

Développement sexuel post-natal chez le lapin : profils de croissance et de développement du testicule et l'épididyme dans deux lignées.

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, 08028 Barcelone, Espagne.

Résumé. Le présent travail a été réalisé sur deux lignées de lapins d'aptitudes reproductives différentes pour évaluer l'effet de la lignée sur les changements liés à l'âge des paramètres de reproduction. Les lignées Caldes et Prat ont montré des profils de développement similaires pour la plupart des variables étudiées, lesquelles montraient des changements plus importants dans le jeune âge. Les pourcentages de tubes séminifères avec lumière (STL) et avec présence de spermatozoïdes (STS) au bout de 20 semaines de vie étaient bas dans les deux lignées (environ 70% et 40%, respectivement). La lignée Caldes avait un plus élevé poids vif (LW) plus élevé et un volume des testicules (TV) inférieur à celui de la ligne Prat à n'importe quel âge. Pour la variable STL la lignée Prat montrait des valeurs plus élevées à 14 semaines mais inférieures à 33 semaines, ce qui signifierait que les lignées pourraient avoir un profil différent de développement.

Abstract. Post-natal sexual development in the rabbit: growth and maturity patterns of testis and epididymis in two lines. The present work was performed in two lines of rabbit of different reproductive aptitude to assess the effect of the line on age related changes of reproductive parameters. Caldes and Prat lines showed similar developmental profiles for most of the variables studied, which showed major changes at young ages. The percentages of seminiferous tubules with lumen (STL) and with presence of spermatozoa (STS) at 20 weeks of age were low in both lines (about 70% and 40%, respectively). Caldes line had higher live weight (LW) and lower testis volume (TV) than Prat line at any age. No differences between lines were found for microscopical variables of testes, except for STL. Line Prat showed higher values of STL at 14 weeks but lower at 33 weeks, suggesting that lines could have a different sexual development pattern.

Introduction

L'étude du développement sexuel de l'animal implique la connaissance des profils de croissance et de maturation des tissus ou des parties du système reproductif liés à la capacité potentielle de production spermatique. Les variables macroscopiques des testicules comme le poids, le volume ou la circonférence scrotale ont été considérées comme des marques de la maturité sexuelle chez divers mammifères (Shinckel et al., 1983; Salhab et al., 2001; Lunstra and Cundiff, 2003; Mandal et al., 2004). Les variables microscopiques comme l'apparition de spermatides allongées et de spermatozoïdes dans les tubes séminifères, le diamètre, le nombre et la taille des cellules interstitielles et germinales ont aussi été utilisées comme indicateurs de maturité (Shinckel et al., 1983; Tegegne et al., 1991). Ces paramètres concordent modérément avec les variables macroscopiques (Shinckel et al., 1983; Chemes, 2001) en donnant une information supplémentaire quant à la maturité fonctionnelle des testicules.

Plusieurs auteurs ont trouvé que les profils de croissance et de maturation des paramètres testiculaires et de l'épididyme étaient affectés par des facteurs génétiques. Chez les taureaux, Lunstra et Cundiff (2003) et Tegegne et al. (1991) ont montré un type différent de développement des variables testiculaires macroscopiques et

microscopiques, respectivement, entre races. Une sélection sur la vitesse de croissance peut aussi modifier le profil global de croissance (Blasco et al., 2003; Piles et al., 2003) et peut retarder la maturité sexuelle (Schinkel et al., 1983).

Le présent travail a été réalisé pour évaluer l'effet de la lignée sur les changements liés à l'âge des variables macroscopiques des testicules et de l'épididyme et des variables microscopiques des testicules, dans deux lignées sélectionnées de lapins.

1. Matériel et Méthodes

L'essai a été réalisé à Caldes de Montbuí, (Barcelone) dans l'élevage expérimental de l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Les animaux étaient nés à deux périodes : décembre, avec une température extérieure moyenne de 8.5° C ; et de mai à juillet, avec une température extérieure moyenne de 22.7° C.

1.1. Animaux

L'étude a impliqué deux lignées de lapins (Caldes et Prat). Caldes est une lignée parentale sélectionnée sur la vitesse de croissance par une sélection individuelle (Gómez *et al.*, 1999) ; Prat est une lignée maternelle sélectionnée sur la taille de portée au sevrage (Gómez *et al.*, 1996). Huit mâles par lignée (Caldes, Prat) et saison de naissance ont été sélectionnés au hasard à 4, 8, 10, 14, 16, 20, 25 et 33 semaines d'âge.

