

UNIVERSITE SAAD DAHLAB de Blida

Faculté des sciences Agrovétérinaires et biologiques

Département des sciences biologiques

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Physiologie animale

ETUDE DE L'OVULATION ET DES CARACTERISTIQUES
OVARIENNES CHEZ LES LAPINES DE POPULATION LOCALE EN
FONCTION DE LA RECEPTIVITE SEXUELLE DANS LA REGION DE
LA MITIDJA

Par

Zoubeïda BOUMAHDHI née MERAD

Devant le jury composé de :

A.BERBAR.	Professeur. U.Saad dahleb .Blida	Président
H.AIN BAZIZ.	Professeur.E.N.S.V. Alger	Examinatrice
M.BERCHICHE.	Professeur .U.M.M.T.O	Examineur
M.THEAU-CLEMENT.	Maitre de Recherches I.N.R.A.Toulouse	Examinatrice
M.OUMOUNA.	M.C.A. U.Saad dahleb Blida	Examineur
R.KAIDI.	Professeur.U.Saad Dahleb.Blida	Promoteur

Blida, Mai 2012

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة يتمثل في وصف مظاهر التكاثر لـ 83 مربي تقليدي للارانب في منطقة متيجة. وخلال التحقيق المزارع ذات 5 او 8 امهات ارانب ، قدرت ما بين 30 و 40% للجميع ما عدا ولاية البليلة (17.64%)، لوحظ أكثر من 9 إناث في ولاية الجزائر العاصمة (21.11%). وكان في سن الانجاب المهيمين مقدر بـ 5 أشهر في ولاية البليلة (47.05%)، المدية وعين الدفلى (41.17%)، وولاية الشلف كانت النسبة متساوية و لوحظ مع سن 6 أشهر (37.50%). السن المهيمين هو 4 أشهر في ولاية الجزائر العاصمة وتيبازة (37.47 و 50% على التوالي). عدد (5) وأكثر من 5 ولادات سنويا المهيمين في جميع ولايات. على الرغم من أن النسبة تتراوح ما بين 11.76 و 26.31 من 2 الى 4 ولادات سنويا لوحظ في جميع المزارع في المنطقة. هيمنة حجم الولادات 6-10 ولادة في الولايات الستة. حجم 5 هو الأكثر أهمية في الشلف (31.25%). حجم 11-13 صغير هو أكبر في ولاية الجزائر (31.57%). حجم من 3 الى 2 هو أعلى قليلا في تيبازة (21.2%) والبليلة (17.6%).

أجريت التجربة الأولى، لدراسة السلوكيات المحلية للارانب والتغيرات النسيجية والتشريحية للمبيض والرحم خلال وقت ما بعد الولادة ، على مجموعته 20 إناث ارانب قدمت للذكور، ثمانية إناث اصبحت حامل. بعد الولادة، تمت تضحية هذه الارانب في فترات زمنية من 0 سا ، 4سا ، 8سا ، 16سا ، 24+ 4، 24 ساعة + 9 سا ، 24 ساعة 16 ساعة و 48 ساعة. إجمالي مدة الولادة، وكانت تقاس في ستة أرانب، في الفترة من 10 إلى 15 دقيقة. واثنين من الأرانب، تمت الولادة في فترات زمنية بين 2 و 12 ساعة. الأجسام الصفراء لا تزال بارزة على سطح المبيض. كما أنها تقل في 16 ساعة ويتم استبدال عدد كبير من المسام. وكانت اثنان من الأرانب الحوامل في 16سا و 40 سا أكدت وجود بطانة الرحم في الرحم، والأنسجة والخلايا العملاقة. ظهارة الرحم وتتحول تماما، وتجده و بدأت من أب 8 ف. ف. وكان ارتداد الرحم كاملة في غضون 48 ساعة ما بعد الولادة

التجربة الثانية تضمنت دراسة ديناميكيات النمو الجريبي، ومعدل الإباضة، والعدد الجريبي، بين الارانب نوليبار قبل (R+) +مقبولين (-R) التي خضعت لعملية التزاوج بالمساعدة (SA) بين وقت التزاوج والإباضة، ضمن مجموعة 57 إناث أرانب نوليبار، التي تتراوح أعمارهم بين 5 أشهر. كان هناك حوالي 32 الأرانب (R+) و 25 الأرانب (R-NV) في مراحل مختلفة 0، 1-2، 3-4، 5-6، 7-8، 9، 10، و 11-12 تقريبا. لوحظت البويضة حرة في السائل الجريبي. والإباضة في 10 دقيقة و 30 ساعة. بين 10 و 12 فقط أربعة من الأرانب الستة اباضت + R وأظهرت جريب واحد تمزق. بالنسبة للإناث -R فقدت البويضات شكلها الكروي وتصل إلى 12 ساعة ، لوحظ عدم الإباضة.

في التجربة الثالثة، تناولنا دراسة الخصائص (العيانية والمجهرية) للمبيض و ، والخصائص المورفومترية للجريبات وكذلك تحديد β -17-الاستراديول والبروجستيرون من 0 إلى 14 سا ما بعد التزاوج لهذا تم القيام به، تقسم الـ 60 أرانب إلى ثلاث مجموعات متجانسة مكونة من 20 أرنب لكل مجموعة، اعتمادا على تقديم الارنوبات الى مجموعة ذكور الارانب. المجموعة 1: (R+) ، المجموعة 2: (SA) + (R-) ، والمجموعة 3: (SA) + (R-) 0.2 مل GnRH. وتمت تضحية هذه الارانب في 0، 6، 2، 8، 10، 30: 10، 11، 12، 13 و ساعة PC14 عدد الجريبات قبل التبويض يختلف إلى حد كبير على التقبل الجنسي ($P > 0.05$) خلافا للأجسام الصفراء. الأرانب + R + R و SA- لديها عدد من جريبات التبويض مسبقا أعلى من GnRH + SA + R (على التوالي 68% و 27%، $P > 0.05$). عدد المسام ما قبل التبويض وعدد من المجاميع الصفراء تتفاوتت تفاوتا كبيرا من قبل مرحلة ($P > 0.05$). وقد لوحظ في الإباضة الأولى فقط من الساعة 10 صباحا 12 سا و 14 سا ، وعدد من المجاميع الصفراء كانت أعلى بكثير مما كانت عليه في المراحل الأخرى. وقد تأثرت بشكل كبير وتيرة الإباضة من التقبل للارانب في مرحلة الإباضة +R بشكل متكرر أكثر من-R، والعلاج بـ GnRH في الإباضة للوسيطه-R وزن قرون الرحم يختلف إلى حد كبير على التقبل من يفعل. في الواقع، هو أعلى في R+ الأرانب بالمقارنة مع عينات أخرى (27%، $P > 0.05$). وكان عدد من الحويصلات الأولية أقل من ذلك بكثير في الإناث منها في GnRH + R + R + SA-R-SA أو (18.1 على التوالي مقابل 24.0 و 22.2). مرحلة ف. ج يؤثر بشكل كبير من عدد من الحويصلات الأولية. في 13سا و 14سا هو عادة أعلى مما كانت عليه في المراحل السابقة. عدد جريبات ما قبل التبويض يختلف اعتمادا على مرحلة ما بعد التزاوج ، ويقبل من الساعة 10 صباحا. وكان عدد المسام ما قبل التبويض أعلى بكثير في 6 ساعات ما بعد التزاوج . في 14 سا (3.0 مقابل 0.2، $P > 0.05$). عدد الجريبات المنفجرة يختلف اختلافا كبيرا تبعا للمرحلة ما بعد التزاوج لوحظ 10 جريبات منفجرة،

وعادة ما يزيد، وبلغ الحد الأقصى في القطر في سا14 من جريبات الإناث R-GnRH + SA ارتفاع شحنات مقارنة (على التوالي 567، 604 مقابل 722µm) (1) و (2). (19٪، $P > 0.001$) وقد تأثر بشكل كبير من تركيز البلازما من استراديول، $\beta 17$ (متوسط 221pg/ml تقدير) من التقبل. الأرناب R-GnRH + SA لديها تركيز البلازما من $\beta 17$ -استراديول عالي خصوصا مع الأرناب R + (48٪، $P > 0.05$) وهذا تقريبا طوال فترة المراقبة (0 سا إلى 14 سا، ما بعد النزواج). تركيز البلازما من هرمون البروجسترون (متوسط: 1.25 نانوغرام / مل) لم تختلف بشكل كبير على تقبل و / أو المعالجة ب GnRH. بين 0سا و 8سا، بلغ تركيزه المتوسط 2،12 نانوغرام / مل. خضع لانخفاض حاد في وقت الإباضة (10 سا) 0،69 نانوغرام / مل.

الكلمات المفتاحية: ارنوبية زراعية محلية، جراب المبيض، والإباضة بعد الولادة، وقياس الأشكال، $\beta 17$ -الاستراديول والبروجسترون.

RESUME

Cette étude a pour premier objectif la caractérisation des performances de production de 83 élevages de lapin traditionnels couvrant les zones de la région de la Mitidja. Durant l'enquête, les élevages ayant 5 à 8 mères, ont été estimés entre 30 et 40 % pour toutes les wilayas à l'exception de Blida (17,64 %), plus de 9 femelles n'ont été observés que dans la wilaya d'Alger (21,11 %). L'âge dominant de la mise à la reproduction est de 5 mois dans les wilayas de Blida (47,05%), Ain Defla et Médéa (41,17 %), ainsi que la wilaya de Chlef où une égalité de proportion a été observée avec l'âge de 6 mois (37,50%). L'âge de 4 mois prédomine dans les wilayas d'Alger et Tipaza (47,37 et 50 % respectivement). Le nombre de 5 et plus de 5 mises bas par an prédomine dans toutes les wilayas. Bien qu'un pourcentage variant entre 11,76 et 26,31 de 2 à 4 mises-bas par an a été observé dans tous les élevages de la région. La dominance de taille de portée 6 à 10 petits par portée est présente dans les six wilayas. La taille de 5 est plus importante à Chlef (31,25%). La taille de 11 à 13 petits est supérieure dans la wilaya d'Alger (31,57%). La taille de 2 à 3 est légèrement supérieure à Tipaza (21,2 %) et Blida (17,6 %).

La première expérience, ayant pour but le comportement des lapines locales et des changements anatomo-histologiques des ovaires et des cornes utérines au cours de la phase *post partum* (*p.p*), a été conduite sur un total de 20 femelles présentées aux mâles, dont huit femelles ont été gestantes. Après la mise bas, les femelles ont été sacrifiées à des intervalles de temps de 0h, 4h, 8h, 16h, 24h+4h, 24h+ 9h, 24 h+16 h et 48h. La durée totale de parturition, mesurée chez six lapines, a été de 10 à 15 minutes. Deux lapines ont, toutefois, présenté des durées de mise bas de 2 et 12 heures d'intervalle de temps. A 8 h *p. p*, les corps jaunes restent proéminents à la surface de l'ovaire. Ils diminuent à 16 h et sont remplacés par un large nombre de follicules. Deux lapines étaient pseudo gestantes à 16h et 40 h *p.p*. confirmé par la présence au niveau de l'endomètre utérin, de tissu décidual et de cellules géantes. L'épithélium utérin est complètement dégénéré et sa régénérescence a commencé dès 8 huit *p. p*. et l'involution utérine a été complète à 48 heures *p.p*.

La deuxième expérience a concerné l'étude de la dynamique de la croissance folliculaire, le taux d'ovulation, et le dénombrement de la population folliculaire, entre les femelles nullipares réceptives R⁺ et non réceptives R⁻ ayant subi une saillie assistée (SA) entre le moment de la saillie et le moment de l'ovulation, sur un effectif de 57 lapines nullipares, âgées de 5 mois. 32 lapines R⁺ et 25 lapines R⁻ SA ont été sacrifiées à différents stades 0, 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9, 10 et 11-12 heures *p.c.* Dès 8h *p.c.* l'ovocyte est libre dans le liquide folliculaire et l'ovulation est observée à 10 h 30 min. Entre 10 et 12 h *p.c.* seulement 4 des six lapines R⁺ étudiées ont ovulé et ont montré un seul follicule rompu. Pour les femelles R⁻ les ovocytes ont perdu leur forme sphérique et jusqu'à 12 h *p.c.*, aucune ovulation n'a été observée.

Dans la troisième expérience, nous avons abordé l'étude des caractéristiques (macro et microscopiques) des ovaires et des cornes utérines, les caractéristiques morphométriques des follicules antraux ainsi que le dosage du 17 β -œstradiol et de la progestérone de 0 à 14h *p.c.* Pour ce faire, 60 lapines ont été réparties en 3 lots homogènes de 20 lapines chacun, en fonction du test de présentation au mâle lot 1: R⁺, lot 2 : R⁻ + SA et lot 3: R⁻ +SA +0,2 ml GnRH. Des abattages ont été effectués à 0, 2, 6, 8, 10, 10h30, 11, 12, 13 et 14h *p.c.* Le nombre de follicules pré ovulatoires varie significativement en fonction de la réceptivité sexuelle ($P < 0,05$) contrairement à celui des corps jaunes. Les lapines R⁺ et R⁻ + SA ont un nombre de follicules pré ovulatoires plus élevé que les R⁻ + SA+ GnRH (respectivement +68% et +27%, $P < 0,05$). Le nombre de follicules pré ovulatoires et le nombre de corps jaunes varient significativement en fonction du stade ($P < 0,05$). La première ovulation n'a été observée qu'à partir de 10h *p.c.* A 12h et 14h *p.c.*, le nombre de corps jaunes est significativement plus élevé qu'aux autres stades. La fréquence d'ovulation a été significativement influencée par la réceptivité des lapines et le stade *p.c.* Les lapines R⁺ ovulent plus fréquemment que les R⁻, le traitement GnRH permettant une fréquence d'ovulation intermédiaire chez les R⁻. Le poids des cornes utérines varie significativement en fonction de la réceptivité des lapines. En effet, il est plus élevé chez les lapines R⁺ comparé aux deux autres lots (27%; $P < 0,05$). Le nombre de follicules primaires est significativement plus faible chez les

femelles R⁺ que chez les R⁻ + SA + GnRH ou R⁻ SA (respectivement 18,1 vs 24,0 et 22,2). Le stade *p.c* influence significativement le nombre de follicules primaires. A 13h et 14h *p.c*. il est généralement plus élevé qu'à des stades plus précoces. Le nombre de follicules pré ovulatoires, varie significativement en fonction du stade *p.c.*, et décroît à partir de 10h. Le nombre de follicules pré ovulatoires est significativement plus élevé à 6h *p.c.* qu'à 14h *p.c* (respectivement 3,0 vs 0,2, P< 0,05). Le nombre de follicules rompus diffère significativement en fonction du stade *p.c*. Les premières sont observées à 10h *p.c.* et le nombre de follicules rompus, augmente généralement pour atteindre un maximum à 14h *p.c.* Le diamètre des follicules antraux des femelles R⁻ SA+GnRH est significativement plus élevé comparé (respectivement 567, 604 vs 722µm) aux lots 1 et 2 (+19% ; p<0,001). La concentration plasmatique de 17β-œstradiol (estimée en moyenne à 221pg/ml) est significativement influencée par la réceptivité. Les lapines R⁻ SA+GnRH présentent une concentration plasmatique en 17β-œstradiol plus élevée en particulier avec les lapines R⁺ (+48% ; p<0,05) et ceci pratiquement tout au long de la période observée (0h à 14h *p.c*). La concentration plasmatique en progestérone (moyenne : 1,25 ng/ml), ne varie pas significativement en fonction de la réceptivité et / ou du traitement de GnRH. Entre 0h et 8h *p.c*, son taux moyen était de 2,12 ng/ml. Il subit une chute drastique au moment de l'ovulation (10h *p.c*) : 0,69 ng/ml.

Mots clés : Lapine locale, élevage, ovaire, follicule, *post partum*, ovulation, morphométrie, 17β-œstradiol, progestérone

SUMMARY

This study's primary objective performance characterization of production of 83 rabbit farms covering traditional areas of Mitidja region. During the investigation, farms with 5-8 does, were estimated between 30 and 40% for all except wilaya of Blida (17.64%), more than 9 females were observed in the Algiers wilaya (21.11%). The dominant age of reproduction was 5 months old in the provinces of Blida (47.05%), Medea and Ain Defla (41.17%), and the province of Chlef where an equal proportion was observed with the age of 6 months (37.50%). The predominant age of 4 months in the wilaya of Algiers and Tipaza (47.37 and 50% respectively). The number of 5 and more than 5 litters per year predominates in all wilayas. Although the percentage varies between 11.76 and 26.31 from two to four parturition per year was observed in all farms in the area. The dominance of litter size 6-10 pups per litter is present in the six wilayas. Size 5 is most important in Chlef (31.25%). Size 11 to 13 small is greater in the wilaya of Algiers (31.57%). The size of 2 to 3 is slightly higher Tipaza (21.2%) and Blida (17.6%). The first experiment aimed local behavior of rabbits and histological changes in anatomy of the ovaries and uterine horns during the *post partum (pp)*, was conducted on a total of 20 females presented to males, eight females were pregnant. After parturition, females were sacrificed at time intervals from 0h, 4h, 8h, 16h, 24h 4 h, 24 h + 9h, 24 h 16 h and 48 h. The total duration of parturition, measured in six rabbits, was from 10 to 15 minutes. Two rabbits were, however, presented calving periods of 2 and 12 hours time interval. At 8 h *p. p.*, corpora lutea remain prominent at the surface of the ovary. They decrease at 16 h and are replaced by a large number of follicles. Two rabbits were pseudopregnant at 16h and 40 h *pp* confirmed by the presence at the uterine endometrium, the decidual tissue and giant cells. The uterine epithelium is completely degenerate and its regeneration began from 8 hours *p. p.* and uterine involution was complete in 48 hours *pp*.

The second experiment involved the study of the dynamics of follicular growth, ovulation rate, and enumeration of the population follicular receptive nulliparous females between R+ and non receptive female rabbits undergoing assisted mating (R- SA), between the time of mating and ovulation, a group of 57 nulliparous

female rabbits, aged 5 months old. 32 rabbits and 25 rabbits R + R-SA were sacrificed at different stages 0, 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9, 10 and 11-12 hours *pc*. At 8 h *p.c*, the oocyte is free in follicular fluid and ovulation was observed at 10 h 30 min. Between 10 and 12 h *p.c* only four of the six rabbits studied R + ovulated and showed a single ruptured follicle. For females R-, oocytes lost their spherical shape and up to 12 h *p.c*, no ovulation was observed. In the third experiment, we addressed the study of characteristics (macroscopic and microscopic) of ovaries and uterine horns, the morphometric characteristics of antral follicles as well as the determination of 17β -estradiol and progesterone from 0 to 14h *pc*. 60 rabbits were divided into three homogeneous groups of 20 rabbits each, depending on the test of acceptance of the male: R +, Lot 2: R + SA and-lot 3: R-+ SA 0.2 mL GnRH. Slaughterings were performed at 0, 2, 6, 8, 10, 10.30, 11, 12, 13 and 14h *p.c*. The number of ovulatory follicles pre varies significantly depending on the sexual receptivity ($P < 0.05$) unlike the corpora lutea. Rabbits R + and R-SA has a number of ovulatory follicles pre higher than the R-SA + + GnRH (respectively 68% and 27%, $P < 0.05$). The pre-ovulatory follicle number and number of corpora lutea vary significantly by stage ($P < 0.05$). The first ovulation was observed only from 10 hour *pc*, 12h and 14h, the number of corpora lutea was significantly higher than in other stages. The frequency of ovulation was significantly influenced by the receptivity of the does and stage *p.c*. R⁺ rabbits ovulate more frequently than R⁻, GnRH treatment for ovulation frequency in intermediate R⁻. The weight of uterine horns varies significantly depending on the receptivity of the does. Indeed, it is higher in rabbits R + compared with the other lots (27%, $P < 0.05$). The number of primary follicles was significantly lower in R⁺ females than in R⁻ + SA + GnRH or R⁻ SA (respectively 18.1 vs. 24.0 and 22.2). Post coitum stage influences significantly the number of primary follicles. At 13h and 14h *pc* it is generally higher than at earlier stages. The number of ovulatory follicles pre varies significantly depending on the stage *pc*, and decreases from 10 am. The pre-ovulatory follicle number was significantly higher at 6 *pc* to *pc* 14h (3.0 vs 0.2, $P < 0.05$). The number of ruptured follicles differs significantly depending on the stage *pc*. The first ovulations are observed at 10 h *pc* and the number of ruptured follicles, usually increases, reaching a maximum at 14h *pc*. Diameter of antral follicles of non receptive female R⁻ SA + GnRH is significantly high compared (respectively 567, 604 vs. 722 μ m) to lots 1 and 2 (19%, $p < 0.001$).

The plasma concentration of 17β -estradiol (average estimate 221pg/ml) was significantly influenced by the receptivity. Rabbits R⁻ SA + GnRH have a plasma concentration of 17β -estradiol higher especially with the R⁺ rabbits (48%, $p < 0.05$) and this almost throughout the observation period (0h to 14h *pc*). The plasma concentration of progesterone (mean: 1.25 ng / ml) did not vary significantly depending on the receptivity and / or treatment of GnRH. Between 0h and 8h *pc*, the average rate was 2.12 ng / ml. It falls drastically in the time of ovulation (10 h *pc*): 0.69 ng / ml.

Keywords: Rabbit local farming, ovarian follicle, *post partum* ovulation, morphometry, 17β -estradiol, progesterone

REMERCIEMENTS

Je tiens dans un premier temps à rendre Grâce à Allah pour m'avoir accordé la santé, le moral et surtout sa bénédiction pour la réalisation de ma thèse jusqu'à cet aboutissement.

La réalisation de cette thèse fut une occasion merveilleuse de rencontres et d'échanges avec de nombreuses personnes. Je ne saurais pas les citer toutes sans dépasser le nombre de pages raisonnablement admis dans ce genre de travail. Je reconnais que chacune a, à des degrés divers, mais avec une égale bienveillance, apporté une contribution positive à sa finalisation.

