énergétique, lié à la compétition entre les besoins pour la lactation et l'initiation d'une nouvelle gestation, en particulier chez les primipares (Boiti, 2004).

Au moment du sevrage, il est souvent parlé chez la lapine, d'un pic de réceptivité sexuelle, cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a précisément étudié au niveau ovarien la cinétique de l'établissement des vagues folliculaires, ni *in fine* la cinétique de l'évolution de la production des embryons.

L'objectif de cette étude préliminaire est d'observer si l'intervalle entre le début d'un traitement de superovulation des lapines et le sevrage des lapereaux est susceptible d'influencer la production quantitative et qualitative des embryons.

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1 Animaux et conduite d'élevage.

Vingt lapines issues de 3 générations de sélection divergente sur la variabilité intra-portée du poids des lapereaux à la naissance, à partir de la souche AGP22 (Grimaud Frères Sélection) sont utilisées pour cette expérimentation (Bolet *et al.*, 2007a et 2007b). Les animaux sont placés sous un éclairage artificiel continu de 16 heures de lumière par jour. Ils reçoivent quotidiennement un aliment commercial contenant 175g/kg de protéines et 145g/kg de fibres, ils sont nourris et abreuvés à volonté.

### 1.2 Dispositif expérimental.

Autour du sevrage de la 4<sup>ème</sup> portée, 10 lapines de la lignée sélectionnée pour augmenter la variabilité « hétérogène » et 10 lapines de la souche « homogène », sélectionnée pour diminuer cette variabilité, reçoivent un traitement de superovulation consistant en 5 injections (s.c.) successives de pFSH (Stimufol<sup>®</sup>, Replibiol, Belgique) à 12 heures d'intervalle. Douze heures après la dernière injection, les lapines sont inséminées avec de la semence fraîche, l'ovulation est induite par injection (i.m.) de 1,6 µg d'acétate de buséreline (Réceptal<sup>®</sup>, Intervet, France). Afin d'étudier autour du sevrage (28 jours), le moment optimal d'application du début du traitement de superovulation, les lapines des deux lignées sont réparties de manière comparable en 2 lots expérimentaux : début du traitement de superovulation le jour du sevrage (Lot 0) ou 5 jours après sevrage (Lot 5). Les lapines sont sacrifiées et les embryons sont collectés 65 à 72 heures après IA. L'observation des ovaires permet de dénombrer les corps jaunes, les follicules (de diamètre > 1mm), les follicules hémorragiques (de diamètre > 1mm). Les tractus génitaux sont isolés puis perfusés avec 20 ml d'Euroflush (IMV France), le perfusé est observé sous une loupe binoculaire pour dénombrer les œufs récoltés, les embryons de bonne qualité (Q1Q2), les embryons dégénérés (Q3) et les ovocytes (non fécondés).

### 1.3 Analyses statistiques.

Les nombres de corps jaunes, de follicules, de follicules hémorragiques, d'œufs récoltés, d'embryons Q1Q2, d'embryons dégénérés (Q3) et d'ovocytes ont été étudiés au moyen d'une analyse de variance à effets fixes (procédure GLM de SAS) en considérant l'effet fixé de la lignée (hétérogène ou homogène) et de l'intervalle entre la 1<sup>ère</sup> injection du traitement de superovulation et le sevrage des lapereaux (0 jour ou 5 jours). Une analyse préliminaire n'a pas mis en évidence d'interaction significative entre la lignée et le moment de

l'injection par rapport au sevrage, en conséquence, elle a été supprimée du modèle d'analyse. La fertilité (nombre de lapines ayant au moins un œuf fécondé/nombre de lapines traitées), le taux de collecte (nombre embryons + ovocytes/nombre de corps jaunes) et le taux d'embryons Q1Q2 (nombre d'embryons Q1Q2/nombre d'œufs collectés) considérés comme des variables de Bernoulli (variable 0-1) sont analysés selon le même modèle comme des variables continues classiques.

## 2. Résultats et discussion

Quels que soient la lignée ou l'intervalle entre la 1<sup>ère</sup> injection de FSH et le sevrage des lapereaux, toutes les lapines ont ovulé.