1.2. Prélèvement de tissus

Les lapins ont été pesés (poids vif, PV) avant d'être sacrifiés par administration intra veineuse de potassium penthobarbital 18% (Sigma-Aldrich). Les testicules droits et les épидидymes ont été placés dans une solution saline isotonique glacée (4°C) en attendant la mesure de volume qui a été effectuée en utilisant un pycnomètre (volume du testicule droit, VT, et volume de l'épididyme droit, VE). Une portion des testicules gauches a été coupée transversalement, toujours à partir de la zone du centre, et fixée par immersion à 4° C avec du paraformaldehyde 2% plus du glutaraldehyde 2% dans un tampon de cacodylate. Les prélèvements ont été stockés à 4° C, pendant 24 à 48 heures en attente de l'étude microscopique.

1.3. Étude microscopique

Après fixation, les testicules ont été plongés dans de la paraffine. Des sections de 2 µM d'épaisseur à des intervalles de 100 µM ont été obtenues avec un microtome (HM 310 Microm) et teintées à l'hématoxyline et l'éosine.

Au moins 40-50 tubes séminifères, ronds ou presque ronds, ont été choisis au hasard par mâle pour l'observation sous un microscope ordinaire (Nikon) à x100. Le nombre de tubes séminifères avec présence de lumière (nTSL) et le diamètre tubulaire (TSD) ont été mesurés en utilisant l'Analyse Package (www.soft-imaging.net). Le nombre de tubes séminifères avec présence de spermatozoïdes (nTSS) ont aussi été déterminés de la même façon à x1000, à partir de trente tubes séminifères avec présence de lumière choisis au hasard par mâle.

Les ratios suivants ont été calculés à partir des variables mentionnées antérieurement:

- Pourcentage de tubes séminifères avec présence

de lumière (TSL = nTSLx100/ nombre de tubes séminifères).

- Pourcentage de tubes séminifères avec présence de spermatozoïdes (TSS= nTSSx 100/30).

- Pourcentage de tubes séminifères avec présence de spermatozoïdes (TSS= nTSSx 100/30).

1.4. Analyse statistique

Les données ont été soumises à des analyses de variance en utilisant les procédures GLM de SAS V8 (SAS 2001). Les variables PV, TSL, TSES et TSS ont été analysées suivant un modèle qui incluait les effets fixés de la lignée, la saison de naissance, l'âge, et les interactions lignée x âge et saison x âge. Les analyses de VT, VE et TSD ont été réalisées en incluant les mêmes effets fixés que précédemment plus PV comme co-variable pour tenir compte des différences de taille de l'animal appartenant à chacune des lignées. Quand l'interaction lignée x âge était significative, les variables ont été analysées âge par âge pour estimer les différences entre lignées.

2. Résultats et discussion

Le tableau 1 montre quels sont les effets et interactions significatifs. La figure 1 montre les changements liés à l'âge suivant la lignée pour les variables considérées dans l'étude.

L'évolution de PV était similaire dans les deux lignées étudiées et suivait une courbe sigmoïde caractéristique avec un taux maximal de croissance au bout de 8 semaines de vie, puis une diminution progressive de croissance jusqu'à 33 semaines. En général, les mâles Caldes étaient environ 10% plus lourds que les mâles Prat à tout âge à partir du sevrage.

Le volume des testicules et de l'épididyme montraient aussi une courbe de croissance sigmoïde. Quand ces caractères ont été analysés en relation avec le poids du corps (PV), aucun