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de thèse, Professeur Kaidi Rachid et directeur du laboratoire de Recherche liée à la reproduction animale, d'avoir accepté de diriger mes travaux, puis de m'avoir offert la possibilité de poursuivre cette tâche. Je vous remercie pour m'avoir conseillée, encouragée et soutenue tout au long de la thèse avec patience et disponibilité et pour la confiance que vous m'avez accordée au cours de ces années et surtout votre amitié. J'espère aujourd'hui être à la hauteur. Yes I did it !

C'est avec mon enthousiasme le plus vif et le plus sincère que je voudrais exprimer ma profonde gratitude:

Au Professeur Berbar Ali qui m'a honoré en acceptant d'être Président de ce jury. Merci pour ses encouragements généreux qu'il m'a souvent transmis grâce à son caractère chaleureux : ils m'ont été très précieux.

J'adresse tout spécialement mes remerciements les plus chaleureux à Madame Michèle Theau- Clément maître de recherche à l'INRA de Toulouse, de m'avoir accueillie au sein de la station d'amélioration génétique animale de l'INRA de Toulouse, et je la remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Elle a suivi pas à pas et avec beaucoup de patience l'évolution de mon travail, évolution facilitée par ses conseils très utiles, ses discussions enrichissantes. et ses qualités scientifiques. Elle m'a toujours accordé un encadrement attentionné. Sans son aide, sa générosité, sa disponibilité, son amitié et sa grande patience, ses conseils, ses critiques permanentes lors de la rédaction des articles et de la thèse, ce travail n'aurait pas pu voir le jour. En un mot, merci pour ton amitié précieuse.

Au Professeur Berchiche Mohamed, de l'Université Mouloud Mammeri, pour le grand honneur qu'il me fait en étant examinateur dans ce jury. Il a été l'inspirateur depuis les années (1987) des idées de recherche en dirigeant les premiers travaux sur le lapin local en Algérie. Pour votre grande valeur scientifique, pour tout ce que vous aviez fait pour la valorisation des lapins de population locale.

Au Professeur Ain Baziz Hacina, à l'ENV d'El Harrach, qui a bien voulu accepté d'examiner ce travail. Cette thèse ne serait sans doute pas terminée si je n'avais pas bénéficié de son aide généreuse, dont la disponibilité sans faille, son apport scientifique et ses idées qui ont éclairé une bonne partie de ma thèse. Pour ses encouragements

dynamisant, son enthousiasme, sa compétence ses conseils stimulants, son amitié, et, enfin, pour tout le temps qu'elle m'a accordé. Je lui en suis infiniment reconnaissante.

C'est également au Docteur Oumouna Mustapha, maitre de conférences à l'Université Saad Dahlab de Blida, à qui je dois une reconnaissance particulière pour sa grande qualité humaine. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude d'avoir accepté d'être examinateur de ce travail, et d'avoir bien voulu m'honorer de sa présence au jury.

Mes vifs remerciements vont aussi à Mr Gérard Bolet qui m'a accueilli chaleureusement au sein de la SAGA de l'INRA de Toulouse et qui m'a aussi donné la chance de rencontrer Madame Theau-Clément et Monsieur Lebas. Sa gentillesse, sa disponibilité ses critiques m'ont permis de mieux valoriser ma partie enquête sur les élevages.

Je remercie aussi très vivement, Madame Christèle Robert-Granie pour sa sympathie et ses lettres d'accueil à l'INRA de Toulouse pour son soutien et ses encouragements, et par là je ne saurai oublier Mr Saleil, Mr Tudela et le corps administratif de la SAGA, Valérie, Dounia, Nancy. Bien sûr un souvenir tout particulier de celles avec qui j'ai partagé un bureau durant les périodes de mon stage Kinou et Céline et de notre bonne relation amicale. Pour l'équipe des élevages, Jean Marie (merci pour les exercices d'insémination) Annette, Jean Pierre...Ce sont les moments les plus enrichissants que j'ai vécus et j'ai bien peur que mes remerciements ne soient pas à la hauteur de la reconnaissance, de l'admiration ou de l'amitié que j'éprouve pour chacun de vous ainsi qu'à tous ceux que j'ai côtoyée.

Je suis très reconnaissante envers Dr Derdour, et tout particulièrement Mr Kaddour Rachid Ingénieur de laboratoire d'Histopathologie à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach, pour la réalisation des coupes au sein du laboratoire pour sa bonne humeur et surtout sa gentillesse. Je ne saurai trop leur exprimer ma gratitude.

Un grand merci pour Professeur Aissi Meriem, chef du Laboratoire de Parasitologie à l'ENSV d'El Harrach, pour la beauté du geste au service de la recherche, qui a bien voulu m'accueillir au sein de son laboratoire où j'ai pu faire mes mesures photométriques.

Je tiens également à remercier Monsieur Saadi Ahmed ingénieur de laboratoire de parasitologie à l'ENSV d'El Harrach, pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Je désire sincèrement remercier Dr Belabbas Rafik, pour son attention permanente, son don précieux de toujours ressortir les points positifs d'une situation autrement négative a été très apprécié. Ses encouragements inlassables dans les plus pénibles moments, son aide concernant la mise en forme du document et de l'exposé de ce travail était considérable.

Je suis sensible au dévouement de Carine, responsable de la bibliothèque de la SAGA à l'INRA de Toulouse, malgré ses multiples occupations. Qu'il me soit permis de lui exprimer mes sincères et profondes reconnaissances

Je tiens aussi à exprimer toute mon amitié au Professeur Lafri Mohamed à l'Université Saad Dahlab de Blida, et Khelef Djamel maitre de conférences à l'ENV d'EL Harrach, pour

leurs encouragements. Nos conversations ont toujours été pour moi une source d'enrichissement. Qu'ils veuillent bien trouver ici, l'expression de ma profonde reconnaissance.

J'exprime aussi ma profonde reconnaissance à mes amis Mr Nabi Mustapha et Chérifa Chaouia (ex directeurs de la station expérimentale) ainsi qu'à Dr Adel djallel (actuel directeur de la station) Abdelkader, Mustapha pour m'avoir facilité l'accès au niveau du clapier, pour leur coopération et leur bonne humeur.

S'il y'a une personne que je veux absolument remercier c'est bien Mme Razika Boukert. Pour tous les moments que l'on a pu partager et qui a largement contribué à la réalisation de ma dernière partie expérimentale.

Mes remerciements s'adressent également à mes collègues pour l'aide qu'ils m'ont apportée à divers titres, tout particulièrement, Dr Saidj Dehia, Dr Khelouia amina, Dr Akam Hssen, Dr Blibek Amokrane (merci infiniment pour la GnRH !!).

Je veux aussi exprimer ma profonde et sincère gratitude à tout le personnel d'élevage de la station expérimentale et particulièrement les personnes qui ont veillé sur le bien être des lapins au niveau du bâtiment cunicol (Mustapha, fodil, smain.....).

J'exprime toute mon amitié à Mrs, Zouaoui Sid Ahmed, Mustapha et je les remercie pour l'aide apportée avec les lapines.

Je suis très reconnaissante à l'égard de mes amis et voisins de palier, Dr Karine Oumouna et Mustapha Oumouna, pour leur aide lors de la rédaction de mon premier article en anglais. Sans oublier les repas copieux dont vous avez pris l'extrême gentillesse de régaler ma petite famille lors de mes absences en stages. Chers amis, trouvez ici l'expression de ma profonde sympathie.

Que soient également remerciés tous mes étudiants PFE qui se reconnaîtront ici. Pour s'être montrés compréhensifs. Je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien.

Un grand merci à tous mes amis surtout Halal, Nadia, Nacima, Djamila, abdelkrim, Khaled, samir, kheira, , Jahida, farida, karima, Aouatef, Fairouz, Cherifa, et à toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Si par hasard, je venais d'oublier certaines personnes, qu'elles sachent que ma reconnaissance va bien au-delà de ces remerciements

J'ai une infinie liste d'amis à l'Université de Blida et je ne ferai pas le pari de les énumérer sans risque d'en omettre certains. Je m'astreins à un devoir de reconnaissance à l'égard de tous.

Au moment où j'ai écrit ces lignes dans le calme et la sérénité,

la pression de fin de thèse est tombée...

DEDICACES

Je remercie les trois personnes qui me sont les plus chères, mon conjoint Belkacem et mes filles Ikram et Imène, pour leur support moral et affectif, leur compréhension et leurs encouragements. Vous avez été mes bouffées d'oxygène, alors c'est promis à partir d'aujourd'hui je vous consacre plus de temps !!! Vous dédier cette thèse est bien peu de chose en regard de ce que vous m'apportez. Je sais que je vous dois beaucoup alors un grand merci pour avoir su supporter l'envahissement du frigo par diverses substances expérimentales !!

Il est difficile de trouver des mots assez forts pour exprimer mon immense gratitude et ma plus grande affection à deux personnes, à qui je dois tout, mon défunt père (Allah yarhmou), mon adorable mère, pour leur amour, leurs sacrifices, leur dévouement et leur encouragement inlassable ; qu'ils acceptent que je leur dédie ce travail.

L'achèvement de ce travail, est l'occasion de remercier vivement mes frères et mes sœurs, mes beaux frères et ma belle famille pour leur soutien moral.

INTRODUCTION

La situation de l'élevage du lapin en Algérie reste une activité millénaire des ruraux; cette espèce est intégrée aussi bien dans le système « autarcique » des basses-cours que dans les systèmes d'élevage ouverts au marché et les pratiques cynégétiques, elle n'apparaît pas dans les statistiques et ne fait pas l'objet d'un enseignement similaire aux autres productions spéciales (bovine, ovine, aviaire).

Deux secteurs de production se distinguent actuellement en Algérie, un secteur rationnel et un secteur traditionnel.

- Secteur rationnel: apparu seulement dans le début des années quatre-vingt, basé essentiellement sur des animaux hybrides importés de France et de la Belgique, mais leur adaptation s'est révélée difficile à cause des conditions climatiques et de l'alimentation locales [34; 35].

- Secteur traditionnel: constitué de nombreux petits élevages de 5 à 8 lapines, localisés en milieu rural ou à la périphérie des villes, et dont la production est souvent destinée à l'autoconsommation. Il est à signaler que les données relatives à cette activité d'élevage restent faibles et anciennes. La plus récente enquête date de 2006 et qui a été réalisée par Djellal et *al*, 2006 [36] dans la région de Tizi Ouzou

Cependant, le développement d'une filière cunicole basée sur l'importation des souches hybrides (1985, 1988) pour intensifier la production a échoué en raison de nombreux facteurs : la méconnaissance de l'animal, l'absence d'un aliment industriel et de programme prophylactique. De plus, ce programme a eu comme conséquence la marginalisation de la population locale tant de point de vue de sa connaissance que de son intégration dans les systèmes d'élevage [1]. De ce fait, la production cunicole est orientée vers l'utilisation de la population locale préalablement caractérisée tant sur le plan zootechnique que sur le plan de la reproduction.

Par ailleurs, tous les projets du développement cunicole utilisant le lapin local doivent se baser sur une logique d'ensemble comprenant, en premier lieu, l'identification de la population locale existante de point de vue morphologique, et la connaissance de ses aptitudes biologiques et zootechniques, ainsi que son adaptabilité ce qui pourrait aider par la suite le montage des programmes de

sélection ou des systèmes de production convenables. C'est ainsi que depuis 1990, l'Institut Technique des Elevages (ITELV) et certaines Universités, notamment celle de Tizi-Ouzou ont mis en place des programmes de caractérisation de ces populations et de contrôle de leurs performances dans la perspective de préserver ce patrimoine génétique, identifier ses caractéristiques et promouvoir son développement. Plusieurs axes ont été visés par les chercheurs :

- La caractérisation des performances

Plusieurs travaux ont été réalisés afin de connaître les performances de cette population du lapin tant sur le plan zootechnique, morphométrique que sur le plan de la reproduction [2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9 ; 10, 11].

Aussi, le lapin local se caractérise par un poids adulte de 2,8 kg, ce qui permet de le classer dans le groupe des races légères [33]. Il présente plusieurs phénotypes résultants des croisements intempestifs et parfois volontaristes avec des races étrangères introduites en Algérie, au cours des années soixante-dix, dans le cadre de certains projets de développement rural (Néo-zélandaise, Californienne, Fauve de Bourgogne, Géant des Flandres, Géant d'Espagne) et entre 1985 et 1989 (Hybrides commerciaux : Hyla et Hyplus). Le résultat de ces introductions aléatoires était une mixture anarchique et la perte de lapin originaire dans certaines régions de l'Algérie.

Par ailleurs, le lapin local présente des qualités très intéressantes, à savoir une bonne adaptation aux conditions climatiques et alimentaires locales (résistance avérée à la chaleur et à certaines maladies, adaptation à des conditions rigoureuses et à une alimentation de qualité médiocre), mais aussi des défauts de cette population, à savoir sa prolificité et son poids (à la naissance, au sevrage et à l'âge adulte) trop faibles pour être utilisés tels quels dans les élevages producteurs de viande.

Il convenait donc de définir un programme permettant d'améliorer ces faibles performances tout en conservant ses qualités d'adaptation [28 ; 29 ; 6 ; 7]. Deux programmes de sélection et d'amélioration génétique ont été mis en place. Le premier consiste à une création d'une souche synthétique, obtenu par l'insémination des femelles de population locale avec la semence de mâles de la souche INRA 2666 [2 ; 30] alors que le deuxième est conforté par l'étude des

corrélations qui montre des aptitudes à la création d'une lignée prolifique [31], et d'une lignée à croissance améliorée [32].

- Sur le plan physiologie de reproduction

Le lapin local a fait l'objet seulement de quelques études portant sur les aspects physiologiques et les profils hormonaux des lapins adultes [12], la caractérisation de certains paramètres biochimiques plasmatiques et histologiques chez les lapines non gestantes et au cours de la gestation [13], l'effet du rythme de reproduction sur les performances de reproduction et de production [14], et les composantes biologiques de la prolificité et les facteurs de variation du poids fœtal en fin de la gestation [15]. Par ailleurs, des travaux révèlent un taux de réceptivité de la lapine locale faible comparativement à celui des races ou hybrides étrangères [74; 516;17]. Cet état de faits nous a emmené à étudier ce paramètre qui conditionne la productivité des élevages cunicoles.

La lapine est une espèce à ovulation provoquée par l'accouplement. La durée de gestation est en moyenne de 31 jours. Elle produit de 5 à 9 lapereaux par portée [16]. Elle accepte l'accouplement dans les heures suivant la mise bas. En effet, un pourcentage important de lapines peuvent s'accoupler, ovuler et être fécondées aussitôt après la parturition. Elle peut donc être simultanément allaitante et gestante [17]. Après la mise bas, l'utérus involue très rapidement et perd plus de la moitié de son poids en moins de 48 heures. La lapine présente un comportement d'œstrus et elle est fécondable immédiatement après la mise bas [18]. Toutes les expériences montrent une réceptivité maximale (nombre de lapines acceptant l'accouplement / nombre de lapines présentées au mâle proche de 100%) dans les heures qui suivent la mise bas [17]. Cependant, jusqu'à ce jour très peu de données sont disponibles sur l'étude de la physiologie de la reproduction notamment chez la lapine locale.

En insémination artificielle, l'ovulation est provoquée par une injection de GnRH. Dans ces conditions, Theau-Clément, 2008 [19] a montré que la productivité (nombre de lapereaux produits par insémination réalisée) des femelles réceptives (acceptant l'accouplement) est trois à quatre fois plus élevée que celle des femelles allaitantes et non-réceptives (refusant l'accouplement). Ce

résultat est la conséquence de la supériorité chez les lapines réceptives, de la fréquence d'ovulation, de l'intensité d'ovulation, du taux de fécondation et de la viabilité embryonnaire [20].

La réceptivité sexuelle des lapines dépend du stade de développement folliculaire [21 ; 22 ; 23 ; 24 ; 25; 26; 27] mais il n'y a eu aucune étude récente sur la cinétique folliculaire des races locales de la région du Maghreb.

Dans ce contexte, nous avons adopté un plan de travail de la thèse comprenant deux parties étroitement liées.

➤ ***En premier lieu, nous nous sommes proposé de réaliser une enquête sur l'élevage du lapin local consacrée à l'évaluation des performances de production au niveau des élevages traditionnels dans la région de la Mitidja, et cela dans le but de mesurer la réceptivité de la lapine locale ainsi que les facteurs susceptibles de l'influencer.***

➤ ***En second lieu, notre travail avait pour objectif l'étude de certains paramètres anatomiques et physiologiques pouvant élucider le phénomène de réceptivité chez la lapine locale à savoir : la dynamique folliculaire au cours de l'ovulation, les caractéristiques ovariennes et utérines et les profils hormonaux. Ceci est précédé d'une étude axée sur la connaissance de l'involution utérine en post partum.***

Dans ce document, nous présenterons une revue bibliographique dans laquelle nous exploitons essentiellement les connaissances sur la croissance folliculaire, la réceptivité et l'ovulation chez la lapine. La partie expérimentale comprendra : le matériel et les méthodes mis en œuvre, ainsi que les résultats, discussion et conclusion relatifs à chaque expérimentation. Enfin une conclusion générale permettra de faire une synthèse des résultats obtenus, et en déduire les recommandations et les perspectives envisagées.

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LE LAPIN

1.1 Races, populations locales et hybrides

1.1-1 Races

La notion de la race peut avoir plusieurs définitions selon qu'elle est envisagée par le généticien, le biologiste, le zootechnicien, l'éthologiste ou l'éleveur. Selon Lebas, (2002) et Boucher et Nouaille, (2002) [37 ; 38] la définition la plus utilisée est celle de Quittet : « La race est, au sein d'une espèce, une collection d'individus ayant en commun un certain nombre de caractères morphologiques et physiologiques qu'ils perpétuent lorsqu'ils se reproduisent entre eux ». Les races de lapins dans le monde sont classées selon l'origine et la zone géographique d'une part et la taille ou le poids adulte d'autre part.

➤ Classification selon l'origine et la zone géographique

Lebas, (2000) [16] classe les lapins en 4 types de races :

- Les races primitives : ou primaires ou encore géographiques, directement issues des lapins sauvages et à partir desquelles toutes les autres races sont issues.
- Les races obtenues par sélection artificielle : Fauve de Bourgogne, Néo-Zélandais blanc, Argenté de Champagne.
- Les races synthétiques obtenues par croisement raisonné de plusieurs races : Géant Blanc du Bouscat, le Californien.
- Les races mendéliennes : obtenues par fixation d'un caractère nouveau, à détermination génétique simple, apparu par mutation comme le Castorex, le Satin, Angora.

➤ Classification selon la taille ou le poids adulte

Ces différentes races de lapin diffèrent aussi par leur précocité, prolificité, vitesse de croissance pondérale et vitesse d'atteinte à la maturité. Nous retrouvons :

Les races lourdes : caractérisées par un poids adulte qui dépasse les 5 kg. La race la plus grande est le géant de Flandres (7 à 8 Kg) suivi du Bélier Français et du Géant Papillon Français.

Les races moyennes : leur poids varie entre 3,5 et 4,5 kg et on peut citer par exemple: L'Argente de Champagne, le Fauve de Bourgogne, le Californien et le Néo-Zélandais Blanc.

Les races légères : leur poids varie entre 2,5 et 3 Kg, parmi elles se trouvent le Russe, le Petit Chinchilla ou l'Argenté Anglais.

Les races naines : caractérisées par un poids adulte de 1kg, c'est le cas du lapin Polonais [39].

1.1-2 Populations locales

Une population est un ensemble d'animaux se reproduisant entre eux. La population locale est définie comme étant une population géographique [40].

- Dans le monde : Les lapins utilisés pour la production de viande, appartiennent à des populations d'animaux issus de croisements divers, sans forcément répondre aux critères d'origine et de standard de la race, appelées populations locales. Généralement, les populations locales existent dans les pays du tiers monde : cas du lapin Baladi du Soudan et d'Egypte, le Maltais de Tunisie [37].
- En Algérie : Les travaux réalisés sur la population locale avaient pour objectif la caractérisation de performances de croissance et de reproduction. Ces travaux ont concerné 4 échantillons de la population locale.
- La population locale élevée en milieu contrôlé à l'Institut Techniques des Elevages (l'ITELV) est constituée depuis 1993. Les géniteurs de cette

dernière provenaient de 9 wilayas d'Algérie. Cette population présente un niveau de performances constant mais très hétérogène [41 ; 32 ; 31 ; 44].

- La population dénommée Kabyle élevée à Tizi Ouzou présente une diversité du point de vue couleur de la robe. Cette population présente plusieurs phénotypes de couleur, conséquences de la contribution des races importées : Fauve de Bourgogne, Néo Zélandais, Californien, [45 ; 4 ; 1 ; 6].
- D'autres travaux ont été réalisés sur des groupes d'animaux localisés dans la région sud-est du pays [11].
- La population dite « blanche » de la coopérative de Djebba, est certainement issue de croisements (hybrides) importés de France par l'Algérie au cours des années 1980. En l'absence d'un renouvellement à partir des lignées parentales le remplacement des reproducteurs a été effectué sur place, en choisissant parmi les sujets destinés à la boucherie les animaux performants. Cette pratique a été maintenue jusqu'à ce jour, sans apport extérieur [8].

1.1-3 Souches

La souche est une population d'effectif limité, fermé ou presque fermé, sélectionnées pour un objectif plus précis qu'un standard. Pour créer une souche on peut partir d'une ou de plusieurs populations et/ou race. Ces souches sont souvent génétiquement plus homogènes que les races [40].

1.2 Alimentation du lapin

1.2-1 Besoins nutritionnels

1.2-1-1 Besoins en eau

L'eau est le nutriment le plus important dans l'alimentation du lapin. Elle compose près de 70% du corps du lapin. Un équilibre hydrique satisfaisant est très important pour le maintien de l'état de santé et des aptitudes fonctionnelles des animaux domestiques. Les besoins en eau varient selon le stade

physiologique. Ainsi, il faut prévoir en moyenne 0,2 litre par jour pour un jeune lapereau à l'engraissement et 0,6 litre d'eau par jour pour une lapine allaitante et un litre d'eau pour la lapine avec sa portée [46].