La lignée n'influence pas le nombre de follicules observés sur les ovaires. Les lapines de la lignée homogène ont une intensité d'ovulation supérieure à celles de la lignée hétérogène ( $32,0 \pm 15,3$  vs  $27,4 \pm 9,1$  corps jaunes), cependant la différence n'est pas significative. Le nombre d'œufs collectés, le taux de collecte ainsi que le nombre d'embryons de qualité et le nombre d'ovocytes ne varient pas significativement. En revanche, le nombre d'embryons dégénérés a tendance à être plus élevé pour les lapines de la lignée homogène ( $5,6 \pm 6,5$  vs  $1,8 \pm 2,7$ ,  $P=0,077$ ). Il est essentiellement le fait d'une lapine de la souche homogène qui a produit 18 embryons tous dégénérés. La fertilité n'est pas influencée par la lignée. Le taux d'embryons de qualité est plus élevé dans la lignée hétérogène ( $73,6 \pm 22,9$  % et  $61,7 \pm 27,7$  %), cependant la différence n'est pas significative. Cette étude ne met donc pas clairement en évidence d'effets génétiques importants, liés à la lignée. Cependant, l'effectif restreint du dispositif expérimental ne permet pas de conclure définitivement quant à l'effet d'une sélection pour l'homogénéité des poids à la naissance, sur la réponse à un traitement de superovulation.

Ni le nombre de follicules, ni le nombre de follicules hémorragiques de diamètre supérieur à 1 mm ne sont influencés par le stade physiologique des lapines autour du sevrage. En revanche, le nombre de corps jaunes et le nombre d'œufs récoltés sont significativement plus élevés quand la 1<sup>ère</sup> injection des FSH est effectuée le 1<sup>er</sup> jour du sevrage des lapereaux (respectivement  $35,0 \pm 13,8$  vs  $24,4 \pm 8,7$  corps jaunes,  $P=0,058$  et  $24,5 \pm 8,0$  vs  $16,2 \pm 7,6$  œufs récoltés,  $P=0,031$ ). Le stade physiologique des lapines au moment de la 1<sup>ère</sup> injection influence donc la réponse à un traitement de superovulation. En effet, quand la 1<sup>ère</sup> injection est réalisée le jour du sevrage, la réponse ovarienne est augmentée de 45,8 %. Le taux de collecte (74,7 %) n'est pas influencé par le stade physiologique des lapines au moment de l'administration de la FSH ( $76,0 \pm 28,5$  % et  $73,4 \pm 33,0$  %, respectivement pour les lots 0 et 5 jours). Le nombre d'embryons de qualité est plus élevé quand l'injection de FSH est réalisée le jour du sevrage, cependant la différence n'est pas significative ( $15,7 \pm$

**Tableau 1.** Influence de la lignée et du stade physiologique des lapines au moment de la 1<sup>ère</sup> injection de FSH d'un traitement de superovulation, sur la réponse ovarienne, la production d'embryons et leur qualité. Résultats de l'analyse de variance (moyennes estimées).

	N	Follicules		Corps jaunes	Œufs récoltés	Taux collecte (%)	Embryons		Ovocytes (%)	Fertilité (%)	Embryons Q1Q2 (%)
		Ø>1 mm	hémorragiques Ø>1 mm				Q1Q2	Q3			
Moyenne	20	4,9	5,0	29,7	20,4	74,7	14,1	3,7	2,6	95,0	67,6
R <sup>2</sup>		0,07	0,15	0,22	0,27	0,002	0,04	0,33	0,011	0,11	0,11
<b>Lignée</b>		NS	NS	NS	NS	NS	NS	T	NS	NS	NS
Hétérogène	10	5,6	5,7	27,4	18,9	74,5	14,3	1,8	2,8	100	73,6
Homogène	10	4,2	4,3	32,0	21,8	75,0	13,8	5,6	2,4	90,0	61,7
<b>Intervalle</b>											
<b>FSH-sevrage</b>		NS	NS	*	*	NS	NS	*	NS	NS	NS
0 jour	10	4,3	4,2	35,0	24,5	76,0	15,7	5,9	2,9	90,0	62,2
5 jours	10	5,5	5,8	24,4	16,2	73,4	12,4	1,5	2,3	100	73,1