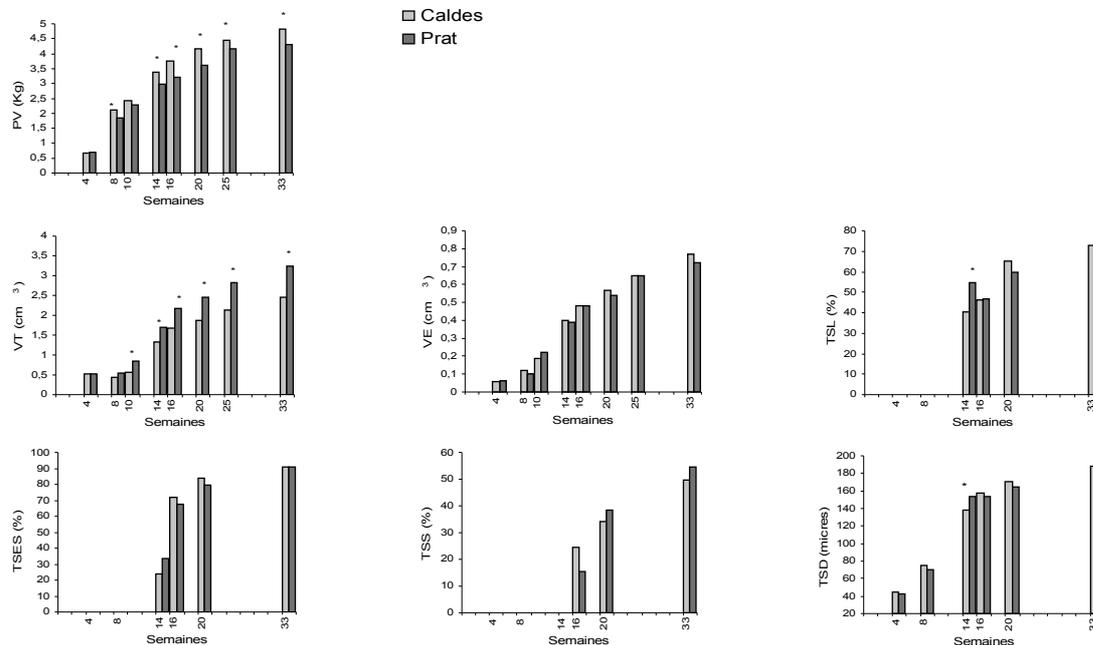
Tableau 1 : Signification statistique des effets et moyennes des moindres carrés pour la lignée et la saison

	PV (Kg)	VT (g)	VE (g)	TSL (%)	TSES (%)	TSS (%)	TSD (µM)
Lignée	*	*	*				
Caldes	3.22 (0.02)	1.37 (0.05)	0.40 (0.01)	36.44 (1.34)	43.48 (2.08)	18.15 (1.15)	128.78 (1.40)
Prat	2.89 (0.02)	1.79 (0.03)	0.40 (0.01)	35.47 (1.34)	45.98 (2.08)	18.99 (1.15)	129.46 (1.40)
Saison de naissance	*	ns	*	ns	*	ns	*
Froide	3.17 (0.02)	1.54 (0.04)	0.41 (0.009)	37.61 (1.36)	50.67 (2.13)	19.99 (1.17)	132.89 (1.44)
Chaude	2.95 (0.02)	1.61 (0.03)	0.39 (0.009)	34.30 (1.33)	38.79 (2.02)	17.15 (1.12)	125.35 (1.37)
Poids vif		*	ns				*
Age	*	*	*	*	*	*	*
Line x Age	ns	*	ns	*	ns	ns	*
Saison x Age	*	*	*	*	*	*	*
Line x Saison	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Ns : non significatif, * significatif p<0,05.

Poids vif (PV), volume testicules (VT), volume épидидyme (VE), pourcentage de tubes séminifères avec présence de lumière (TSL), pourcentage de tube séminifères avec présence de spermatozoïdes (TSS) et diamètre des tubes séminifères (TSD)

Figure 1: Changements liés à l'âge suivant la lignée pour les variables considérées. Poids vif (LV), volume testicules (TV), volume épididyme (EV), pourcentage de tubes séminifères avec présence de lumière (STL), pourcentage de tube séminifères avec présence de spermatozoïdes allongés (STES), pourcentage de tubes séminifères avec présence de spermatozoïdes (STS) et diamètre des tubes séminifères (STD) chez les mâles Caldes et Prat. Les points d'âge représentent la moyenne de 10 à 16 animaux par lignée de lapins. Les astérisques indiquent une différence significative entre les lignées à même âge: *, $P < 0.05$.



changement n'a été observé entre 4 et 8 semaines de vie. Après cela ils ont montré une croissance rapide, atteignant un maximum au bout de 14 semaines de vie, ce qui indique que l'activité spermatogénétique pouvait avoir commencé. Iczkowski *et al.* (1991) ont montré une augmentation remarquable du pourcentage de cellules germinales en mitose à 7 semaines et une forte activité méiotique à partir de 9 semaines. L'augmentation de VT est probablement liée à la prolifération cellulaire car il y avait une importante augmentation des niveaux de testostérone plasmatique entre 4 et 8 semaines de vie (données non montrées). Quand VT et VE ont été analysés comme des valeurs absolues une augmentation a été observée dès l'âge de 4 semaines, spécialement pour VT. Iczkowski *et al.* (1991) ont étudié le développement testiculaire chez les lapins au stade de pré puberté (de la naissance à 8 semaines de vie) et ils ont observé une grande augmentation du volume des testicules.