Le lapin boit un grand nombre de fois au cours de la journée et de la nuit (25 à 30 fois en moyenne par 24h); surtout s'il est alimenté exclusivement avec des aliments de types granulés ou farineux, il boit deux à trois fois plus que la quantité d'aliment sec qu'il mange. L'eau est abondante dans: les fourrages frais (65 à 90%) elle l'est moins dans les fourrages secs (10 à 20%) et en quantité réduite dans les grains (10%). Un abreuvement insuffisant, entraîne une chute rapide de la consommation de l'aliment qui cesse totalement après 36 à 48 h (entraînant des accidents rénaux, une perte de poids de 20 à 30% en moins d'une semaine). Par contre, si l'eau est disponible et l'aliment manque le lapin peut survivre 3 à 4 semaines [47].

L'eau doit être de bonne qualité sur le plan chimique et bactériologique. Si elle est polluée par des microorganismes, on peut la désinfecter simplement en y ajoutant de l'hypochlorite de soude (eau de Javel). Le dosage préconisé est de 2ml d'eau de javel dosant 12° chlorométrique pour 10 litres d'eau [46]. Concernant la salinité de l'eau, on a constaté qu'une eau saumâtre dont la teneur en sodium est supérieure à 1% réduisait la vitesse de croissance de 12 à 16% [48].

1-2-1-2 Besoins en énergie et en cellulose

Selon Lebas, (1989) [49] pour le lapin, le système énergétique employé de la manière la plus courante pour exprimer les besoins est celui de l'énergie digestible (ED). En effet, l'énergie métabolisable représente une part relativement fixe de l'énergie digestible (94 à 96%). L'énergie contenue dans l'aliment sert à couvrir les besoins d'entretien et de production. Dans l'alimentation, l'énergie est essentiellement fournie par les glucides, les lipides et quelques fois par les protéines après désamination [47]. Un besoin strict en énergie n'a pas pu être déterminé; toutefois, on a pu montrer que l'ingestion n'est correctement régulière qu'entre 2200 et 3200 kcal ED/kg d'aliment [50]. Le lapin présente un besoin spécifique en acide linoléique (acide gras essentiel); une ration classique contenant 3 à 4% de matières grasses est suffisante pour le couvrir. Une

augmentation de la teneur en lipides de l'aliment du lapin ne semble pas indispensable car les matières premières composant la ration du lapin contiennent suffisamment de matières grasses naturelles allant de 3 à 5% [51].

Chez les lapines reproductrices ou chez les lapins en croissance-finition, une partie importante de l'énergie alimentaire peut être apportée sous forme d'amidon car le tube digestif n'a pas encore atteint sa maturité fonctionnelle. Ainsi, en période de post- sevrage, il convient de respecter un taux d'amidon inférieur à 14% [16]. Les lapines en lactation, sont susceptibles au déficit énergétique [52]. Une baisse d'énergie peut provoquer une baisse d'acceptation du mâle, du taux de fertilité [53 ; 54] et une forte mortalité en fin de lactation [55].

La cellulose quant à elle joue un rôle capital dans l'alimentation du lapin en fournissant le lest. Une teneur de 13 à 14% apparaît comme suffisante pour les lapins en croissance. Une trop forte réduction de la quantité de fibres ingérées entraîne des baisses de vitesse de croissance, souvent associées à des troubles de l'ingestion ou de la digestion et des mortalités par diarrhée [56].

Par ailleurs, des observations de terrain ont montré que les lapins qui ingèrent des aliments contenant très peu de fibres (teneurs inférieures à 10%), consomment parallèlement les poils comme pour compenser le manque de fibre dans l'aliment [57]. Il convient, cependant, de souligner que le lapin a besoin d'ingérer des aliments fibreux tels que l'herbe ou les racines alimentaires. Les fibres qu'ils contiennent jouent un rôle important tout au long du système digestif (transit digestif). Un lapin qui n'ingère pas assez de matières fibreuses peut commencer à mordre le morceau de bois à sa portée et peut même s'en prendre à la fourrure de ses congénères [58].

1.2-1-3 Besoins en protéines et acides aminés, besoins azotés

Les matières azotées sont indispensables à l'alimentation du lapin. Il est très sensible à la qualité des protéines de sa ration. Les travaux de Blum (1984) [59] ont permis de montrer que 10 des 21 acides aminés sont les plus essentiels. Un onzième, la glycine est semi essentiel. Les protéines doivent représenter 15 à 16% de la ration pour les jeunes en croissance et 16 à 18% pour les mères allaitantes [47]. Quand la teneur en matières azotées des aliments est inférieure à 12%, la production laitière de la lapine diminue, entraînant une chute de

croissance des lapereaux avant et après sevrage ainsi que des risques accrus de diarrhées [57]. La teneur en protéines doit évoluer avec le niveau énergétique de la ration [47]. Les besoins du lapin en acides aminés n'ont été étudiés que pour la lysine, l'arginine et les acides aminés soufrés (méthionine, cystine). Ainsi, les besoins en lysine et en acides aminés soufrés sont proches de 0,6 % et ceux en arginine sont d'au moins 0,8% [59].

1.2-1-4 Besoins en vitamines et en minéraux

Les microorganismes de la flore digestive synthétisent des quantités importantes de vitamines hydrosolubles qui sont valorisées par le lapin grâce à la cœcotrophie [60]. Si l'apport pour l'une ou l'autre de ces vitamines devient excessif ou insuffisant, cela peut entraîner des troubles digestifs, un retard de croissance, une mortalité et des avortements.

Un excès ou une carence en vitamine, se traduit chez les lapines gestantes par des avortements et la mise bas de lapereaux mort-nés. Par contre aucun symptôme externe n'est visible chez les lapereaux en croissance recevant un aliment surchargé en vitamine A [16]. Un apport excessif de vitamine D entraîne une calcification rénale et aortique, le seuil de 2000 UI/kg ne devrait jamais être dépassé [60]. Quant aux minéraux, les plus indispensables sont surtout le calcium, le phosphore, le sodium et le potassium. Toutefois, une amélioration des performances de croissance avec un apport de sulfate de cuivre dépassant largement les besoins (2000 ppm) aurait été enregistrée [50].

1.2 Comportement alimentaire

Le rythme de tétée et la quantité de lait dont disposent les lapereaux nouveaux nés sont imposés par la mère. A partir de la troisième semaine, on note une modification du comportement alimentaire des lapereaux. Les lapereaux ingèrent quelques particules de l'aliment maternel et un peu d'eau de boisson si celle-ci est disponible. Au cours de la quatrième semaine de vie, l'ingestion d'aliment solide et d'eau devient rapidement prédominante par rapport à celle du lait. Le jeune lapereau passe d'une seule tétée par jour à une multitude de repas

liquides et solides plus ou moins alternés et répartis irrégulièrement le long de la journée: de 30 à 40 repas solides ou repas liquides par jour.

Une analyse poussée du comportement des lapins selon Eberhart, (1980) [61], indique que lorsque la température s'accroît, le nombre de repas (solide et liquide) par jour décroît. Il passe de 37 repas à 10 °C à 27 seulement à 30° C chez les jeunes lapins Néo-Zélandais. Si la quantité d'aliment consommée à chaque repas est réduite par la forte température (5,7g/repas de 10°C à 20°C contre 4,4 g à 30°C), il n'en est pas de même pour la quantité d'eau consommée. Elle augmente à chaque prise avec l'augmentation de la température (de 11,4 à 16,2g par prise entre 10°C et 30°C). Ceci montre une influence de la température sur la prise alimentaire des jeunes animaux en engraissement. Chez les lapines gestantes, on note une baisse de consommation alimentaire voire l'arrêt complet à la veille de la mise bas chez certaines femelles, par contre, l'ingestion d'eau ne devient jamais nulle [50].

1.4 Paramètres et performances de reproduction chez la lapine

La carrière reproductive d'une femelle est appréciée par la réceptivité, fertilité et la prolificité qui conditionnent la productivité numérique et par conséquent la rentabilité d'un élevage cunicole.

1.4-1 Réceptivité

Une lapine est dite réceptive (ou en œstrus) lorsqu'elle a un comportement d'acceptation de l'accouplement, elle se met alors en position de lordose en présence d'un mâle, immédiatement avant la saillie. Le taux de réceptivité est le nombre de lapine ayant un comportement d'acceptation de l'accouplement ou ayant une vulve turgescente violette ou rouge/sur le nombre de lapines étudiées. En saillie naturelle, on parle plus d'un taux d'acceptation du mâle que d'un taux de réceptivité. Le taux d'acceptation est égal au nombre de lapines acceptant l'accouplement/nombre de lapines présentées au mâle [242]. Chez la population locale Moulla et Yakhlef, (2007) [74] ont obtenu un taux moyen de réceptivité de 89%, supérieur à celui obtenu par Zerrouki et al, (2001) [516] chez des lapines issues de la même population avec un taux de réceptivité de 80%.

1.4-2 Fertilité

La fertilité est la capacité d'un individu à se reproduire. Elle peut être estimée après palpation abdominale 12j après la saillie, par le nombre de femelles palpées positives rapporté au nombre de femelles saillies [62 ; 63 ; 64]. C'est également le nombre de femelles mettant bas rapporté au nombre de femelles saillies [65 ; 66 ; 67]. La fertilité d'un troupeau peut être jugée par le pourcentage de femelles qui sont arrivées au moins une fois à se reproduire, et par le nombre moyen de mises bas réalisé par lapine au cours de la période d'observation [68]. Selon le rythme de reproduction adopté, on peut obtenir des résultats de fertilité différents. Maertens et Okerman, (1988) [69], rapportent que la fertilité en rythme semi intensif est meilleure que celle du rythme *post partum*, Theau-Clément et Poujardieu, (1994) [20], considèrent fertile, toute femelle palpée pleine, 12 jours après 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 [19]. Le taux de fertilité des souches sélectionnées est de 65,4% chez la lapine Californienne et de 68,5% chez la Néo-Zélandaises [64].

Chez la population Kabyle, Zerrouki et *al*, (2004) [33] enregistrent un taux de fertilité de 73 %. Ces auteurs estiment que la fertilité pourrait être améliorée chez les femelles en diminuant la fréquence des avortements et des cas de pseudogestations. Pour des femelles de population locale Tunisienne, [70] obtiennent une fertilité de 61%.

1.4-3 Prolificité

La prolificité à la naissance est mesurée par le nombre de lapereaux nés vivants et nés totaux par mise bas [63 ; 71] Selon Roustan, (1992) [72], la taille de la portée se situe généralement entre 3 et 14 lapereaux (extrêmes de 1 à 20) et varie selon le format des lapines. La prolificité des lapines locales algériennes est modeste, elle est en moyenne de 7,2 nés totaux/ mise bas [33 ; 73 ; 74]. Pour la race blanche [8] elle est de 7,14. Les races de petit format ont généralement une faible prolificité mais une bonne fertilité, les races de format moyen sont les plus productives [75 ; 76]. La prolificité à la naissance résulte entre deux composantes: le nombre d'ovules et leur viabilité qui évoluent indépendamment [77]. Dans les élevages fermiers, la prolificité atteint 6,4 lapereaux par portée chez la lapine

algérienne [78] et à 6,2 lapereaux par portée chez la lapine tunisienne [70]. Chez les souches sélectionnées, la prolificité à la naissance est plus élevée puisque Hulot et Matheron, (1980) [77] rapportent respectivement chez la Californienne et la Néo-Zélandaise les valeurs de 8,8 et 7,4 nés totaux par mise bas.

1.4-4 Taille de portée par mise bas

La population locale Algérienne de lapin se caractérise par une prolificité relativement moyenne à la naissance. D'après les travaux réalisés par Remas (2001) ; Saidj, (2006) ; Moulla et Yakhlef, (2007) [12 ; 31 et 74], le nombre total de lapereaux nés par portée chez la population Kabyle est en moyenne 7,2. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus sur des femelles de même origine mais exploitées à un niveau fermier avec une moyenne de 5 [79 ; 36]. Ces faibles performances dans les élevages fermiers pourraient être attribuées au rythme de reproduction adopté.

Les lapines des populations locales Marocaine et Egyptienne se caractérisent par une prolificité plus modeste, qui est en moyenne de 6,4 [80 ; 81 ; 82 ; 83 ; 84]. Toutefois, la prolificité de la population locale Algérienne est inférieure à celle des races Européennes notamment le Fauve de Bourgogne [85], le Géant d'Espagne [86] et le Gris de Carmagnola [87] estimée en moyenne à 8,8. Par ailleurs, les souches sélectionnées à l'exemple de l'INRA 2066 [88] et Hyplus [89] se caractérisent par des prolificités encore supérieures avoisinant en moyenne 10,3 lapereaux (Tableau 1.1).

Tableau 1.1: Taille de la portée en fonction de l'origine de l'animal

(Synthèse des références bibliographiques)

Auteurs		Origine de l'animal	Taille de la portée
Remas (2001)	[12]	Population locale (Algérienne)	7,4
Saidj (2006)	[31]	Population locale (Algérienne)	7,2
Moulla et Yakhlef (2007)	[74]	Population locale (Algérienne)	7,1
Bouzekraoui (2002)	[80]	Population locale (Tadla, Maroc)	6,2
Barkok et Jaouzi (2002)	[81]	Population locale (Zemmouri, Maroc)	6,7
Khalil (2002b)	[83]	Giza White (Égypte)	6,7
Khalil (2002a)	[82]	Baladi White (Égypte)	5,3
Afifi (2002)	[84]	Gabali (Égypte)	6,3
Hajj et al, (2002)	[429]	Baladi Rabbits (Lebanon)	6,06
Bolet (2002a)	[85]	Fauve de Bourgogne	9
Lopez et Sierra (2002)	[86]	Géant d'Espagne	8,8
Lazzaroni (2002)	[87]	Gris de Carmagnola (Italie)	8,5
Bolet (2002b)	[88]	INRA2066 (France)	10
Verdelhan et al. (2005)	[89]	Hypus	10,6

1.4-5 Nombre de lapereaux vivants par portée

Selon Zerrouki et al, (2005a) [6] les résultats obtenus en station expérimentale sur des lapines de population locale Algérienne, sont 6,1 nés vivants par portée sur 7,2 nés totaux. En Europe, le lapin Gris de Carmagnola d'Italie, présente un nombre moyen de nés vivants par portée de 7,0 sur 7,69 nés totaux ce qui représente 91% de la totalité de la portée [87] alors que l'Argenté de

Champagne et le Géant Flemish présentent des valeurs de 7 et 8 nés vivants, ce qui représente respectivement 87% et 89% de la totalité de la portée [90 ; 91]. Sur des souches sélectionnées, à l'exemple de Hyla, le nombre de lapereaux nés vivants par portée est de 7,8 sur 8,5 nés totaux [92].

1.4-6 Productivité numérique

Elle représente un paramètre important de la rentabilité d'un élevage cunicole [93]. Elle se définit par le nombre de lapereaux sevrés par femelle reproductrice et par unité de temps [17]. Elle varie en fonction du type génétique [94]. En Algérie, comparée aux conditions d'élevage rationnel des lapines hautement productives comme celles rapportées par Lebas, (2005) [95] la productivité numérique enregistrée chez les femelles de la population kabyle est de l'ordre de 20 lapins sevrés /femelle / an [96], 25 à 30 lapins sevrés /femelle/an [4 ; 43 ; 7] qui est donc largement inférieure. Par contre, elle est proche des résultats rapportés par Colin, (1994) [97] sur les élevages semi-rationnels au Mexique (30 lapins/femelle/an). Au Bénin, [98] dans des conditions plus ou moins similaires, des lapines, ont réalisé une productivité de 25,5 lapereaux/femelle/an.

1.4-7 Mortinatalité

Elle correspond à la mortalité à la naissance, entre la mise bas et 3 jours d'âge. Dans les élevages, la mortinatalité des lapereaux dépend des aptitudes maternelles des lapines, de la taille de portée et du poids des lapereaux à la naissance [99]. Chez la population locale, les travaux effectués par Berchiche et Zerrouki, 2000 ; Berchiche et Kadi, 2002 ; Remas, 2001 ; Zerrouki et al, 2005a ; Moulla et Yakhlef, (2007) [79 ; 4 ; 12 ; 6 et 74] montrent que la mortinatalité est très variable, elle est en moyenne de 18,9% (Tableau 1. 2). Cette situation pourrait être liée à la perte de portées entières à la naissance chez certaines femelles exprimant un comportement maternel déficient (mises bas sur le grillage, abandon des portées, cannibalisme) et aux mauvaises conditions d'ambiance (température élevée durant l'été et basse en hiver). L'effet de la saison sur la mortinatalité chez la population locale a été démontré par Belhadi, (2004) [5]. La mortinatalité est plus élevée en automne (19,7% vs 16,7% en hiver).

En Egypte, la mortalité chez les lapines de population locale (Baladi White et Giza White) est plus faible, que celle observée sur les lapines de population locale au Maroc (5,4 vs 11,8), [82; 83; 81; 80]. Cette mortalité est nettement supérieure à celle des races Européennes, notamment le Fauve de Bourgogne et le Chinchilla [100] aux souches (Caldes et Prat) et aux lignées (lignée A et lignée V) d'origine Espagnole [101; 102; 103; 104].

Tableau 1. 2: Variation de la mortalité en fonction de l'origine de l'animal
(Synthèse de résultats bibliographiques).

Auteur		Origine de l'animal	Mortalité (%)
Remas (2001)	[12]	Population locale (Algérie)	13,6
Berchiche et Zerrouki (2000)	[79]	Population locale (Algérie)	12,8
Berchiche et Kadi (2002)	[4]	Population locale (Algérie)	12,7
Zerrouki et al. (2005a)	[6]	Population locale (Algérie)	16,4
Moulla et Yakhlef (2007)	[74]	Population locale (Algérie)	21
Khalil (2002a)	[82]	Baladi (Egypte)	5,6
Khalil (2002b)	[83]	Giza White (Egypte)	5,2
Barkok et Jaouzi (2002)	[81]	Zemmouri (Maroc)	14,3
Bouzekraoui (2002)	[80]	Tadla (Maroc)	9,2
Bolet et al. (2004)	[100]	Fauve de Bourgogne (France)	1,3
Bolet et al. (2004)	[100]	Chinchilla (France)	0,8
Gomez et al. (2002a)	[101]	Souche Caldes (Espagne)	7,6
Gomez et al. (2002b)	[102]	Souche Prat (Espagne)	4,3
Baselga (2002a)	[104]	Lignée A (Espagne)	6,9
Baselga (2002b)	[104]	Lignée V (Espagne)	5

CHAPITRE 2.

ETUDE DE LA CROISSANCE FOLLICULAIRE CHEZ LA LAPINE

Au sein de l'ovaire de la plupart des mammifères, deux processus de développement étroitement imbriqués, l'ovogenèse et la folliculogénèse, déterminent le nombre et la qualité des ovocytes produits. Ces processus initiés pendant la vie fœtale se poursuivent pendant toute la vie de la femelle et sont étroitement contrôlés par de nombreux facteurs hormonaux et environnementaux [105]. L'ovogenèse est un processus de développement long et discontinu qui amène à la production de gamètes femelles fécondables. Ce processus débute au stade fœtal, se bloque au stade de prophase de première division méiotique lors de la formation des follicules ovariens, puis reprend à l'ovulation pour se bloquer à nouveau au stade de métaphase de deuxième division méiotique [106]. Ce dernier blocage ne sera levé qu'à la fécondation si elle a lieu. Ainsi, le follicule apporte à l'ovocyte qu'il renferme, l'environnement nécessaire à sa croissance et à l'acquisition de sa compétence à la fécondation et au développement embryonnaire. La croissance folliculaire ou folliculogénèse est un processus continu initié à partir de la réserve de follicules primordiaux jusqu'à l'ovulation ou l'atréisie des follicules en croissance [107]. Elle résulte à la fois de la croissance de l'ovocyte, de la multiplication des cellules de la *granulosa* mais aussi du développement de l'*antrum* lors des dernières étapes de la folliculogénèse. Lors de la croissance des follicules jusqu'au stade pré ovulatoire, on assiste en parallèle à l'ovogenèse. Les processus d'ovulation et d'atréisie marquent la fin de l'ovogenèse et de la croissance folliculaire.

Les études sur la folliculogénèse et l'ovogenèse chez la lapine sont peu nombreuses et anciennes malgré l'utilisation depuis les années 1980 de nouveaux outils dont dispose la recherche comme l'imagerie par ultrasons. Cette technique permet d'observer l'évolution de la population folliculaire de manière non invasive [108] grâce notamment à l'ultrasonographie transrectale, souvent utilisée pour observer les vagues de croissance folliculaire en parallèle à l'étude des profils hormonaux en particulier chez les animaux sauvages [109 ; 110] et chez des

espèces à ovulation provoquée les camélidés [111]. Étant donné que les organes reproducteurs d'animaux de grande taille sont situés immédiatement au-dessous du rectum avec très peu de tissu intermédiaire, l'approche transrectale qui implique l'introduction d'une main gantée et de la sonde dans le rectum, offre un meilleur accès et une meilleure image. Il est donc possible que des limitations physiques (i.e. rectum relativement petit) puissent empêcher l'utilisation de cette méthode chez certains animaux de petite taille [112]. De telles études n'ont encore jamais été effectuées chez la lapine et semblent difficilement réalisables compte tenu de la petite taille des structures folliculaires.

Récemment une étude a été menée sur l'observation de la dynamique folliculaire par échographie chez des lapines pseudogestantes laissant entrevoir de nouvelles perspectives d'étude [113].

2.1 Mise en place de la réserve ovarienne

2.1-1 Mise en place de la réserve ovarienne prénatale

La réserve ovarienne est le nombre d'ovocytes présents dans les follicules primordiaux du cortex ovarien à un instant donné. Ce stock initial est formé avant ou après la naissance selon les espèces et va diminuer au cours du temps.