Dans une même colonne, les estimées affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil 5%. T (tendance) : P<10%, \* : P<0,05%, \*\* : P<0,01%, \*\*\* : P<0,001%

8,8 vs 12,4 ± 7,9). En revanche, le nombre d'embryons dégénérés est significativement plus élevé (5,9± 6,7 vs 1,5 ± 1,4 P=0.044) pour des injections dès le jour du sevrage. En effet, pour ce lot, 3 lapines avaient plus de 5 embryons dégénérés (aucune dans le lot 5). Cependant, le nombre d'ovocytes n'est pas influencé par le positionnement de la 1<sup>ère</sup> injection de FSH par rapport au sevrage. Toutes les lapines ont été fécondées, une seule n'a produit que des embryons dégénérés 65 heures après l'IA. La fertilité n'est donc pas influencée par le moment du traitement de superovulation. Le taux d'embryons de qualité est plus élevé quand le traitement de superovulation commence 5 jours après sevrage, (73,1 ± 19,8 % vs 62,2 ± 30,2 %), cependant la différence n'est pas significative.

L'influence du stade physiologique des lapines dans la phase *post partum*, sur leurs performances de reproduction des lapines était connue (Theau-Clément *et al.*, 2007). Cette étude montre qu'autour du sevrage, le stade physiologique des lapines peut aussi influencer la réponse à un traitement de superovulation. En comparaison avec un début de traitement 5 jours après sevrage, les lapines pour lesquelles ce traitement démarre le jour du sevrage produisent un plus grand nombre de corps jaunes. Cependant, ce gain de productivité doit être nuancé du fait d'une proportion plus élevée d'embryons dégénérés. A notre connaissance, aucune étude n'a porté sur la cinétique des potentialités de reproduction des lapines autour du sevrage.

### Conclusion

Cette étude préliminaire met en évidence dans la phase post-sevrage, une variabilité importante de l'intensité d'ovulation ainsi que de la productivité qualitative et quantitative d'embryons. Des études complémentaires, sur des effectifs plus importants,

sont donc nécessaires, pour définir, autour du sevrage et en liaison avec les profils hormonaux, le moment optimal pour démarrer un traitement de superovulation permettant, non seulement une intensité d'ovulation élevée, mais aussi une production optimale d'embryons de bonne qualité.

### Remerciements

Les auteurs remercient les techniciens INRA de l'élevage d'Auzeville ainsi que R. Duzert et son équipe pour leur précieuse collaboration.

### Références

- BESENFELDER U., HASS C., BREM G. 2000. Reproduction technology and gene transfer in rabbits. *7<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, July 4-7, 2000, Valencia, Spain, 37-59.
- BOITI C. 2004. Underlying physiological mechanisms controlling the reproductive axis of rabbit does. *8<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, September 7-10, 2004, Puebla, Mexico, 186-206.
- BOLET G., GARREAU H., JOLY T., THEAU-CLÉMENT M., FALIÈRES J., HURTAUD J., BODIN L. 2007a. Genetic homogenisation of birth weight in rabbits: Indirect selection response for uterine horn characteristics. *Livestock Sci.* 111, 28-32.
- BOLET G., Garreau H., Hurtaud J., Saleil G., Esparbié J., Falières J., Theau-Clément M., Bodin L. 2007b. Sélection sur la variabilité du poids des lapereaux à la naissance. Réponses à la sélection et caractéristiques de l'utérus des lapines. *12<sup>èmes</sup> Journées Rech. Cunicole, Le Mans, 27-28 nov. 2007*, ITAVI.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1999. SAS User's guide, version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC.
- THEAU-CLÉMENT M., BOITI C., MERCIER P., FALIÈRES 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-CLÉMENT. M. 2007. Preparation of the rabbit doe to insemination : a review. *World Rabbit Science*, 15, 61-80.