Des différences de VT entre lignées, à poids vif constant, ont été trouvées de 10 à 33 semaines de vie. Des différences de taille des testicules ont été préalablement observées par d'autres auteurs dans d'autres espèces (sur verrat, Shinckel *et al.*, 1983; sur taureau, Tegegne *et al.*, 1991 et Lunstra and Cundiff, 2003). Les mâles Prat avaient un volume plus grand de testicules (environ 10% de moyenne générale) que les mâles Caldes, indiquant la possibilité d'une production de semence plus importante, comme cela a été décrit chez les bovins (Brito *et al.*, 2002; Pant *et al.*, 2003). Cependant

nous n'avons pas de données qui confirment cette hypothèse. Les différences que nous avons observées pour PV et VT pourraient être dues à un effet corrélé de la sélection. Shinckel *et al.* (1983) en comparant deux lignées de verrats différant par le taux d'ovulation et la vitesse de croissance ont trouvé aussi des différences dans le poids vif et la taille des testicules et suggéraient un possible effet de la sélection.

Des tubes avec présence de lumière ont été observés à 14 semaines donc la formation de lumière s'était faite entre les 8ème et 14ème semaines de vie. Le pourcentage de tubes séminifères avec présence de lumière montrait un type de développement différent entre les lignées: dans la lignée Caldes la valeur de cette variable augmente avec l'âge, spécialement entre 16 et 20 semaines de vie. Ce résultat pourrait indiquer une précocité sexuelle chez les individus de cette lignée par rapport aux autres. L'apparition de spermatozoïdes allongés s'est faite à 14 semaines de vie. Après cela il y avait une augmentation importante de TSES jusqu'à 16 semaines. Les deux lignées montraient des valeurs similaires pour cette variable à tout âge. Des tubes avec présence de spermatozoïdes sont devenus visibles entre 14 et 16 semaines de vie. Pour cette variable, les deux lignées présentaient aussi un modèle de croissance similaire avec la plus grande augmentation entre 16 et 20 semaines de vie. Les résultats concernant TSL, TSES et TSS étaient en accord avec Berger *et al.* (1982). En ce qui concerne TSD, des changements importants ont été observés entre 8 et

14 semaines de vie, avec une multiplication par trois ou quatre. Plusieurs auteurs ont étudié le développement du diamètre tubulaire (Schinckel *et al.*, 1983; Iczkowski *et al.*, 1991; Chemes, 2001). Ils ont aussi observé un accroissement maximal de cette variable au début de la spermatogenèse.

A 33 semaines de vie, environ 70% des tubes séminifères présentaient de la lumière et environ 40% montraient des spermatozoïdes. À partir de nos résultats il est difficile d'établir la valeur au stade adulte pour TSL et TSS. Le pourcentage de tubes séminifères avec présence de lumière semble être loin de 100% tandis que la valeur TSS pourrait être liée au cycle séminal de l'épithélium.

Aucune différence entre lignées n'a été trouvée sur aucune variable microscopique. Cependant une interaction significative entre lignée et âge a été obtenue pour TSL et TSD qui pourrait être liée à un type différent de maturation des lignées. Chez les porcs, Shinckel *et al.* (1983) ont trouvé que TSL et TSES étaient inférieurs chez des animaux sélectionnés pour l'obtention de maigre (viande) à n'importe quel âge mais spécialement à 120 jours de vie, et ont suggéré que ces animaux avaient un développement testiculaire plus lent. Tegegne *et al.* (1991) en comparant deux races de taureaux ont montré que l'apparition des spermatides allongées et des spermatozoïdes dans les tubes séminifères et l'épididyme avait lieu à des âges différents.