La lapine se caractérise par rapport aux autres espèces (Figure 2.1), par une ovogenèse et une folliculogénèse post-natale. Le fœtus de lapin, quel qu'en soit le sexe, débute la différenciation sexuelle au 16^{ème} jour de la gestation. Contrairement à la plupart des mammifères (brebis, vache), le stock de follicules primordiaux chez la lapine, comme chez la chatte, n'est pas déterminé pendant la vie fœtale mais s'établit pendant la période néonatale, lors des premières semaines qui suivent la naissance [114 ; 115 ; 105]. Les cellules germinales primordiales encore appelées cellules souches, d'origine extra embryonnaire situées au niveau de la paroi de la vésicule vitelline sont localisables dès le 9^{ème} jour *post coitum* (*p.c*) dans l'endoderme, en arrière de l'intestin postérieur, et dans le mésoderme du bourrelet allantoïdien. Le 12^{ème} jour *p.c.*, deux tiers des cellules germinales sont encore distribuées en dehors des crêtes génitales. Le 14^{ème} jour

p.c., les proportions sont inversées par rapport au stade précédent. Deux tiers des cellules germinales sont répartis dans les crêtes génitales. A 16 jours *p.c.*, la plupart des gonocytes primordiaux se trouvent dans les gonades qui sont sexuellement différenciées. Parallèlement à leur migration qui s'achève au 19^{ème} jour *p.c.*, les cellules germinales primordiales se multiplient avec une activité mitotique intense entre le 16^{ème} et le 18^{ème} jour *p.c.* [116].

Les travaux de Teplitz et Ohno, (1963) et Peters et *al*, (1965) [117; 118] ont mis en évidence que les multiplications par mitoses successives des ovogonies débutent dès le 21^{ème} jour *p.c.* pour s'arrêter 10 jours après la naissance. Au 26^{ème} jour *p.c.*, le stock d'ovogonies est maximal et atteint 12 500 (contre 16 000 chez le mâle) pour ensuite diminuer par dégénérescence et arriver à 8 000 (contre 11 000 chez le mâle) quelques jours avant la mise bas [116].

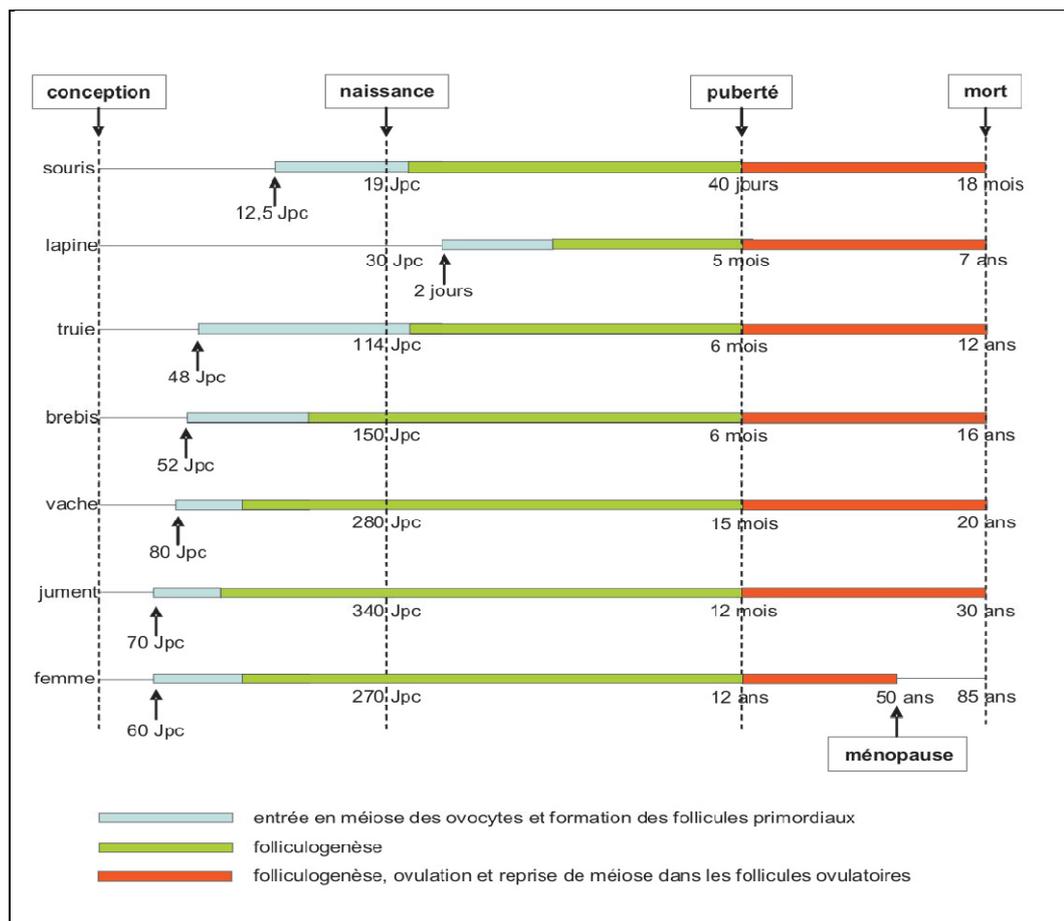


Figure 2.1: Comparaison du déroulement de l'ovogénèse chez les mammifères [105]

2.1- 2 Constitution du stock de follicules primordiaux

Le stock définitif d'ovocytes utilisables par la femelle au cours de sa vie se constitue très précocement, au stade fœtal chez la plupart des mammifères. Dans l'ovaire de fœtus femelle, chaque ovocyte primaire entouré d'une couche unique de cellules somatiques, constitue une structure particulière appelée follicule primordial. Dès la constitution de cette réserve de follicules primordiaux, démarre de façon continue pendant toute la vie de la femelle jusqu'à épuisement du stock, un processus de croissance et de maturation fonctionnelle appelé folliculogénèse [119].

Chez la plupart des espèces, l'entrée en méiose des cellules germinales femelles et leur progression dans les divers stades (leptotène, zygotène, pachytène et diplotène) se produisent au cours de la vie fœtale [120 ; 121]. Chez le furet et le vison il a été confirmé que la méiose débute juste après la naissance et que les ovogonies deviennent ovocytes très tôt pendant leur période néonatale [122]. Chez la lapine, d'après Peters et *al*, (1965) [118] cette étape est observée dès le 1^{er} jour après la naissance avec une apparition progressive des différents stades de prophase I : 1^{er} leptotènes à 1 jour *post- partum* (*p.p.*), zygotènes à 4 jours *p.p.*, pachytènes à 6 jours *p.p.* et diplotènes (blocage méiotique) à 10 jours *p.p.* Par la suite, Kennelly et *al*, (1978) [123] ont apporté des précisions sur les durées respectives de chacune des phases de la prophase méiotique et concluent que la phase leptotène dure 3 à 8 h, zygotène 44 h, pachytène 216 h et la phase diplotène 96 h. La méiose est rapidement bloquée au stade diplotène (fin de la prophase I de méiose). L'ovogonie prend alors le nom d'ovocyte primaire (ovocyte I), et son noyau de vésicule germinative (en anglais *Germinal Vesicle* ou GV). Au 14^{ème} jour après la naissance, le stock d'ovocytes est définitif, l'ovogénèse est complète. A ce stade, quelques cellules aplaties appelées pré-granulosa et une membrane conjonctive dite basale, future membrane de Slavjanski, viennent entourer progressivement l'ovocyte primaire formant ainsi les follicules primordiaux, qui bien qu'ils soient encore rares à deux semaines *p.p.* [124] représentent la réserve des cellules germinales d'où s'échapperont les follicules

destinés à se développer et dont quelques-uns seulement arriveront à maturité [125]. Au 15^{ème} jour *p.p.*, les rapports entre les cellules de la *granulosa* et les cellules germinales sont caractérisés par une intime juxtaposition des membranes cellulaires adjacentes, par la présence de nombreux prolongements cytoplasmiques digités et la pénétration profonde des prolongements cellulaires de la *granulosa* dans le cytoplasme des cellules germinales. Ces observations indiquent que, en plus de leur rôle dans la nutrition des cellules germinales et dans la formation de la zone pellucide, les cellules de la *granulosa* de l'ovaire en développement peuvent avoir une influence directe sur la maturation des cellules germinales [126]. Au 20^{ème} jour *p.p.*, l'ensemble des ovocytes sont bloqués au stade diplotène de la prophase I et sont majoritairement sous la forme de follicules primordiaux (ovocytes au stade vésicule germinale entourés de quelques cellules aplaties).

Foote et Carney, (2000) [127] indiquent que les premiers follicules primaires, secondaires, tertiaires ou à *antrum* apparaissent respectivement à 4, 8 et 12 semaines après la naissance. Ces observations ont été confirmées par Mariana et Solari, 1993 [128] qui n'ont décelé que des follicules secondaires ou tertiaires dans les ovaires de lapines de 4 semaines d'âge, alors que Hutt et *al*, (2006) [124] ont observé des petits follicules *antraux* dès 8 semaines et à 12 semaines, leur morphologie est complète [129 ; 124].

A ce stade, l'apparition des premiers follicules à *antrum* ne marque pas l'établissement de la puberté chez la lapine car l'immaturité des structures ovariennes et du système hormonal ne permet pas le développement de ces follicules jusqu'au stade pré ovulatoire. Après la formation de l'*antrum*, la croissance de l'ovocyte est achevée [130]. A ce stade, débute l'établissement des liaisons entre l'ovocyte et les cellules folliculaires dont les plus importantes sont les « gap junction » qui permettent le couplage ionique entre les cellules folliculaires elles-mêmes et l'ovocyte ainsi que le passage de petites molécules et de signaux chimiques de poids moléculaire inférieur à 1KD [126]. Les couplages ioniques et électroniques de toutes les cellules présentes à l'intérieur de la lame basale, des cellules de la *granulosa*, des cellules du *cumulus oophorus* et de l'ovocyte, créent un syncytium électrophysiologique. Quelques heures avant la décharge ovulante, les cellules péri ovocytaires demeurent attenantes à l'ovocyte

en développant à travers la zone pellucide des prolongements dont les pieds restent attachés à l'ovocyte par des jonctions adhérentes et des jonctions perméables (Figures 2.2, 2.3) [131]. Les jonctions au niveau de l'ovocyte semblent plus solides qu'entre les cellules de la *granulosa* et celles du *cumulus oophorus*, ce qui leur permettrait de résister aux forces qui se développent au moment de la dissociation du *cumulus oophorus* après la décharge gonadotrope [132].

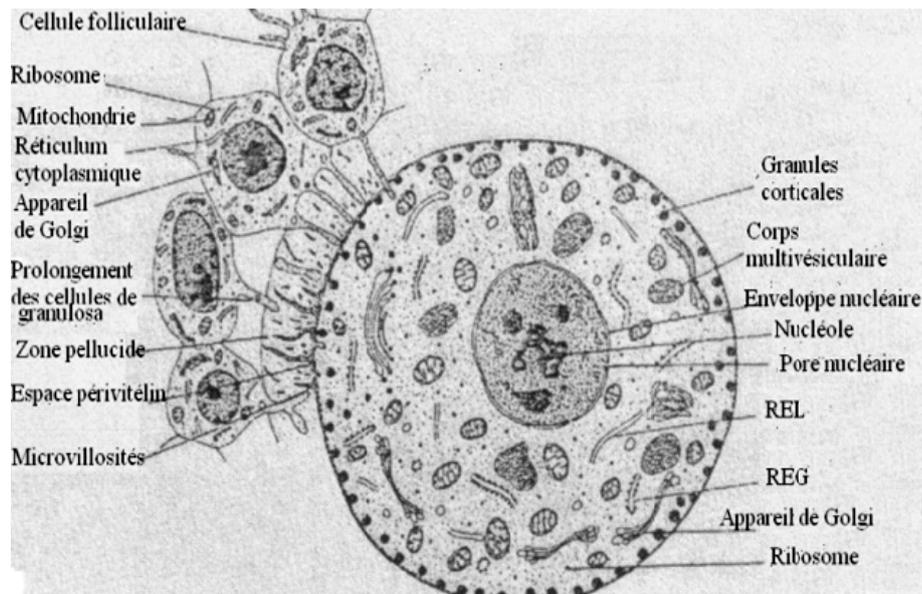


Figure 2.2: Ultrastructure des différents composants de croissance folliculaire [131]

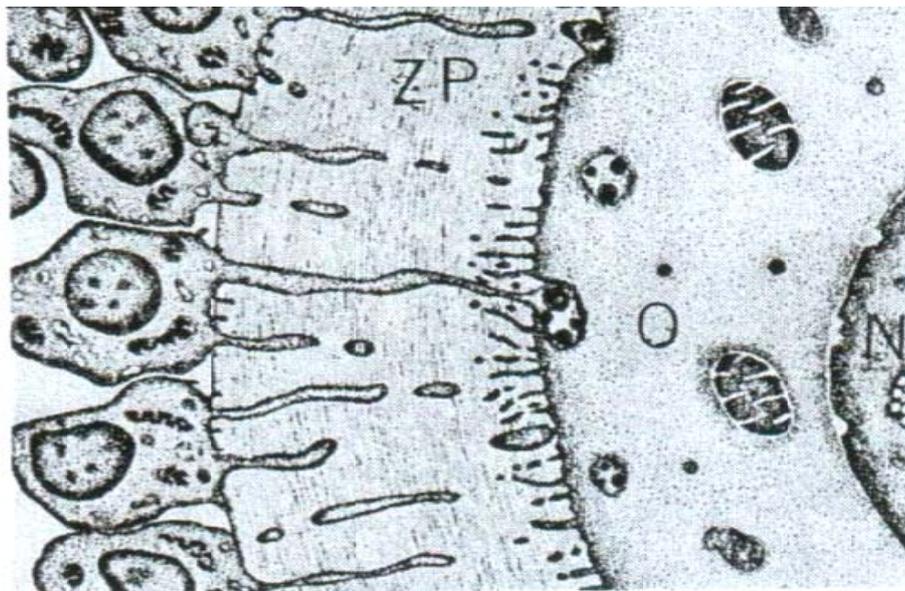


Figure 2.3: Structure de la zone pellucide : (zp) autour de l'ovocyte du follicule de De Graaf [131].

2.2 Préparation cytoplasmique et nucléaire : La méiose ovocytaire

La production d'un ovocyte apte à la fécondation et les premiers stades du développement embryonnaire nécessitent de nombreux facteurs exogènes et endogènes au follicule en croissance. L'axe hypothalamo-hypophysaire va sécréter principalement les gonadotrophines: la *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) et la *Luteinizing Hormon* (LH). Ces hormones vont agir sur la croissance des follicules, qui va engendrer la synthèse de facteurs endogènes par l'ovocyte et les cellules somatiques qui l'entourent [133].

Au cours du développement folliculaire, les cellules somatiques les plus proches de l'ovocyte vont entrer en contact étroit avec celui-ci via l'apparition de jonctions communicantes. Ainsi, un véritable dialogue va se mettre en place, qui va permettre deux événements essentiels. D'une part, l'ovocyte va acquérir une compétence nucléaire, correspondant à sa capacité à reprendre et finir la méiose, et une compétence cytoplasmique, correspondant à sa capacité à la fécondation et au développement embryonnaire précoce grâce à l'accumulation de transcrits maternels au cours de sa croissance. La qualité d'un ovocyte ovulé va ainsi dépendre de l'acquisition de ces deux compétences. D'autre part, les cellules de la *granulosa* les plus proches de l'ovocyte vont se différencier et proliférer pour former le cumulus. Pour ce faire, l'ovocyte et les cellules du cumulus vont exprimer et sécréter des facteurs qui leurs sont propres mais vont avoir des actions paracrines et endocrines [133]. Pendant la folliculogénèse, après le stade méiotique de l'ovocyte, le noyau reste bloqué dans un stade appelé diplotène-dyctyé. Dans les follicules primordiaux et les follicules en croissance, les ovocytes sont donc bloqués à ce stade. Au moment de l'ovulation, le pic de LH pré ovulatoire déclenchera la reprise de méiose et l'ovocyte sera expulsé au stade métaphase II.

En parallèle, chez différentes espèces de mammifères si l'on retire un ovocyte bloqué en prophase I de son environnement folliculaire, qu'on le mette en culture dans un milieu contenant de la LH, l'ovocyte reprend spontanément sa méiose vers la métaphase I. Ce résultat suggère que des facteurs provenant du fluide folliculaire ou des gonadotrophines et/ou des cellules de la *granulosa*

inhibent la maturation méiotique ovocytaire [130]. En effet, dans le follicule, ce facteur inhibiteur de la méiose, nommé de façon générale (*Oocyte Maturation Inhibitor* ou OMI), transite des cellules de la *granulosa*, aux cellules du cumulus et à l'ovocyte par des jonctions perméables. Cet OMI a été décrit chez la ratte et la truie [132], et chez la vache, il s'agirait de l'acide linoléique [134]. Le transfert de molécules des cellules de *granulosa* à l'ovocyte pourrait également contrôler la méiose ovocytaire. Parmi ces facteurs inhibiteurs d'origine somatique, on peut citer les purines (hypoxanthine, adénosine...) et l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Un niveau élevé de ces composés induirait l'arrêt du cycle cellulaire par inhibition de la synthèse de MPF (M-phase promoting factor). Il a été montré que les cellules somatiques folliculaires supportent le développement ovocytaire mais l'évidence physiologique a été présentée par [135] qui ont trouvé que les ovocytes entièrement matures extraits des follicules *antraux* subissent en culture, une reprise de la méiose indépendante des gonadotropines et concluent que les cellules somatiques folliculaires maintiennent les ovocytes en arrêt méiotique.

La croissance de l'ovocyte et son développement sont strictement dépendants de la provision en substances nutritives des cellules de follicule par l'intermédiaire des jonctions gap [136 ; 137 ; 138]. En plus de la transmission de substances nutritives, la communication de jonction dans les follicules ovariens contrôle le statut méiotique de l'ovocyte. Cette action est obtenue par médiation de l'AMPc, système régulateur qui maintient l'ovocyte en arrêt méiotique [139]. L'AMPc est synthétisée par les cellules de cumulus et les cellules de la *granulosa* suite à la déphosphorylation de l'ATP par l'adénylate cyclase [140]. Sa production est stimulée par les gonadotropines et l'oestradiol-17 β [141]. Son transfert vers l'ovocyte se fait par l'intermédiaire des gap-jonctions [142]. Selon Carroll et al, (1991) [143], la stimulation de la prolifération des cellules de *granulosa* par l'AMPc est accompagnée de l'augmentation de la croissance de l'ovocyte. L'AMPc joue aussi un rôle important dans le contrôle de la méiose. Son effet inhibiteur exercé sur la reprise de la méiose a bien été identifié [144 ; 145]. C'est en effet la baisse de son niveau dans l'ovocyte qui joue un rôle prépondérant dans la reprise de la méiose [145]. La reprise de la méiose, aussi mentionnée comme la maturation ovocytaire, se produit avant l'ovulation, elle est induite par le pic de LH pré

ovulatoire. Cette hormone interrompt la communication cellule-cellule dans une population choisie de follicules ovariens antraux menant à une baisse dans les concentrations d'AMPC intra-ovocytaire suivi de la maturation de l'ovocyte. Dans les cellules somatiques des follicules ovariens, un type de protéine jonction gap appelée connexine 43 a été identifié [146 ; 147].

Ainsi, le pic de LH induisant la phosphorylation de la connexine 43 constituant les jonctions communicantes ou jonctions adhérentes, bloque le passage de ce facteur inhibiteur, par arrêt du couplage métabolique entre les cellules folliculaires et l'ovocyte. Ces facteurs entraînent rapidement la rupture des jonctions perméables entre la *granulosa* et le cumulus, qui se traduit par la rupture de l'enveloppe nucléaire (*Germinal Nuclear Break Down*: GNBD), [146]. Les jonctions entre l'ovocyte et la *corona radiata* persistent quant à elles, permettant le passage prolongé des facteurs produits par la *granulosa* pour la maturation cytoplasmique de l'ovocyte [148]. Chez la lapine comme chez la vache et la brebis, des ovocytes compétents cultivés hors de leurs follicules mais en présence de leurs cumulus, puis fécondés, sont incapables d'assurer la décondensation rapide et complète du noyau du spermatozoïde. La maturation cytoplasmique comporte l'acquisition d'un facteur (*male pronucleus growth factor*) permettant la décondensation de la chromatine et le changement des nucléo protéines. Ce sont les cellules de la *granulosa*, qui permettent quelques heures après la décharge ovulante, à l'ovocyte d'acquérir cette compétence cytoplasmique [148]. Parallèlement à cette maturation nucléaire, une réorganisation des composants cytoplasmiques a lieu dans l'ovocyte, les granules corticaux migrent vers la zone corticale en s'associant au cytosquelette, les mitochondries forment des agrégats avec le réticulum endoplasmique dans la région péri-nucléaire, les réserves en lipides et glutathion augmentent, dans le cytosol, la concentration de calcium augmente.

Le premier signe de maturation affecte le noyau (vésicule germinale ou VG) qui s'aplatit contre la membrane plasmique de l'ovocyte [149] puis il y a dissolution de l'enveloppe nucléaire (GVBD) et, la condensation des chromosomes [150]. Ces derniers s'individualisent, chaque chromosome se dédoublant $4n$. Ensuite, les paires de chromosomes s'alignent au centre du fuseau méiotique qui se forme. C'est la métaphase 1. Les chromosomes par la suite se divisent en regagnant

chacun un pôle (anaphase 1) qui est suivi de la formation de deux noyaux à 2n chromosomes (télophase 1). Un des deux noyaux reste fonctionnel et s'arrête en métaphase II, alors que l'autre est expulsé du cytoplasme ovocytaire et représente le premier globule polaire [151].

Par ailleurs, les cellules qui entourent l'ovocyte sont également modifiées. En effet, au pic de LH, la sécrétion d'une matrice extracellulaire riche en acide hyaluronique provoque l'expansion du cumulus [105].

2.3 Folliculogénèse

La folliculogénèse se définit comme l'ensemble des processus de croissance et de maturation des follicules ovariens entre le stade de follicule primordial et l'ovulation. A partir du stock des follicules primordiaux formés durant la vie fœtale ou après la naissance, quelques follicules commencent à croître durant la vie de l'animal jusqu'à l'ovulation ou la dégénérescence [130]. Sa finalité biologique est la production, lors de chaque cycle menstruel ou oestrien, d'un (pour les espèces mono-ovulantes) ou de plusieurs (pour les espèces poly-ovulantes) ovocytes aptes à la fécondation et au développement

La croissance et la maturation folliculaire dans l'ovaire représentent une séquence de transformations subcellulaires et moléculaires des différents composants du follicule tel que : l'ovocyte ; la *granulosa* et les thèques qui sont sous le contrôle de plusieurs facteurs intra ovariens, intra folliculaires et des signaux hormonaux qui induisent la sécrétion des androgènes et d'œstrogènes [152]. Cette activité folliculaire s'observe surtout dans la partie périphérique de l'ovaire ou cortex, tandis que la partie centrale ou médulla est une zone d'innervation et de vascularisation sanguine et lymphatique.

2.3-1 Différentes étapes de la croissance folliculaire

On distingue deux phases dans le déroulement de la croissance folliculaire :

1) la croissance folliculaire basale, qui suit le recrutement initial, est une étape de croissance lente et continue, essentiellement contrôlée par des facteurs locaux.

2) la croissance folliculaire terminale, qui se termine à l'ovulation, est étroitement contrôlée par l'évolution des taux de gonadotrophines hypophysaires (LH et FSH) au cours du cycle oestrien [115], Figure 2.4.

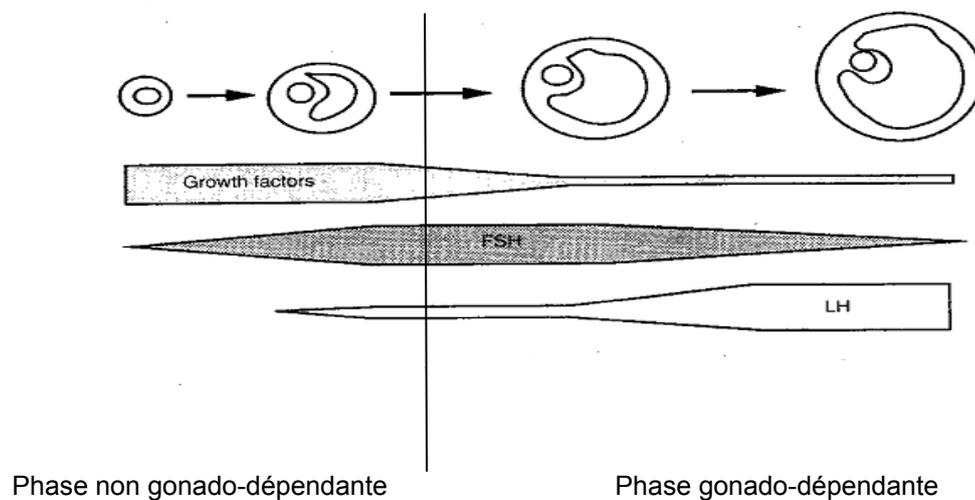


Figure 2.4: Représentation schématique de l'importance relative des différents facteurs au cours du développement folliculaire d'après [115]

2.3-1-1 Folliculogénèse gonado-indépendante ou basale

La première phase où le développement des follicules est lent, c'est la folliculogénèse basale : (les follicules primordiaux passeraient de 100 à 200 μm en 76 jours) et la deuxième phase d'une durée de 21 jours, au cours de laquelle la croissance s'accélère (folliculogénèse terminale), les follicules se creusent d'une cavité antrale pour arriver et dépasser 950 μm et plus (follicule pré ovulatoire, [115]).

La croissance des follicules est continue et comprend les stades de follicule primordial, primaire et secondaire, constituant les follicules pré antraux, puis les stades tertiaire et de follicules pré ovulatoire (> 900µm de diamètre) représentant les follicules antraux [153]. Dans chaque espèce, le développement des follicules jusqu'à l'apparition de *l'antrum* est très lent et représente au moins 75% de la durée totale du développement folliculaire [115 ; 154]. Le développement des follicules à *antrum*, plus rapide, est cependant plus long que la durée d'un cycle sexuel pour toutes les espèces de mammifères, sauf chez les rongeurs où elle correspond exactement à la durée du cycle Figure 2.5. [105 ; 155].

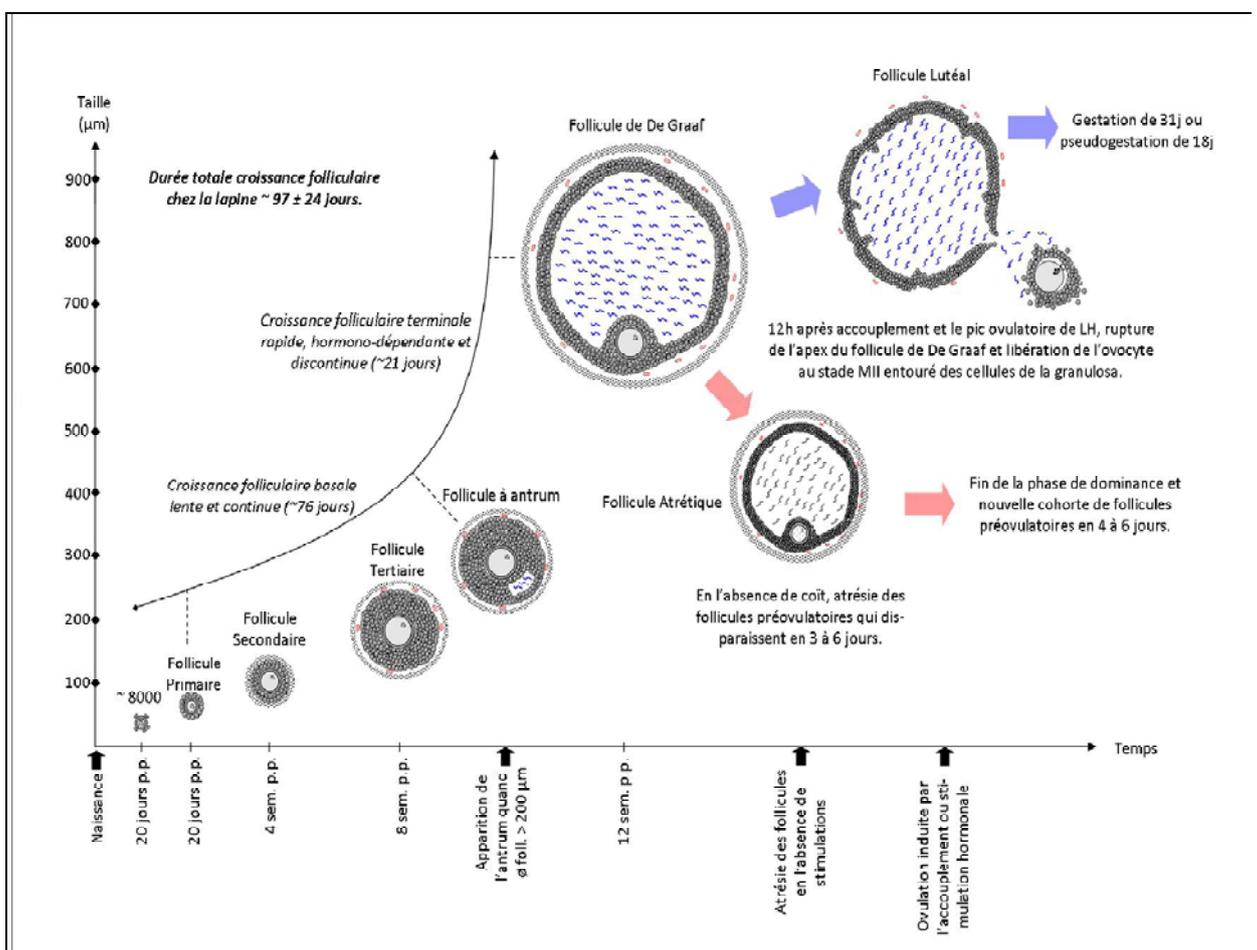


Figure 2.5: Schématisation du déroulement de la folliculogénèse chez la lapine [155]

La croissance folliculaire basale constitue la première phase de la croissance folliculaire. Cette première phase de la folliculogénèse semble essentiellement contrôlée par un «dialogue» entre l'ovocyte et les cellules de la *granulosa*. Les hormones hypophysaires LH et FSH ne sont pas nécessaires au

bon déroulement de la croissance et de la différenciation du follicule primordial en follicule préantral. En effet, les follicules primordiaux sont dépourvus des récepteurs à LH et la déficience en FSH (chez les souris invalidées pour la sous unité β ou chez des femmes porteuses d'une mutation « perte de fonction » du récepteur) n'empêche pas la croissance folliculaire basale qui se poursuit jusqu'au stade antral [156].

Les changements morphologiques des follicules ovariens au cours de la croissance basale sont comparables dans toutes les espèces de mammifères. La durée des différents stades et la taille atteinte par les follicules à la fin de chaque stade sont en revanche caractéristiques de chaque espèce. Elle représente environ 85% de la durée totale de la folliculogénèse chez la souris et la lapine, du follicule primordial jusqu'à la formation de l'antrum [115].

En revanche, des facteurs de croissance produits localement, soit par l'ovocyte, soit par les cellules de la *granulosa*, semblent être des éléments indispensables aux premières étapes de la folliculogénèse. Cette phase qualifiée de non gonado dépendante, se fait sous l'influence de nombreux facteurs dont les actions et interactions sont encore mal comprises. On distingue en premier lieu une régulation locale avec des facteurs locaux tels que l'activine, l'inhibine, le (*Transforming Growth Factor* β ou le TGF- β) et le (*Growth Differentiating Factor* 9 ou le GDF-9) [115 ; 157], tableau 2.1

Tableau 2.1. Facteurs impliqués dans le passage du follicule primordial au follicule primaire puis secondaire chez les rongeurs (d'après [157]).

Stade folliculaire	Molécules ayant un effet	Molécules ayant un effet
	Positif	Négatif
Primordial → Primaire	GDF-9, Insuline, SCF, bFGF, LIF	AMH
Primaire → Secondaire	FSH, EGF, TGF- β , Activine, GDF9	Œstradiol

La folliculogénèse basale est aussi contrôlée par de nombreux facteurs de croissance, d'origines ovocytaire et somatique, agissant essentiellement selon un mode paracrine ou autocrine de régulation [158 ; 159].

Durant la croissance basale du follicule à partir du follicule primordial, les cellules de la *granulosa* entrent en prolifération. Leur activité atteint un maximum en fin de folliculogénèse basale, stade pendant lequel près de 100% des cellules prolifèrent. Parallèlement, ces cellules de *granulosa* synthétisent de nombreux facteurs de croissance (EGF, FGF, AMH) et des cytokines (KITLG). En particulier la production d'AMH faiblement détectable dans les follicules primaires, augmente dans les follicules pré antraux pour atteindre un maximum en fin de folliculogénèse basale [160]. Les récepteurs de FSH apparaissent dans la *granulosa* des follicules primaires, leur nombre augmente légèrement et progressivement dans les follicules pré antraux, reste stable dans les follicules à *antrum* et enfin diminue au stade pré ovulatoire. Les cellules de la *thèque interne* expriment, dès leur formation, des facteurs de croissance, des récepteurs de LH, ainsi que des enzymes et des facteurs-clés de la stéroïdogénèse, permettant la synthèse de progestagènes (*Cholesterol side chain cleavage*: CYP11A1, *3 β -hydroxysteroid dehydrogenas*: 3 β -HSD, STAR) et d'androgènes (CYP17A1) parallèlement avec l'augmentation de la concentration en œstradiol (E₂) et la progestérone dans le liquide folliculaire, [105].

Dès le stade follicule primaire, l'ovocyte initie une intense activité transcriptionnelle pour assurer son métabolisme. L'ovocyte exprime certains facteurs comme les gènes *kit*, récepteur des protéines *kit-ligand* (KL) exprimées par les cellules de la *granulosa*, le gène *Figa*, qui semble réguler la production de protéines de la zone pellucide et la production de facteurs essentiels à l'organisation initiale des follicules primaires comme des molécules d'adhésion qui permettent une cohésion entre l'ovocyte et les cellules somatiques qui l'entourent [161]. L'ovocyte exprime en plus, deux facteurs GDF9 (Growth and Differentiation Factor-9) et BMP15 (Bone Morphogenetic Protein-15). L'expression de GDF9 et BMP15 par l'ovocyte induit l'expression de gènes spécifiques dans les cellules de la *granulosa*, stimulent leur prolifération et favorisent leur survie [162]. En retour, les cellules de la *granulosa* participent à la croissance ovocytaire par la production

de KITLG, dont l'expression est modulée par BMP15 et GDF9 d'origine ovocytaire [163].

L'existence d'un couplage métabolique entre ovocyte et *granulosa* constitue un autre élément déterminant du dialogue entre ces deux types cellulaires. Par exemple, l'ovocyte contrôle le transport actif d'acides aminés dans les cellules du cumulus, et ces acides aminés peuvent être ensuite transférés à l'ovocyte par l'intermédiaire de jonctions perméables [164]. La perte des jonctions perméables entre ovocyte et *granulosa* a un effet délétère sur la croissance et la survie de l'ovocyte [165]. Parallèlement, les cellules thécales contribuent aussi à la régulation du développement folliculaire basal par la sécrétion d'androgènes (testostérone) et de nombreux facteurs de croissance capables de stimuler la prolifération des cellules de *granulosa*. L'activité des cellules de la thèque est elle-même régulée par des facteurs sécrétés par les cellules de *granulosa*, en particulier le KITLG [166]. Les principales régulations du développement folliculaire sont schématisées dans la figure 2.6. [105]

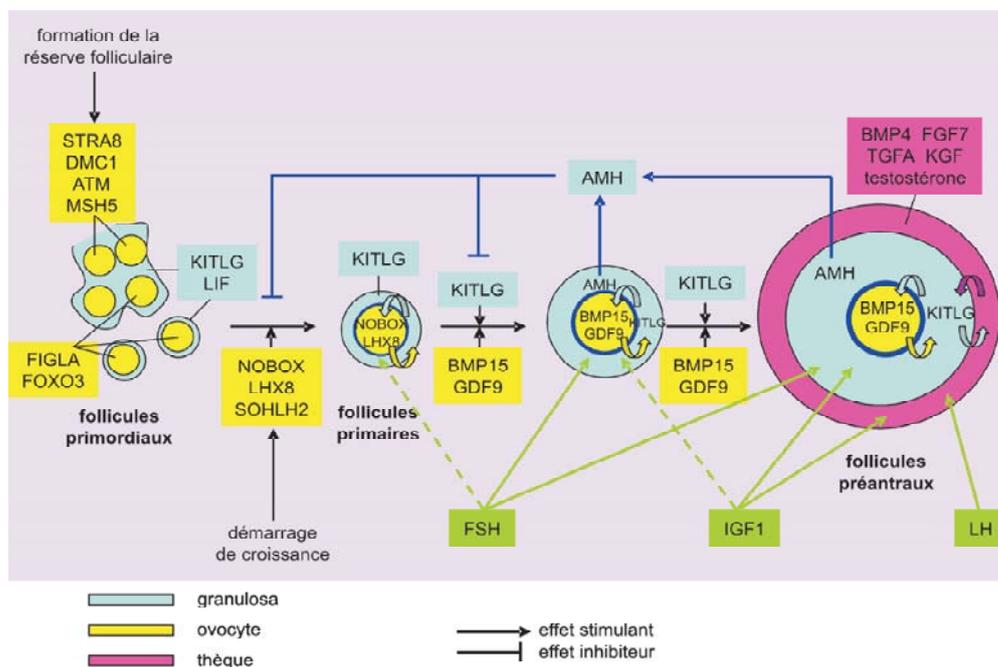


Figure 2.6: Régulations du développement folliculaire basal, d'après [105]

La fin de la croissance ovocytaire coïncide avec l'acquisition de propriétés fonctionnelles. L'ovocyte semble acquérir d'abord la compétence à reprendre la méiose lorsqu'il atteint environ 80% de sa taille définitive [167]. Sa croissance

continue de manière ralentie, tandis que le volume du follicule croît régulièrement jusqu'à la décharge gonadotrope ovulante. L'ovocyte reste bloqué en fin de prophase I méiotique pendant toute la croissance folliculaire. Il acquiert d'abord la compétence à reprendre sa méiose puis la compétence à assurer la fécondation et le développement [168 ; 169].

Récemment, un autre modèle a suggéré que les ovocytes sont dans une certaine mesure prédestinés, et que les ovocytes incompetents sont éliminés progressivement au cours de la folliculogénèse *via* l'atrésie [170].

2.3-1-2 Folliculogénèse gonado dépendante ou terminale

Elle commence dès la puberté de l'animal et perdure toute sa vie chez la majorité des mammifères. La croissance folliculaire terminale est strictement dépendante de la présence des gonadotropines hypophysaires. Cette étape est caractérisée par un accroissement du volume de l'*antrum*, le développement de la vascularisation thèque, la diminution de l'activité de prolifération des cellules de la *granulosa* et la différenciation des cellules de la *granulosa* et de la thèque en cellules stéroïdiennes. Cette phase débute avec l'acquisition des récepteurs à FSH et LH, soit dès le stade follicule pré-antral pour une taille folliculaire propre à chaque espèce. Ce développement subit une régulation endocrinienne (FSH et LH), mais également des régulations locales paracrines (messages circulants entre la thèque, la *granulosa* et l'ovocyte) et autocrines qui renforcent ou inhibent les effets des hormones gonadotropes (hormones notamment connues pour inhiber l'apoptose des follicules antraux) [115].

La folliculogénèse terminale est contrôlée essentiellement par la FSH et la LH, mais de nombreux autres facteurs (facteurs de croissance, matrice extracellulaire, protéases, stéroïdes), d'origine locale ou endocrine, agissent en synergie avec les gonadotropines pour réguler son déroulement [154]. Au cours de la folliculogénèse terminale, les cellules de *granulosa* perdent progressivement leur activité de prolifération et de synthèse d'AMH, et se différencient en cellules stéroïdogènes par l'apparition et l'augmentation de l'expression des gènes CYP11A1, STAR, HSD3B2, et surtout CYP19A1 qui code l'enzyme aromatase,

permettant la synthèse d'oestradiol à partir des androgènes d'origine thécale [105].

Simultanément, les cellules de la *granulosa* deviennent sensibles à LH (apparition et augmentation brutale des récepteurs de LH, LHCGR). En fin de cycle ovarien, le pic pré ovulatoire de LH induit d'importants changements fonctionnels dans les cellules de *granulosa* et de thèque du follicule pré ovulatoire, conduisant à leur lutéinisation et à la formation du corps jaune.

La croissance folliculaire terminale débute par le recrutement des follicules qui ont acquis la capacité de répondre à une stimulation directe de la FSH, ce qui aboutit au développement d'une cohorte [115]. C'est au cours de cette phase que s'effectue la sélection des follicules destinés à ovuler, grâce à un ensemble de mécanismes dont la finalité biologique est de réguler le nombre d'ovulations, caractéristique de chaque espèce et de chaque race [105]. En effet, lorsque la concentration plasmatique en FSH diminue, seuls les follicules ayant des besoins réduits en FSH sont capables de se développer. Ils ont acquis cette capacité par l'augmentation de leur vascularisation, l'acquisition de récepteurs à la LH, et surtout par l'amplification de la réponse folliculaire à la LH et à la FSH. Dès lors qu'il est sélectionné, le follicule exerce une dominance sur les autres : il inhibe le recrutement et la sélection des follicules qui n'ont pas été sélectionnés au cours de cette vague [171]. La figure 2.7 représente de façon schématique les mécanismes hormonaux à l'origine du recrutement, de la sélection et de la dominance.

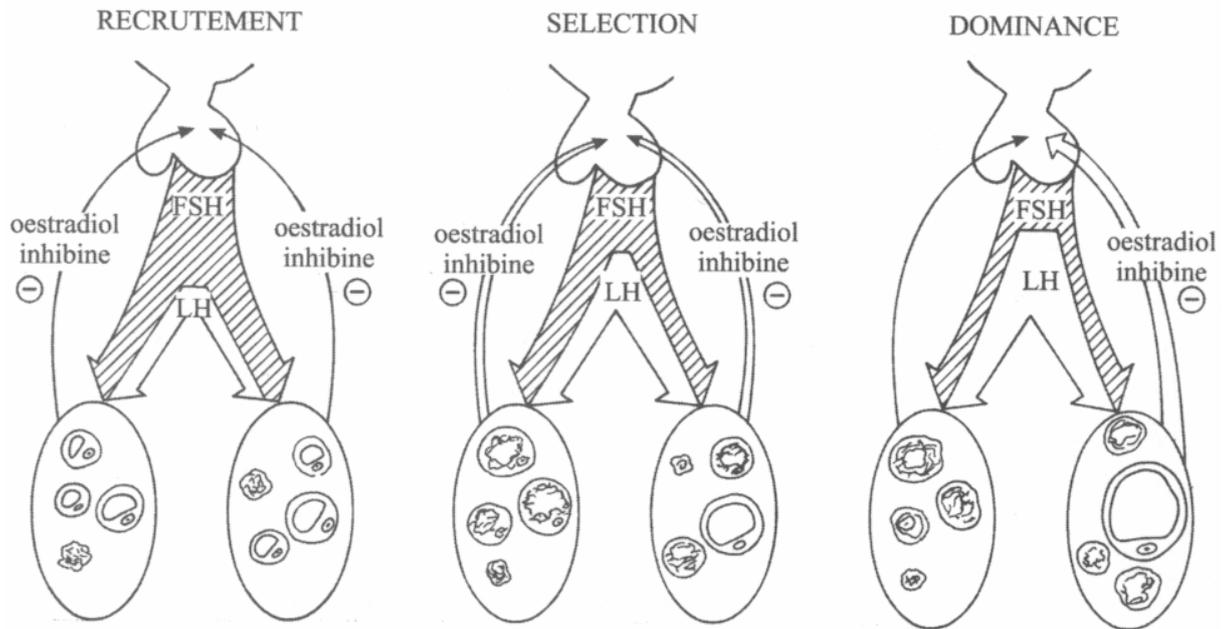


Figure. 2.7: Sécrétion de gonadotrophines et de facteurs de contrôle au cours des phases de recrutement, de sélection et de dominance.

Légende : L'épaisseur des flèches démontre l'importance de chaque sécrétion. Figure tirée et adaptée de [148].