La maturité sexuelle a été définie comme l'âge auquel un mâle est utilisé pour la première fois pour la reproduction et donne des résultats qui sont considérés comme satisfaisants dans l'industrie (Berger *et al.*, 1982; Brito *et al.*, 2004). Dans le présent travail la fertilité des mâles n'a pas été évaluée pour éviter l'effet possible d'un prélèvement précoce de semence sur le développement des testicules et le comportement sexuel des mâles. À partir de nos résultats, il pourrait être proposé de ne pas utiliser les mâles pour la reproduction à un rythme intensif avant l'âge de 20 semaines ; à ce stade la taille des testicules n'a atteint que 70% de sa valeur adulte et TSS que 70% de sa valeur à 33 semaines de vie. Dans la lignée Caldes, l'information disponible sur l'évolution du volume éjaculé et la motilité individuelle des spermatozoïdes avec l'âge montre une importante augmentation entre 20 et 33 semaines de vie ce qui indique que les jeunes mâles ne pouvaient pas être prêts pour un prélèvement de rythme intensif et que la valeur à l'âge de 33 semaines pour TSL, TSES et TSS sous-estime sans doute la valeur adulte réelle.

Conclusion

Les lignées Caldes et Prat montrent des profils de développement similaires pour toutes les variables étudiées. La lignée Caldes a un poids vif plus élevé et un volume testiculaire inférieur à celui de la lignée

Prat. Aucune différence n'a été trouvée pour les variables microscopiques des testicules entre les lignées, sauf pour STL qui pourrait avoir un type différent de développement dans les deux lignées.

Références

- Blasco A, Gómez E. 2003. A note on growth curves of rabbit lines selected on growth rate or litter size. *Amin. Prod.*; 57: 332-334.
- Berger M, Jean-Faucher Ch, Turckheim M, Veysié G, Blanc MR, Poirier JC, Jean Cl. 1982. Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma of rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinologica*; 99: 459-465.
- Brilo LFC, Silva AEDF, Rodrigues LH, Vieira FV, Deragon LAG, Kastelic JP. 2002. Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. *Theriogenology*; 58 (6): 1175-1186.
- Brilo LFC, Silva AEDF, Unanian MM, Dobe MAN, Barbosa RT, Kastelic JP. 2004. Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. *Theriogenology*; 62: 1198-1217.
- Chemes HE. 2001. Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*; 24: 2-7.
- Flowers WL. 1997. Management of boars for efficient semen production. *J. Reprod. Fert.*; 67-78 Suppl. 52.
- Gómez EA, Rabel O, Ramon J, Baselga M. 1996. A genetic study of a line selected on litter size at weaning. *Proceedings of the 6th of the World Rabbit Congress*, Toulouse, (France); 2: 289-292.
- Gómez EA, Baselga M, Rafel O, Ramon J. 1999. Selection, diffusion and performances of six Spanish lines of meat rabbit. *Options Méditerranéennes, series cahiers*; 41: 289-292.
- Iczkowski KA, Sun EL, Gondos B. 1991. Morphometric study of the prepubertal rabbit testis: germ cell numbers and seminiferous tubule dimensions. *American J. Anatomy*; 190: 266-272.
- Lunstra DD, Cundiff LV. 2003. Growth and pubertal development in Brahman-, Boran-, Tuli-, Belgian Blue-, Hereford- and Angus-sired F1 bulls. *J. Anim. Sci.*; 81 (6): 1414-1426.
- Mandal DK, Singh K, Tyagi S. 2004. Age related changes in body size and gonadal development of growing Frieswal bulls. *Indian J. Anim. Sci.*; 74 (1): 31-34.
- Pant HC, Sharma RK, Patel SH, et al. 2003. Testicular development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls. *Theriogenology*; 60 (1): 27-34.
- Piles M, Gianola D, Varona L, Blasco A. 2003. Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J. Anim. Sci.*; 81: 2714-2724.
- Salhab SA, Zarkawi M, Wardeh MF, Al-Masri MR, Kassem R. 2001. Development of testicular dimensions and size, and their relationship to age, body weight and parental size in growing ram lambs. *Small Ruminant Res.*; 40: 187-191.
- SAS Institute Inc., 2001. SAS/STAT User's Guide Statistics, Version 8. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Schinckel A, Johnson RK, Pumfrey RA, et al. 1983. Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive-performance. *J. Anim. Sci.*; 56 (5): 1065-1076.
- Tegegne A, Entwistle KW, Mukasamugerwa E. 1991. A quantitative histological study of testicular and epididymal development in boran and boran-x friesian bulls in Ethiopia. *Theriogenology*; 35 (5): 991-1000.