La lapine adulte présente un niveau de sécrétion des hormones folliculo-stimulantes relativement stable au cours du temps [172] à la différence de ce qui est observé chez les autres mammifères domestiques ; la brebis par exemple, manifeste au cours des cycles, des vagues de sécrétion de l'hormone FSH [173].

Une comparaison de la croissance folliculaire des follicules pré antraux chez la souris [174] et chez la lapine [175], a montré que le processus de croissance est très lent. Chez les deux espèces, le temps correspondant à la formation de *l'antrum* représente 85% de la durée totale de la croissance folliculaire. Des résultats obtenus suite à des études morphométriques réalisées à partir de coupes histologiques d'ovaires de lapines âgées de 20 semaines [176] accréditent l'hypothèse que l'évolution de la folliculogénèse chez une femelle adulte, dépend essentiellement de la population des follicules de taille inférieure ou égale à 200 μm . De la longévité de l'ovaire et de sa fonction de production d'ovules, dépend une gestion à long terme de ce stock tampon de follicules dont le diamètre est compris entre 100 et 200 μm chez la lapine. Ce stock est constitué

dès l'âge de 30 jours à partir des follicules primordiaux au moment où les hormones folliculo-stimulantes sont activement secrétées [172].

Les auteurs insistent sur le fait que les durées de croissance des follicules obtenues dans le cadre de cette expérience ne sont valables que pour des animaux adultes de 20 semaines. En effet, Pedersen, (1972) [177] chez la souris a constaté que pour des animaux plus jeunes, la croissance folliculaire est plus rapide, particulièrement au moment où les niveaux des hormones circulantes sont plus élevés vers 6 et 8 semaines d'âge. La croissance complète d'un follicule est la résultante de la croissance de l'ovocyte, de la multiplication des cellules de la *granulosa* et du développement de l'*antrum*. En début de folliculogénèse terminale, l'ovocyte termine sa croissance pour atteindre un diamètre de 80% de sa taille maximale [178].

La vitesse de multiplication des cellules de la *granulosa* (index mitotique) passe par un maximum chez des follicules de 300 à 500 μm de diamètre. L'*antrum* apparaît lorsque le diamètre du follicule est voisin de 200 μm . C'est à partir de cette taille que commence l'atrésie. Chez deux souches de lapin Néo-zélandaise et la Californienne, la durée de croissance basale est respectivement de 2 mois et 6 mois [176]. Cette différence est essentiellement due à la croissance plus lente des follicules ayant moins de 4 couches de cellules folliculeuses (diamètre : 200 μm).

2.3-2 Aspects morphologiques de la croissance folliculaire

2.3-2-1 Follicules pré antraux

2.3-2-1-1 Follicule primordial.

Cette masse représente la réserve non-renouvelable de follicule pour la vie reproductive des mammifères [106]. Ces follicules contiennent tous des ovocytes incapables de reprendre leur méiose [179]. Dès l'apparition du stade diplotène-dictyé, les ovocytes jusque là groupés par paquets et liés par des ponts cytoplasmiques s'isolent ; trois à quatre cellules somatiques aplaties les enveloppent, ces ensembles constituent les follicules primordiaux qui s'entourent d'une membrane basale acellulaire. L'ovocyte central est une volumineuse cellule

sphérique de 30 μm comprenant un noyau vésiculeux et un nucléole apparent. Le follicule primordial a un diamètre de 40 μm [124].

2.3-2-1-2 Follicule primaire.

Les follicules primordiaux seront activés pour devenir follicules primaires. Le mécanisme d'activation des follicules primordiaux et des ovocytes demeure encore inconnu [180]. Les cellules aplaties se transforment en cellules cuboïdales, qui forment une couche unique de cellules conjonctives régulières tout autour de l'ovocyte. La taille de celui-ci, augmente légèrement (diamètre: 50 μm). L'ovocyte est en position centrale, il est entouré d'une couche de cellules de *granulosa* délimitées par la zone pellucide [181]. En effet, c'est durant cette période que l'ovocyte synthétise et sécrète les glycoprotéines qui donneront naissance à une enveloppe hyaline poreuse: la zone pellucide. De 2 à 12 semaines d'âge, Hutt et al, 2006 [124] ont démontré sur les ovaires de lapines la présence de la zone pellucide autour des ovocytes appartenant aux follicules proches de la médullaire. Le diamètre des ovocytes augmente au fur et à mesure que les follicules s'éloignent de l'épithélium ovarien. D'une épaisseur d'une dizaine de microns, la zone pellucide est constituée à 95 % de trois glycoprotéines, organisées en longs filaments interconnectés, appelées ZP1, ZP2, ZP3 [182]. La ZP3 forme avec la ZP2 des filaments qui sont pontés par la ZP1. Seule la glycoprotéine ZP3 est reconnue par le spermatozoïde et déclenche la réaction acrosomique. La ZP2 intervient lors de la fécondation en fixant transitoirement la tête du spermatozoïde pendant que celui-ci traverse la zone pellucide. La ZP1, composant le moins abondant (10 %), assure la stabilité de la zone pellucide jusqu'au stade blastocytaire [183]. A ce stade, le diamètre du follicule primaire est en moyenne de 100 μm , le diamètre de l'ovocyte est égal à 50 μm , [124].

2. 3-2-1-3 Follicule secondaire.

Le follicule secondaire est formé de deux couches de cellules de *granulosa*. La taille moyenne du follicule secondaire est de 144 μm , l'ovocyte toujours en position centrale, mesure 82 μm [124]. Tout au long du développement folliculaire, l'ovocyte et les cellules de *granulosa* qui l'entourent, gardent un contact étroit grâce à l'existence de prolongements cytoplasmiques des cellules de la *granulosa* qui traversent la zone pellucide qui s'épaissit et viennent s'apposer contre la

membrane plasmique de l'ovocyte. La présence de jonctions «*gap junctions*» à ces niveaux de contact est responsable d'un véritable couplage métabolique entre ces deux types cellulaires, permettant des échanges d'ions et de petites molécules (PM < 1 kD, [184 ; 105]. Les futures cellules formant les thèques sont recrutées parmi les cellules du stroma ovarien [157 ; 185]. Elles sont séparées de la *granulosa* par une membrane basale. La *thèque interne* contient des cellules stéroïdogènes et des capillaires sanguins; la *thèque externe* est composée de cellules stéroïdogènes en nombre moindre, de capillaires sanguins, de fibroblastes, de cellules musculaires lisses et de cellules nerveuses [115].

2.3-2-2 Follicules à *antrum*

2.3-2-2-1 Follicule tertiaire

Quand le follicule atteint un diamètre voisin de 200–250 µm de diamètre, une petite cavité apparaît au sein de la *granulosa*, appelée *antrum*, qui marque la fin de la croissance folliculaire basale. C'est dans l'*antrum* que s'accumulent les produits de sécrétion des cellules folliculaires (*granulosa* et thèque), ainsi que les substances plasmatiques diffusant librement à partir des capillaires sanguins qui irriguent la thèque. A ce stade, le follicule à *antrum*, appelé aussi follicule tertiaire, comporte une *thèque externe*, une *thèque interne* séparée de la *granulosa* par la lame basale et un ovocyte de 92 µm entouré d'un massif de cellules appelé *cumulus oophorus* [124] Figure 2.8

2.3-2-2-2 Follicule mûr ou pré ovulatoire

Le follicule mûr ou follicule pré ovulatoire de diamètre compris entre 250 – 900 µm [153], est caractérisé par une large cavité remplie de liquide folliculaire. C'est un mélange de produits sécrétés et excrétés par les cellules folliculeuses et les cellules thécales, il est riche en stéroïdes (œstrogènes, testostérone, progestérone), en protéines, en lipides et en polysaccharides, ce qui explique sa forte viscosité. L'ovocyte est situé dans les cellules du *cumulus oophorus*, constitué par les cellules de la *granulosa*, disposé de manière radiée. La *thèque interne* est richement vascularisée. Sous l'influence de la LH, les cellules de la thèque synthétisent des androgènes transformés en œstrogènes par les cellules

de la *granulosa*, qui sont très développées et porteuses de récepteurs à FSH [186].

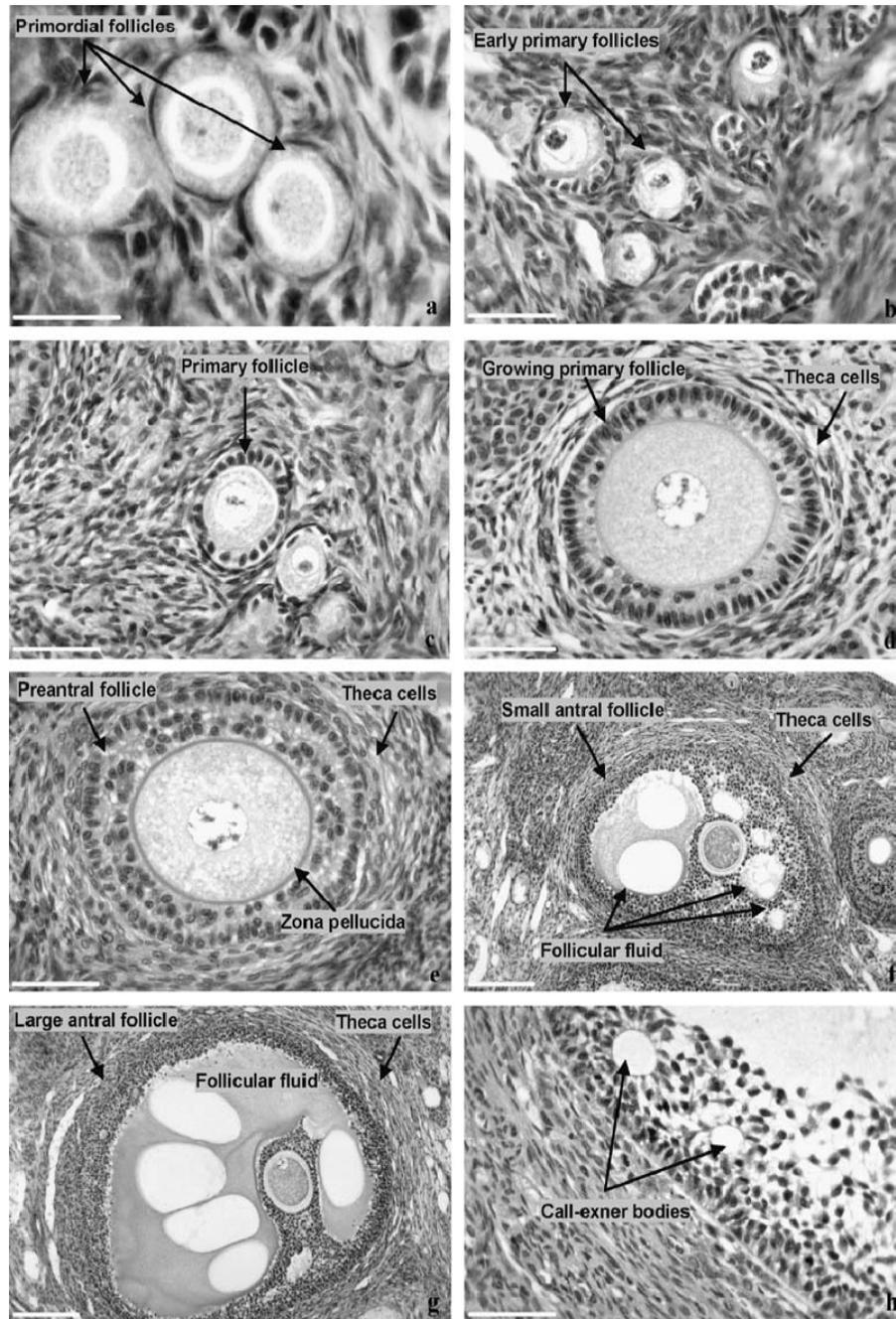


Figure 2.8 : Classification des follicules ovariens de la lapine : **a.** Follicules primordiaux, ovocyte entouré d'une couche unique de cellules aplaties (âge : 4 semaines). **b.** Début de follicule primaire, l'ovocyte est entouré d'un mélange de cellules aplaties et de cellules cubiques de la *granulosa* (âge: 2 semaines). **c.** Follicule primaire avec une seule couche de cellules cubiques de la *granulosa*. **d.** follicule primaire en croissance : Une à deux couches de cellules de *granulosa* et cellules thécales entourent la membrane basale. **e.** Follicule pré antral l'ovocyte est entouré de plus de deux couches de cellules de la *granulosa* (âge: 8 semaines). La zone pellucide est grise. **f.** Follicule à antrum : Cavités remplies de liquide folliculaire au sein de la *granulosa* (âge : 12 semaines). **g.** Follicule à antrum : Ces cavités fusionnent pour former l'antrum (âge: 12 semaines). **h.** La présence de corps de Call et Exner (âge: 12 semaines). [124].

2.4 Dynamique de la croissance folliculaire chez la lapine pubère

L'activité ovarienne des femelles pubères est le point clé pour la maîtrise de la reproduction en élevage. La bibliographie nous renseigne peu sur la succession des vagues de croissance folliculaire chez la lapine sexuellement active. Les follicules matures sont produits de façon continue, chez la lapine étant donné que c'est une espèce non cyclée. En l'absence d'accouplement ou d'une stimulation hormonale, ces follicules subissent une atresie. Potentiellement, tous les follicules en croissance peuvent évoluer jusqu'au stade de follicules matures ($\varnothing > 900 \mu\text{m}$) qui seront soit ovulés, soit résorbés par atresie (un follicule tertiaire est considéré comme atrétique quand 5 % des cellules de la *granulosa* présentent un noyau pycnotique) [187].

Kranzfelder et al, (1984) [153] ont étudié la croissance des follicules tertiaires ($\varnothing > 250 \mu\text{m}$) grâce à l'analyse histologique des ovaires de lapines pubères. Chez la lapine non stimulée, on retrouve une majorité de follicules dont le diamètre est compris entre 250 et 700 μm , seulement quelques follicules de diamètre compris entre 700 et 900 μm et un peu plus de follicules matures de diamètre supérieur à 900 μm . Le nombre de follicules matures est relativement constant entre les individus avec, en permanence, 8 follicules susceptibles d'évoluer jusqu'à l'ovulation. La présence des follicules matures entraîne l'inhibition de la croissance des follicules tertiaires dont le diamètre est inférieur à 900 μm qui évoluent en follicules atrétiques sans dépasser le stade 700 μm . Le mécanisme d'inhibition est encore mal cerné mais il serait probablement lié à la forte sécrétion d'œstrogènes par les follicules matures. Après injection d'hCG (induction artificielle de l'ovulation) et rupture des follicules matures, le mécanisme d'inhibition est alors temporairement levé permettant une forte croissance des follicules de diamètre compris entre 500 et 900 μm jusqu'au stade de follicules matures. Lorsqu'un nombre suffisant de follicules matures est atteint, le mécanisme d'inhibition est alors rétabli et les follicules de diamètre supérieur à 700 μm deviennent atrétiques alors que les follicules matures se rompent pour libérer des ovocytes matures [153]. En l'absence de stimulation, les follicules matures présents à la surface de l'ovaire ont une durée de vie de 7 à 10 jours

[188] ou de 3 à 6 jours [189] avant de régresser par atrophie. La phase de dominance des follicules matures est alors levée comme après l'injection d'hCG et on assiste à une nouvelle vague de croissance folliculaire avec l'apparition de nouveaux follicules pré ovulatoires dans un intervalle de 35 à 50 h (Figure 2.9).

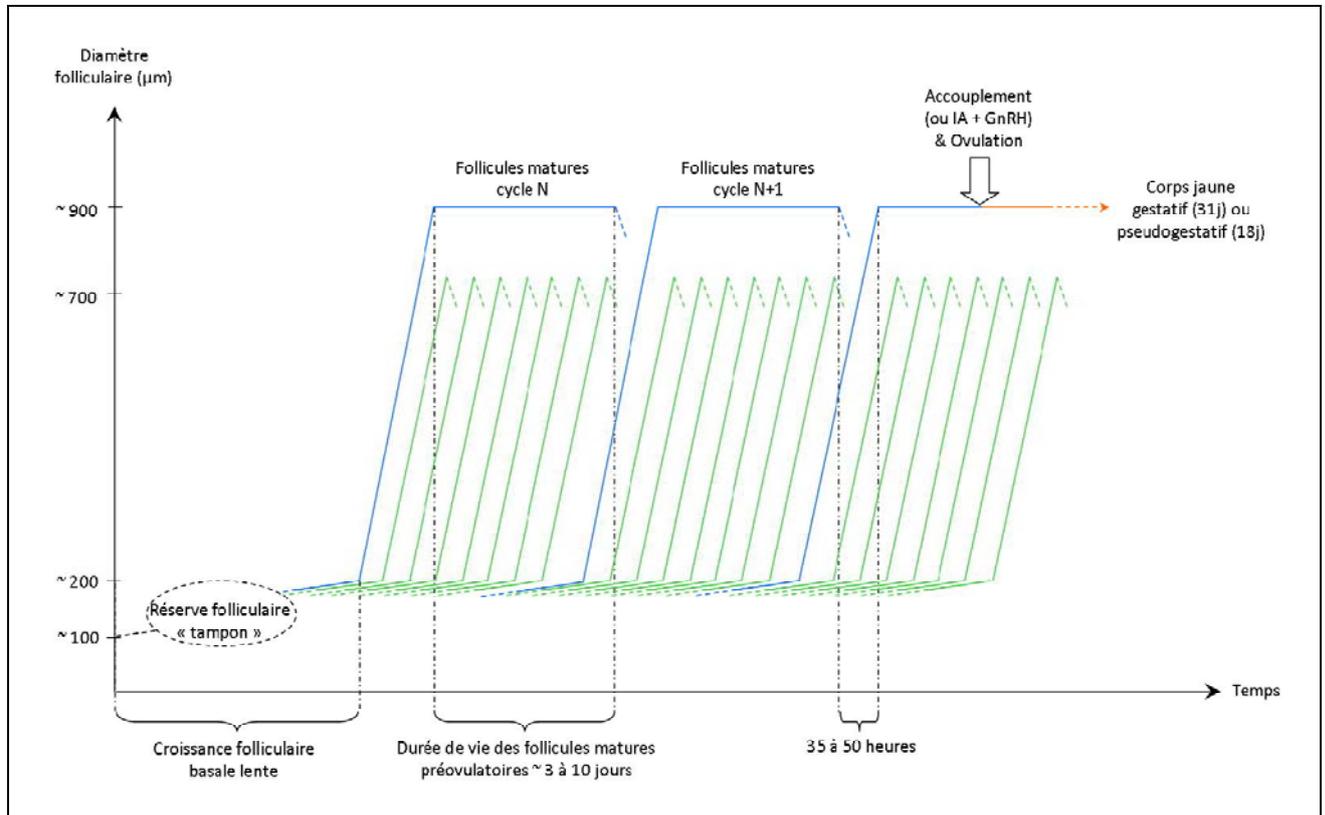


Figure 2.9: Schématisation de la dynamique des vagues folliculaires chez la lapine [155].

Tracés verts : Ensemble de follicules en croissance qui deviendront atrophiques. Tracés bleus : Ensemble de follicules en croissance qui évolueront en follicules pré ovulatoires puis en follicules atrophiques en l'absence d'ovulation ou en corps jaunes après ovulation.

2.5. Développement folliculaire durant la gestation

Pendant la gestation, selon Diaz et *al*, (1987) [190] plusieurs grands follicules sont présents dans les ovaires mais ils ne terminent pas leur croissance du fait de la présence de progestérone produite par les corps jaunes, qui inhibe la sécrétion des gonadotropines hypophysaires. Le nombre moyen de ces follicules par lapine décroît au 28^{ème} jour de gestation jusqu'à la période *post partum* (10,5, 14,4 et 8,5) corps jaunes respectivement les jours 1, 3, 5 et 8 *post partum*. Ces

follicules sont prêts à réamorcer la méiose après une décharge de FSH et LH suite à une stimulation par le coït; [191 ; 129].

2.6. Développement folliculaire dans la phase *post partum*

La première vague de maturité folliculaire débute à la dernière phase de la gestation coïncidant avec la chute de niveau de progestérone qui a lieu normalement entre le 29^{ème} et 30^{iem} jour [192]. Ce développement folliculaire atteint un maximum au 3^{ème} jour *post partum* chez les primipares ou le 5^{ème} jour *post partum* chez les multipares. Les follicules de diamètre 800 µm qui inclut la population folliculaire capable d'ovuler, représentent un nombre de 12,1 alors que ceux 450 à 850 µm de diamètre représentent un nombre de 60 en *post partum*. Il y'a une réduction dans le nombre de follicules en raison d'une atrésie ou dégénérescence folliculaire [129].

Il n'y a aucun accord parmi les auteurs qui ont étudié le comportement et l'activité ovarienne en *post partum* chez la lapine. La maturation finale des follicules pré ovulatoires présents le jour de la mise bas, dépend des pics pré ovulatoires de FSH et de LH induites par la stimulation du coït dans des conditions naturelles. Selon Hill et White, 1933 et Smelser et al, 1934 [188 ; 189] en absence d'accouplement ou stimulation externe (hormonale, stress) les follicules régressent 7 à 10 jours après, permettant alors seulement la maturation d'une nouvelle vague folliculaire.

D'après Diaz et al, 1987 [190], chez les lapines primipares, le développement folliculaire est maximal au 5^{ème} jour *post partum* alors qu'un deuxième cycle de maturation folliculaire se mettrait en place avec un maximum de croissance au 9^{ème} jour *post partum*. Diaz et al, 1987 [190] ont essayé de déterminer les moments optimums pour présenter les femelles aux mâles en relation avec la croissance folliculaire. Ceux-ci se situeraient les 5^{ème} et les 9^{ème} jours après la mise bas pour les primipares et aux 3^{ème} et 9^{ème} jours *post partum* pour les multipares. Un grand nombre de follicules (plus d'une trentaine) peuvent être présents jusqu'au 28^{ème} jour de gestation à la surface de l'ovaire. A partir de ce moment là, beaucoup d'entre eux subissent atrésie et dégénération folliculaire,

ceci explique que la lapine puisse être saillie avec succès, quelques heures après la mise bas [65]. Chez ces femelles, les hauts niveaux de lactation ont un effet négatif sur le développement folliculaire au premier jour *post partum*. La croissance folliculaire maximale serait atteinte au 3^{ème} et 9^{ème} jour *post partum* chez les multipares avec les valeurs maximales au 9^{ème} jour *post partum*. Il y'aurait donc une superposition partielle des cycles successifs, chacun durant environ 10 à 12 jours. Ainsi pendant que les follicules d'un cycle sont au stade pré ovulatoire (diamètre environ 1,5 mm) pour une durée de l'ordre de 4 à 6 jours (avant de régresser), commence la croissance des follicules du cycle suivant.

CHAPITRE 3

RECEPTIVITE SEXUELLE DE LA LAPINE

3.1 Définition

Une lapine est dite réceptive lorsqu'elle accepte l'accouplement. En présence d'un mâle elle adopte la position de lordose (arrière train relevé). A l'opposé, une lapine est considérée non réceptive, lorsqu'elle refuse l'accouplement. Elle se blottit dans un angle de cage peut parfois devenir agressive vis-à-vis du mâle [193 ; 194 ; 17; 195; 209].

3.2 Réceptivité et œstrus

A l'inverse des espèces cyclées qui présentent un cycle œstral régulier, avec une ovulation dite spontanée ayant lieu à intervalles réguliers au cours des périodes d'œstrus (ou communément appelé chaleurs, 4 jours chez la rate, 17 jours chez la brebis, 21 jours chez la truie et la vache), certains mammifères appartenant à des ordres divers (carnivores, camélidés, lagomorphes) ont une ovulation dite réflexe. Elle est provoquée par le stimulus vaginal de l'accouplement. C'est le cas notamment de la lapine [65], la chatte [196], le furet [197], la hase [198], la chamelle [199], le lama et l'alpaga [200].

On a longtemps supposé que la lapine domestique est considérée comme une femelle en œstrus permanent, contrairement aux femelles à cycles oestriens réguliers [201]. Cependant, Moret, 1980 [193] a mis en évidence des périodes d'acceptation de l'accouplement (œstrus) plus ou moins longues, séparées par de courtes périodes de refus du mâle (dioestrus) alternées.

La réceptivité sexuelle est mesurée au moment de l'insémination, par un test en présence d'un mâle ou par l'observation de la couleur et de la turgescence de la vulve, elle reflète l'état d'œstrus ou de dioestrus des lapines. 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 pré ovulatoires sur l'ovaire [202] et d'une concentration plus

élevée d'œstrogènes plasmatiques, [203], 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 (nombre de lapereaux produits par IA réalisée) des femelles réceptives est trois à quatre fois plus élevée que celle des femelles non réceptives [19].

3.3 Mécanismes physiologiques impliqués dans le contrôle de la réceptivité

L'acceptation du mâle est sous la dépendance des stéroïdes ovariens. Les œstrogènes et les androgènes, favorisent l'acceptation du mâle, alors que la progestérone inhibe celle-ci. Sur l'ovaire, les cellules de la *granulosa* entourant chaque follicule pré ovulatoire, sécrètent des œstrogènes proportionnellement à leur masse. Rebollar et *al*, 1992 [203] ont observé une corrélation positive entre le niveau de réceptivité des lapines et le taux plasmatique de 17β -œstradiol. Les lapines réceptives (vulve rouge turgescence ou violette turgescence) ont des concentrations plasmatiques de 17β -œstradiol significativement plus élevées que les lapines non réceptives (vulve blanche, rose, ou violette non turgescence respectivement : 1,9 vs 1,4 ng /dl). Par ailleurs, Kermabon et *al*, 1994 et Yaschine et *al*, 1967 [202 ; 204], ont confirmé que le niveau de réceptivité des lapines est positivement corrélé à la présence de follicules pré ovulatoires de diamètre supérieur à 1 mm que les non réceptives. Ces résultats confirment la relation directe entre une concentration élevée de 17β -œstradiol et l'expression de la réceptivité sexuelle des lapines.

Chez des lapines pubères, Lefèvre et Caillol, 1978 [205] ont mis en évidence une relation étroite entre l'apparition du comportement d'œstrus (acceptation de l'accouplement), la croissance folliculaire et l'évolution des concentrations en stéroïdes sexuels dans le liquide folliculaire. Les femelles en œstrus ont un plus gros nombre de gros follicules (2.4 vs 0.3 follicules de diamètre supérieur à 1.5 mm) et dans le liquide folliculaire, des concentrations

plus élevées d'œstradiol (respectivement 79.5 vs 14.5 pg/mg), et en œstrone (respectivement 147 ,8 vs 18,9 pg/mg) comparativement aux lapines en dioestrus.

Par ailleurs, Yaschine et *al*, 1967 [204] observent qu'une ovariectomie entraîne la suppression du comportement sexuel chez la lapine et que celui-ci peut être restauré par l'administration d'œstrogènes [206]. Elsaesser (1980) [207] démontre que la suppression du comportement sexuel peut être obtenue par immunisation des femelles contre le 17β -œstradiol. Nicosia et *al*, 1975 [208] ont isolé et classifié les follicules de lapines selon leur taille et ont montré que la concentration en œstradiol et en progestérone augmente dans les follicules en fonction de leur diamètre. Ainsi, un follicule primaire dont la taille n'excède pas 200 μm renferme $26,6 \pm 6,6$ pg d'œstradiol et $24,2 \pm 5,9$ pg de progestérone alors que les follicules tertiaires d'un diamètre supérieur à 700 μm contiennent $77 \pm 33,8$ pg d'œstradiol et $105,2 \pm 28,5$ pg de progestérone.

3.4 Détection de la réceptivité

La réceptivité est mesurée par un test en présence d'un mâle ou par l'observation de la couleur et de la turgescence de la vulve, elle reflète l'état d'œstrus ou de dioestrus des lapines.

3.4-1 Test en présence d'un mâle

La femelle est introduite dans la cage d'un mâle. Quand la lapine est réceptive dans un intervalle de temps de 15 minutes elle s'immobilise rapidement, lève l'arrière train en (position de lordose). Par contre, si elle n'est pas réceptive, elle s'enfuit à l'approche du mâle et se blottit contre les parois de la cage, elle peut parfois être agressive envers le mâle [18]. Avec cette méthode en saillie naturelle, le taux de réceptivité est :

$$\text{Le taux de réceptivité} = \frac{\text{Nombre de femelles qui acceptent l'accouplement}}{\text{Nombre de femelles présentées au mâle}}$$

3.4-2 Observation de la couleur et de la turgescence de la vulve

La réceptivité est liée à des modifications anatomiques de la vulve. L'acceptation du mâle est maximale lorsque la lapine présente une vulve rouge et turgescence avec une fréquence d'acceptation de l'accouplement de 100% (Tableau 3.1). Elle est minimale lorsque la vulve est blanche et non turgescence avec un taux d'acceptation de 17,3% [67; 210].

Le nombre de femelles ayant la vulve violette ou rouge
turgescence à l'insémination

Le taux de réceptivité = $\frac{\text{Le nombre de femelles ayant la vulve violette ou rouge turgescence à l'insémination}}{\text{Nombre de femelles inséminées}}$

Tableau 3.1: Réceptivité sexuelle et modifications anatomiques de la vulve [67]

Couleur de la vulve	Blanche	Rose	Rouge	Violette
Turgescence	30%	79,4%	100%	50%
Absence de turgescence	17,3%	58,3%	93,9%	27,7%

Pla et *al*, 1984 [211] ont montré qu'il existe une relation entre la couleur de la vulve et la réceptivité de la femelle, puisque des niveaux élevés d'œstrogènes agissent sur l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien causant une hyperhémie vulvaire qui intensifie leur couleur. Theau-Clément et Roustan, 1992 [212] ont indiqué que des femelles ayant une vulve pâle, rose, rouge ou violette ont une réceptivité de 35%, 55%, 75%, et 40% respectivement. De leur côté McNitt et Moody, 1989 et Gomez et *al*, 2004 [213, 214], mentionnent que la couleur de la vulve est associée à la réceptivité de la femelle et que les lapines avec une vulve

rose ou rouge montrent une meilleure réceptivité que celles avec une vulve pale ou violette.

En saillie naturelle l'observation de la couleur de la vulve se justifie peu dans la mesure où les femelles qui acceptent l'accouplement sont de fait réceptives. Sur les nullipares, généralement très réceptives, les fertilités en fonction de la couleur de la vulve sont peu différentes. Sur les multipares, la fertilité est meilleure sur des lapines à vulve rose et rouge et parfois violette [215].

Dans l'expérience décrite par Theau-Clément et *al*, 1990 [216], la couleur de la vulve a été systématiquement observée aussi bien en IA qu'en saillie naturelle. Sur les allaitantes, aucune lapine à vulve blanche n'accepte l'accouplement, et sur les non allaitantes la presque totalité des lapines n'ont pas la vulve blanche. Les couleurs rouges et violettes turgescents donnent toujours les valeurs les plus élevées pour le taux d'acceptation, la fréquence d'ovulation, et la fertilité.

Delaveau, 1978 [217] a montré dans ses travaux que le taux d'acceptation du mâle chez les lapines nullipares et multipares est très élevé (80%) chez les femelles qui ayant une vulve rouge congestionnée et turgescence par contre, seules 50% des femelles ayant une vulve rose, acceptent l'accouplement et que l'obtention des saillies fécondantes n'est important que si l'accouplement a eu lieu avec des femelles présentant une vulve rouge (80%) de réussite.

3.5 Induction de la réceptivité sexuelle chez la lapine

Au moment de l'insémination artificielle, les lapines sont généralement allaitantes, il se produit un antagonisme partiel entre la lactation et la reproduction qui conduit les lapines allaitantes et non réceptives à avoir des performances de reproduction très faibles [212 ; 218 ; 219]. Il faut préciser qu'en saillie naturelle, l'effet négatif de cet antagonisme n'apparaît pas puisque les femelles non réceptives refusent l'accouplement. Le comportement sexuel est corrélé avec la présence de plusieurs follicules pré ovulatoires au niveau de l'ovaire [202] et en conséquence une importante concentration en œstradiol plasmatique [203]. Pour assurer un niveau d'une grande production régulière il est nécessaire d'utiliser des méthodes fiables permettant d'induire et de synchroniser l'œstrus chez les lapines

en particulier allaitantes. Il s'agit de traitements hormonaux ou de méthodes alternatives à l'utilisation d'hormones appelées « biostimulations ».

3.5-1 Méthodes hormonales

3.5-1-1 La PMSG ou eCG (équine chorionic gonadotrophine)

La PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotropin*) est une hormone glycopeptidique de 241 acides aminés, de poids moléculaire estimé entre 45 à 64kD [220]. Elle a été extraite du sérum de jument gravide. Elle a pour origine le chorion, elle est aujourd'hui généralement appelée eCG (*Equine Chorionic Gonadotropin*). Chez la lapine, l'eCG a une activité essentiellement de type FSH. A une dose de 8 à 25 UI/lapine, elle favorise la maturation folliculaire et l'entrée des lapines en œstrus dans les 2 à 3 jours. Son utilisation à des doses plus élevées (50 à 100 UI /lapine), se traduit par des superovulations (maturation simultanée de 30 à 100 follicules au lieu de 10 à 15 normalement) [19].

Cependant, sa nature protéique et exogène associée à son poids moléculaire élevé entraîne l'apparition des anticorps anti-eCG au bout de la 6^{ème} utilisation réduisant ainsi l'efficacité du traitement. L'efficacité du traitement dépend de l'état physiologique des lapines au moment de l'IA. Chez les nullipares, aucune amélioration de la fertilité n'est notée, contrairement aux primipares et aux multipares allaitantes [221; 222; 223; 224].

Bonanno et al, 1990 [225], ont comparé l'effet de la PMSG au niveau ovarien, suite à l'injection intramusculaire de 0, 10, 15, 20 UI de PMSG. Soixante douze heures après le traitement de PMSG, la croissance folliculaire augmente avec la dose injectée (respectivement : 7,8-9,8-12,8, et 11,1 follicules à *antrum*). Les auteurs concluent que la PMSG améliore la croissance folliculaire. L'effet est dépendant de la dose : l'administration de 20 UI, 48 heures avant l'injection de GnRH, permet d'obtenir la réponse ovarienne la plus élevée.

En saillie naturelle, quelle que soit la dose (20 UI : [226] 25 UI : [227] ou 40 UI : [228]), la PMSG généralement injectée par voie intramusculaire 48 heures avant la saillie, améliore le taux d'acceptation du mâle à la 1^{er} présentation, par rapport à un lot témoin sans injection. De même, en insémination artificielle, 10 UI de PMSG [229], 20 UI [224], 25 UI [223] injectées dans les mêmes conditions,

permettent d'améliorer le pourcentage de lapines réceptives au moment de l'insémination. Certains auteurs n'utilisent la PMSG que sur des lapines non-réceptives au moment de l'insémination (20 UI : [230] et améliorent ainsi la réceptivité sexuelle des lapines 48 heures après l'injection. Theau-Clément, 2005 [231] préconise l'administration de 20 UI de PMSG par lapine 48 heures avant l'insémination artificielle, ce qui permet d'augmenter la réceptivité et la fertilité des femelles primipares et multipares allaitantes ainsi que la productivité (lapereaux sevrés/IA) de près de 17 à 20 %. Une administration tous les 35 jours n'entraîne pas de réponse immunitaire précoce (apparition d'anticorps anti-PMSG au bout de la 7^{ème} injection) contrairement à ce qui avait pu être mis en évidence chez d'autres espèces comme les caprins ou les ovins [232].

3.5-1-2 La prostaglandine PGF₂

Depuis de nombreuses années, les effets lutéolytiques exercés par les prostaglandines F_{2α} sur les corps jaunes de la plupart des mammifères sont bien connus [233]. Chez les lapines ayant ovulé mais n'ayant pas été fécondées (pseudo gestantes), la PGF_{2α} utérine produit une régression spontanée des corps jaunes 16 à 18 jours après l'ovulation [234 ; 235] approximativement au 14-16^{ème} jours après l'ovulation selon les espèces.

Chez la lapine, la PGF_{2α} (et ses analogues synthétiques) est l'hormone de choix pour l'induction et la synchronisation des mise bas ou pour induire la régression des corps jaunes [236]. Un effet indirect de l'administration de PGF_{2α} au 29^{ème} jour de gestation, pour synchroniser les mises bas, est l'augmentation de la réceptivité sexuelle, ayant en conséquence un effet bénéfique sur la fertilité *post partum* quand les lapines sont inséminées 7 jours après mise bas [237]. La PGF_{2α} et ses analogues peuvent être utilisés les 11^{èmes} jours chez les lapines pseudogestantes après une palpation négative [238].

L'efficacité de PGF_{2α} et PMSG administrées 2-3 jours avant l'insémination, ont été comparés par différents auteurs afin de synchroniser l'œstrus des lapines. Pour une meilleure synchronisation d'œstrus et pour l'amélioration de la réceptivité des femelles multipares, Facchin et *al*, 1992 [239] concluent que la PGF_{2α} administrée 64 heures à des lapines inséminées 11 jours après la mise bas

améliore, par rapport au groupe de femelles traitées à la PMSG, les performances de reproduction.

Récemment, les travaux de Gogol, 2009 [240] ont montré que le traitement des lapines nullipares, primipares et multipares avec 20 UI de PMSG et 0,5mg $\text{PGF}_{2\alpha}$ améliore nettement les performances des femelles primipares et multipares inséminées à 15 jours *post partum* et non pas celles des nullipares. La fertilité (82,50%) des nullipares n'est pas influencée par le traitement en comparaison avec un témoin, (88,75%) traité seulement avec la PMSG, alors que le taux de fertilité des multipares (80%) augmente de 6% par rapport au témoin (74,04%) et celui des primipares (82%) par rapport au témoin (80%).

Theau-Clément, 2005 et Theau-Clément, 2008 [231;19] émettent l'hypothèse, que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ conduit à la régression des corps jaunes et en conséquence, permet lors d'une pseudogestation la levée d'inhibition de la progestérone sur la sécrétion d'œstrogènes, permettant la mise en place d'un nouveau cycle de reproduction. Ainsi la $\text{PGF}_{2\alpha}$ aurait une action *indirecte* sur l'induction de la réceptivité, seulement sur les lapines pseudogestantes, alors que la PMSG aurait une action *directe* sur la croissance folliculaire ovarienne.

3.5-2 Méthodes non hormonales : Biostimulation

De nombreux travaux ont été menés avec succès afin d'induire et de synchroniser l'œstrus 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 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 exogènes. 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 est difficile 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 » [241; 218 ; 231]. 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.

Le terme "biostimulation regroupe toute stimulation environnementale appliquée les jours précédant l'insémination ou la saillie naturelle [231]. Les stimulations environnementales telles que le changement de la longueur du jour, la température, l'alimentation le stress, peuvent agir comme un stress en agissant au travers du système nerveux central et de l'axe hypothalamo-hypophysaire, provoquant une décharge hormonale dans le sang périphérique [242], figure 3.

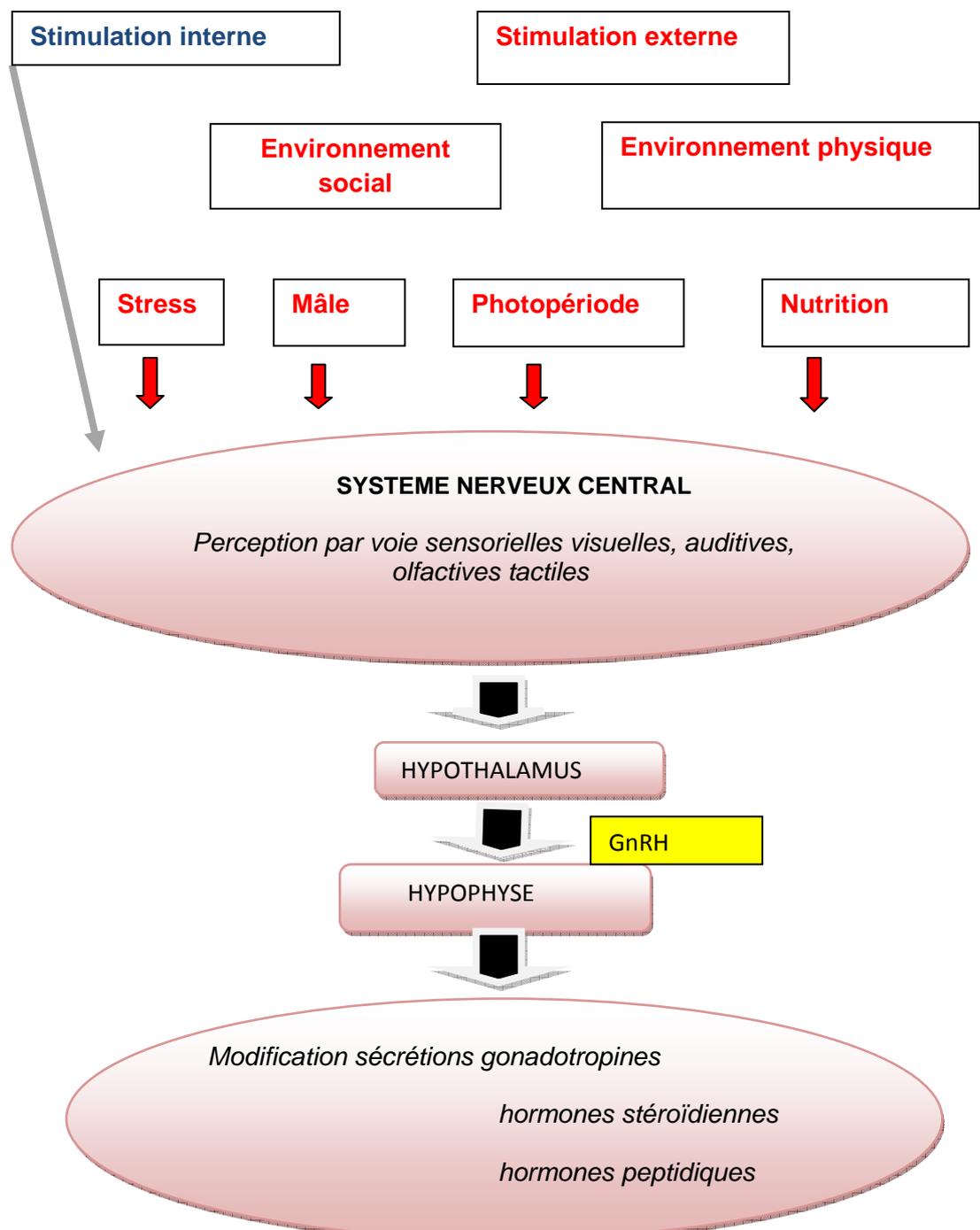


Figure 3.1: Effets des facteurs environnementaux sur l'axe hypothalamo-hypophysaire [242].

3.5- 2-1 Séparation ponctuelle mère-portée

Chez la truie, une séparation quotidienne de 6 à 12 heures entre 2 et 5 semaines *post partum*, induit l'œstrus chez 65 % des mères (vs 50 % dans le lot témoin [243]. Chez la lapine, une séparation ponctuelle de la mère de ses lapereaux (fermeture de la boîte à nid) avant la mise à la reproduction, pourrait être une alternative intéressante aux traitements hormonaux pour induire et synchroniser l'œstrus [241]. En effet, quand cette stimulation est appliquée juste avant l'insémination (séparation ponctuelle de 24 à 48 heures de la mère et de sa portée) elle permet d'améliorer la réceptivité sexuelle de +8% à +38% par rapport à un lot témoin sans séparation [244 ; 245 ; 224 ; 218 ; 246 ; 247 ; 248 ; 249].

Theau-Clément et Mercier, 1999 [250] ont trouvé que la réceptivité sexuelle après 24 heures de séparation mère-portée est plus importante que celle du lot témoin (60,7 vs 53,2% respectivement). Comparés avec le lot témoin, le poids des jeunes lapereaux est déprimé juste après 24 h de séparation (190 vs 202 g), à 21 jours (325 vs 359 g) et à 28 jours (559 vs 593 g) de sevrage. En conséquence, le gain quotidien des jeunes lapereaux âgés seulement de 10 jours est plus faible lorsqu'ils sont soumis à une courte séparation de leur mère.

Même si la plupart des études montrent que la séparation s'accompagne de la diminution du poids au sevrage des jeunes lapereaux, 36 à 48 heures de séparation améliore généralement la productivité globale par rapport au lot témoin : 36h: +14%, [244] ; 40h: +9%, [224] ; 48h: +28%, [248] , +54% [251] , +35%, [249] , +25%, [252] et +20% [246].

Afin de limiter l'effet d'une séparation sur la croissance des jeunes, l'effet de 2 ou 3 jours intercalés d'un court allaitement contrôlé avant l'IA a été étudié. Cette pratique correspond respectivement à 2 x 24 h, [249; 252; 253; 254] ou 3 x 24 h [254; 255] 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 min le matin). A l'exception de l'étude de Matics et al, (2004) [254] qui obtiennent une fertilité élevée du troupeau témoin (78%), un allaitement contrôlé 2 jours avant l'insémination augmente la fertilité de 15 à 17%. Ainsi quand les lapereaux sont

nourris tous les jours, la croissance n'est plus déprimée et la productivité (poids de lapereaux sevrés/IA) est systématiquement améliorée (en écart au témoin : de + 21 à + 51%). Si l'allaitement contrôlé est poursuivi 3 j après l'insémination, Eiben et al, (2004) [253] obtiennent 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 j d'allaitement contrôlé avant l'insémination).

Au niveau physiologique, 48 h de séparation s'accompagnent d'une diminution de la sécrétion de prolactine 24 h après le début de la stimulation, alors que la concentration plasmatique de 17β -œstradiol augmente le jour de l'IA [256 ; 257; 258 ; 259; 260] de plus, la réponse LH au traitement GnRH est plus élevée. Ce résultat suggère que la diminution de sécrétion de prolactine, en relation avec la suppression temporaire des tétées, lève l'inhibition qu'elle exerce sur les hormones gonadotropes et permet la stimulation de la croissance folliculaire et la stéroïdogénèse au cours des 48 heures de séparation et donc sur l'amélioration de la réceptivité et la fertilité (figure 3.2). 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 [261 ; 262].

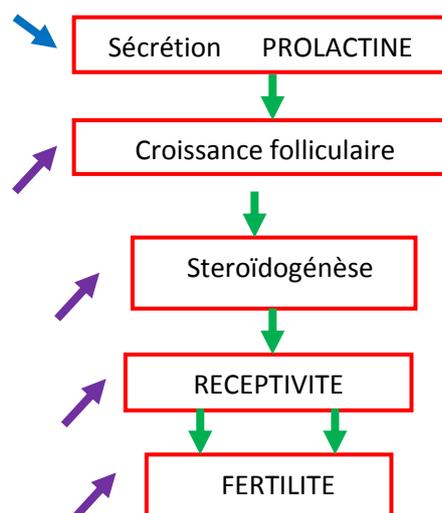


Figure 3.2: Mécanismes physiologiques contrôlant la reproduction chez la lapine [231].

3.5- 2- 2 Programmes alimentaires

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 [231]. Chez la lapine, sans restriction alimentaire préalable, Fortun-Lamothe, 1998 [54] 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 [224] n'a pas amélioré les performances de reproduction des lapines allaitantes recevant un flushing alimentaire 4 jours avant l'insémination.

S'il est clairement démontré que des programmes alimentaires sont susceptibles de déprimer les performances de reproduction [54] à l'inverse, peu d'études débouchent sur la proposition d'un programme susceptible d'améliorer de façon durable, les performances de reproduction sans déprimer la croissance des lapereaux. Gomez et al, 2004 [214] ont comparé les effets de différentes biostimulations ou restrictions, sur la réceptivité de lapines nullipares Californiennes ou Néo-zélandaises: flushing, jeûne de 24h avant saillie. Quel que soit le génotype, 24 heures de jeûne avant la première saillie, dépriment la réceptivité des lapines le jour de la présentation. Par contre, l'effet de la stimulation (ou restriction) peut dépendre du génotype des lapines, et l'effet du flushing (200 g d'aliment par jour, les 5 jours précédant la saillie, au lieu de 100 g distribués jusque là) est favorable chez les lapines Californiennes (78% vs 32% de lapines réceptives) et défavorable chez les lapines Néo Zélandaises (35% de réceptives vs 62%).

3. 5-2-3 Stimulations lumineuses

L'activité sexuelle de la lapine, espèce naturellement saisonnée, est liée à la durée de la lumière du jour. 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.

En modifiant le programme lumineux (8 à 16 heures de lumière / jour, 8 jours avant l'insémination par rapport à un lot témoin (éclairage continu de 16h de lumière / jour), Theau-Clément et *al*, 1990 et Theau-Clément et *al*, 2008 [216 ; 264] ont trouvé une amélioration significative de la réceptivité sexuelle (71,4 vs 54,3%) et la fertilité [265]. 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 [266]. Pour étudier l'effet de stimulations lumineuses destinées à induire la réceptivité sexuelle des lapines au moment de l'insémination, Szendro et *al*, 2004 [267] ont comparé les performances de reproduction de lapines soumises dès 11 semaines à 16 heures d'éclairage quotidien distribué de façon continue (16L:8D) ou discontinue (8L:4D:8L:4D). Sous 16 heures d'éclairage fractionné, le poids des lapines est plus élevé à la mise bas. Cependant, ni la fertilité, ni la taille de portée, ni la viabilité des jeunes, ni le poids de portée ou le poids individuel à 21 jours ne sont influencés par le type de distribution de la lumière dans des conditions d'utilisation de l'allaitement contrôlé.

Theau-Clément et Mercier, 2004 [268] confirment que 16 heures d'éclairage continu peuvent être recommandées dans la mesure où ce programme s'accompagne d'une augmentation de la réceptivité des lapines et de la croissance des jeunes sous la mère. Sous 16 h de lumière, les lapines de production de chair (INRA 0067) sont plus réceptives et les lapereaux ont une meilleure croissance. Gerencser et *al*, 2008 [269] ont confirmé sur 3 cycles de reproduction (42 jours) l'effet positif d'une stimulation lumineuse (passage brutal de 8 à 16 heures d'éclairage 8 jours avant l'IA, retour brutal à 8h le jour de l'IA) sur la productivité (+16% par rapport au témoin), ainsi qu'une légère altération de la croissance des jeunes entre 12 et 16 jours d'âge. Cependant, la durabilité des effets positifs de cette stimulation reste à prouver.

Selon Lefèvre et Moret, 1978 [270] un déplacement brusque de lapines nullipares de clapiers extérieurs (12 heures de lumière en moyenne) vers des clapiers (16 heures d'éclairage) entraîne une acceptation significativement plus élevée du mâle. Par ailleurs, Uzcategui et Johnston, 1990 [271] observent que le rallongement de la photopériode améliore les performances de reproduction des

lapines élevées en rythme semi intensif en milieu tempéré. Une photopériode longue pourrait donc avoir un rôle favorable sur l'activité ovarienne.

Theau-Clément et *al*, 2008 [264] ont étudié les effets de différents programmes lumineux, sur la réceptivité sexuelle de lapines maintenues sans production pendant 18 semaines. Une stimulation brutale de 8 à 16 heures d'éclairement entraîne en 7 jours, l'augmentation du pourcentage de lapines réceptives de 55 à 90% et ce taux se maintient (>80%) pendant une semaine. Sept semaines après, ces lapines sont toujours plus réceptives que les lapines témoin placées sous 16 heures d'éclairement constant. Dans l'objectif d'optimiser la production d'embryons, Virag et *al*, 2008 [272] ont mesuré l'effet d'une stimulation lumineuse 10 jours avant l'insémination sur 40 lapines nullipares âgées de 17 semaines. Le lot témoin était sous 16 heures d'éclairement constant. Les 3 autres groupes de lapines initialement sous 8 heures d'éclairement ont une photopériode augmentée respectivement de 4, 6 ou 8 heures. Aucune des stimulations lumineuses n'a permis d'améliorer, par rapport au témoin, la production d'embryons mesurée 48 heures après l'insémination. Ces résultats suggèrent que la stimulation lumineuse est trop précoce par rapport à l'IA, sur des lapines sans doute physiologiquement trop jeunes pour exprimer une sensibilité au photopériodisme, de plus, la taille du dispositif expérimental est modeste.

3.5-2-4 Manipulation des animaux (changement de cage)

Lefèvre et Moret, 1978 et Rebollar et *al*, 1995 [270; 273] ont observé qu'un changement soudain d'environnement facilite l'apparition d'œstrus et améliore la fertilité chez les femelles nullipares due à la stimulation du système nerveux central et de l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. A l'opposé, Luzi et Crimella, 1998 [274] n'ont pas confirmé une telle amélioration en transférant des femelles nullipares dans une autre cage, 2 jours avant l'insémination.

Castellini, 1996 et Rodriguez de Lara et *al*, 2000 [275; 276] ont trouvé qu'un changement de cage chez les femelles nullipares 48h ou 8h avant la saillie, est une méthode effective de synchronisation d'œstrus. D'après Verita et Finzi, 1980 [277], le changement de cage constitue un « macrostressor » du fait qu'il induit une modification dans le comportement alimentaire et réduit la préhension de l'aliment chez la lapine pour au moins 24heures.

3.5-2-5 Effet du mâle

L'influence de la présence du mâle sur l'activité ovarienne des femelles a été mise en évidence chez la chèvre [278; 279], la vache [280], les caprins [281]. La mise en contact de mâles avec des femelles en anoestrus (femelles anovulatoires) après quelques semaines d'isolement entraîne l'augmentation quasi immédiate des taux plasmatiques de LH tandis que les niveaux de FSH ne varient pas [282 ; 283 ; 284]. Si le contact avec le mâle est maintenu cette augmentation de LH pourra être suivie d'un pic pré ovulatoire de LH, ainsi que d'une augmentation du taux de FSH et du déclenchement de l'ovulation dans les 48 heures qui suivent [285]. La durée de l'anoestrus de lactation est réduite par la présence du mâle chez la brebis [286]. La laine et les sécrétions des glandes sébacées semblent véhiculer le message phéromonal [287]: l'odeur de la laine, mais pas celle de l'urine, permet d'induire une augmentation des décharges pulsatiles de LH et l'ovulation chez des brebis anovulatoires [288]. Tous les sens de la femelle sont impliqués dans la réponse à l'effet mâle (odorat, vue, ouïe, toucher). La réponse ovulatoire maximale est toujours obtenue lorsqu'il y a contact physique entre mâles et femelles [289]. Cependant, l'odorat est aussi très important. Les béliers émettent des phéromones, dont la nature est partiellement connue [288] pas forcément perceptibles par les humains, qui entraînent la pulsativité de LH et donc la réponse ovulatoire des brebis

Certains auteurs font l'hypothèse, que la lapine émet des signaux spécifiques qui attirent les mâles et contiennent l'information de son état sexuel [290]. Les phéromones sécrétées par les glandes sébacées des mâles pourraient induire la réceptivité sexuelle des lapines [291].

Chez les lapines nullipares, la présence du mâle contribue à l'augmentation de l'acceptation de la saillie [292] et améliore la fertilité [293]. Cependant, chez les lapines allaitantes, ni la présence de mâles ni leur proximité pendant une période de 4 ou 48 h [294], 3 ou 4 jours [295], [296] avant l'insémination, n'améliore la réceptivité.

3.6 Facteurs de variation de la réceptivité

3.6-1 Facteurs liés à la femelle

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 la saillie naturelle diminue et par conséquent, leurs performances de reproduction [19].

3.6-1-1 Effet de la parité

Les femelles nullipares ont généralement une réceptivité très élevée de 100%. La réceptivité des lapines primipares est déprimée. En effet, ces lapines doivent répondre aux besoins élevés pour la lactation, la gestation et la croissance encore inachevée. Parigi-Bini et Xiccato, 1993 [297] 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.

3.6-1-2 Effet de la lactation

Durant la lactation, le niveau élevé de prolactine, provenant de l'allaitement, exerce un antagonisme hormonal sur la sécrétion de gonadotrophines [17], inhibant donc la croissance folliculaire [298], résultant donc d'un faible niveau d'œstradiol 17 β [299 ; 300]. Les femelles allaitantes montrent une faible réceptivité sexuelle que les femelles non allaitantes [216 ; 247] entraînant de faibles performances de reproduction [212].

Au moment de l'insémination ou de la saillie, les lapines allaitantes sont généralement moins réceptives que les non- allaitantes [301 ; 302 ; 238 ; 216 ; 303]. En outre, les lapines qui allaitent de grosses portées (≥ 8 lapereaux) sont moins réceptives que celles qui allaitent un nombre plus faible de lapereaux [304 ; 302 ; 216 ; 305].

Le comportement sexuel des lapines varie aussi en fonction du stade de lactation [300]. En effet, toutes les expériences montrent une réceptivité maximale (nombre de lapines acceptant l'accouplement/ nombre de lapines présentées au mâle proche de 100%) dans les heures qui suivent la mise bas [301 ; 306 ; 217 ;

304; 307]. Ceci peut être expliqué par l'inversion rapide du rapport œstrogènes /progestérone à l'approche de la parturition. Par la suite, la réceptivité décroît pour atteindre un minimum au 3^{ème} ou 4^{ème} jour de lactation (40-65 %) [304]. puis augmente progressivement jusqu'au 11^{iem} jour de lactation [241]. Néanmoins, elle ne retrouve son niveau initial (85-90 %) qu'après le sevrage [308 ; 17] (figure 3.3).

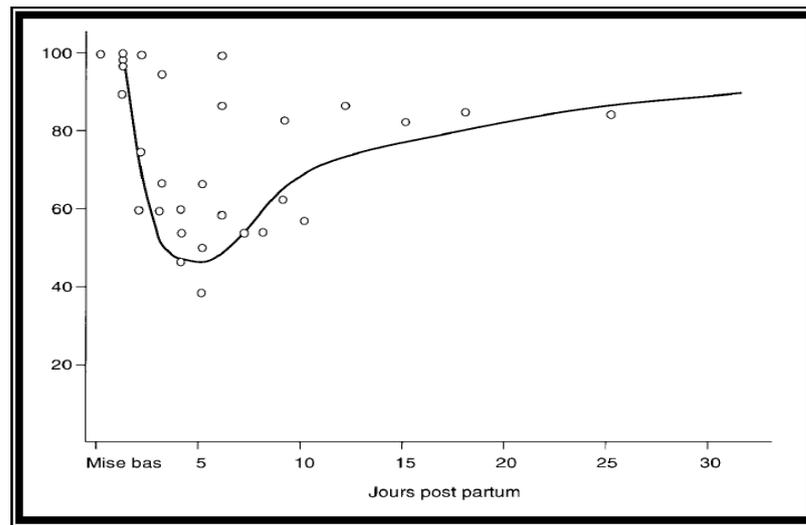


Figure 3.3: Evolution du taux de réceptivité des lapines au cours du *post partum* [17].

3.6-2 Facteurs liés à l'environnement

3.6-2-1 Alimentation

Les lapines nourries à volonté acceptent beaucoup plus facilement l'accouplement, contrairement aux lapines rationnées [309]. Brecchia et *al*, 2004 [263] ont mis en évidence l'effet défavorable de la restriction alimentaire sur les performances de reproduction. Une restriction de 24h avant l'insémination, entraîne une réduction de la réceptivité (55,8 vs 70,9%). Par rapport à un groupe de lapines nourries *ad libitum*, le jeûne appliqué durant 1 à 2 jours avant l'insémination déprime la réceptivité. Les conséquences du jeûne sur l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien sont : la diminution de l'expression des récepteurs des œstrogènes au niveau hypothalamo-hypophysaire, de la fréquence et de l'amplitude des pulses des œstrogènes, de l'amplitude du pic LH 30 à 60 mn après l'injection de GnRH.

3. 6-2-2 Photopériode

Comme chez la plupart des espèces animales, la durée d'éclairement a une influence sur le comportement sexuel de la lapine. La lapine a un mode de reproduction dit à jours longs. Ainsi, les taux d'acceptation de la saillie sont minimaux (10-20%) pour 8h d'éclairage et maximaux (70-80%) pour 16h d'éclairage. De plus, une trop faible durée de jour pourrait provoquer des échecs de fécondité et de la mortalité embryonnaire précoce [67]. En effet, l'augmentation de la durée d'éclairage de 12 heures à 16 heures de lumière par jour améliore significativement la réceptivité des femelles [270] et de 16h /24 h permet d'obtenir une activité bonne et régulière des reproductrices durant toute l'année [47]. Ainsi, selon Walter et *al*, 1968 [310], les femelles élevées sous photopériode claire de 16h par 24h montrent un comportement d'œstrus nettement au dessus de celui des femelles sous 12 h ou 8 h de lumière par 24h avec un poids corporel moindre. Une proportion élevée des femelles élevées sous photopériode claire de 8h par 24h est en anœstrus permanent (22%).

CHAPITRE 4

OVULATION ET ATRESIE FOLLICULAIRE

Arrivé au terme de sa croissance le follicule forme à la surface de l'ovaire une saillie conique et libère l'ovocyte, en réponse à une forte élévation des gonadotropines ou décharge ovulante. Chez la lapine, les follicules matures sont produits de façon continue, suite à l'accouplement ou à une stimulation hormonale. En absence d'accouplement ou de stimulation hormonale, les follicules matures présents à la surface de l'ovaire auraient une durée de vie de 7 à 10 jours [188] ou de 3 à 6 jours [189] avant de régresser par atresie

4.1 Introduction à l'ovulation

Chez la lapine, Heape (1905) [21] a décrit pour la première fois le mécanisme de l'ovulation chez la lapine. Sous l'impulsion du coït et de la stimulation mécanique de la région cervico-vaginale, se produit un réflexe ovulatoire. Par la suite, plusieurs expériences ont prouvé qu'un simple frottement de la vulve [201] ou un chevauchement sans copulation [311] peuvent provoquer l'ovulation chez la lapine. Cependant, une stimulation mécanique du vagin et /ou du cervix ne conduit qu'à une fréquence faible d'ovulation [312; 313; 311].

L'ovulation peut survenir sans l'intervention du mâle, à la suite d'excitation sexuelle sans pénétration vaginale [314; 315] montrent qu'une anesthésie du cervix des lapines, n'empêche pas l'ovulation de se produire. De plus, le fait qu'une simulation d'accouplement avec deux lapines induise l'ovulation chez la lapine dominée confirme cette hypothèse.

Des études récentes menées sur les lamas et les alpagas [316; 317], ont nuancé la théorie d'ovulation provoquée par le coït, en montrant que l'ovulation ne serait pas uniquement provoquée par l'accouplement mais aussi par un facteur présent dans le plasma séminal. En effet, l'injection de 2 ml de plasma séminal en intramusculaire chez des femelles provoque un pic de LH plasmatique 75 minutes

après le traitement et aboutit à l'ovulation pour 93% des femelles traitées et 0% des femelles recevant une injection de solution saline. Chez la chamelle, [318; 319] ont démontré l'existence d'une substance chimique dans la semence susceptible d'induire l'ovulation. Aucune étude comparable n'a été publiée à ce jour chez la lapine.

En réalité, le mécanisme d'ovulation souffre d'exceptions puisque contrairement aux écrits de Brooks, 1937 [314], le coït ne peut pas toujours induire l'ovulation chez des femelles réceptives [320; 201]. Selon Templton, 1940 [311], seulement deux lapines non réceptives sur cinq ovulent, et cinq parmi vingt maintiennent une gestation à terme à la suite d'une saillie forcée. Les travaux de Rodriguez et *al*, 1989 [238] ont montré chez les lapines à haute et moyenne réceptivité un pic important de LH par rapport aux lapines de faible réceptivité où une faible réponse à LH. Le pic de FSH est associé aux lapines à haute réceptivité mais aucune réponse n'est observée pour les lapines à faible réceptivité. Une faible réceptivité peut être en corrélation avec une déficience en croissance des gros follicules ovariens et une faible concentration en œstradiol -17 beta dans le liquide folliculaire [205].

4.2 Contrôle de l'ovulation

Les travaux anciens de Smith et White, 1931 et Mc Phail et *al*, 1933 [321; 322] ont montré que très rapidement après le coït, le lobe antérieur de la glande pituitaire libère des hormones ayant une action directe sur l'ovaire de la lapine, induisant ainsi l'ovulation [323]. Cette activité pituitaire est initiée par le coït ou une excitation émotionnelle.

Chez les espèces à ovulation spontanée, les sécrétions des œstrogènes par les follicules pré ovulatoires, entraînent à partir d'un certain seuil un feed back positif sur l'hypothalamus qui à son tour stimule l'hypophyse qui se traduit par une décharge de LH provoquant le pic pré ovulatoire et l'ovulation. Dans le cas de la lapine, l'absence d'ovulation spontanée serait ainsi principalement due à la déficience du rétrocontrôle positif des œstrogènes et donc à une difficulté à provoquer le pic de LH [324]. Il en est de même chez le lama [325], la chatte

[326], et l'alpaga [327]. En dehors de l'accouplement, la sécrétion élevée en œstrogènes par un grand nombre de follicules matures, n'entraîne pas la décharge préovulatoire de LH. De même, l'administration d'œstrogènes exogènes n'entraîne pas de pic de LH ni chez la lapine, [328; 329] ni le furet [330; 331].

En saillie naturelle, l'ovulation de la lapine est induite par l'accouplement, on parle de réflexe ovulatoire (Figure 4.1). Le réflexe ovulatoire fait intervenir deux voies: la voie afférente, qui transmet au système nerveux central les stimuli associés au coït par voie nerveuse, la voie efférente qui transmet l'ordre d'ovulation du système nerveux central à l'ovaire, par la voie humorale qui permet l'achèvement de la maturation ovocytaire (maturation nucléaire) et l'ovulation [332]. Le coït agit comme un stimulus qui va entraîner une cascade neuroendocrine complexe [333 ; 331] aboutissant à la stimulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, à la décharge préovulatoire de LH et donc à l'ovulation 10 à 12 h après l'accouplement [334; 335].

Suite à l'accouplement, l'hypothalamus émet une décharge de GnRH qui atteint immédiatement l'hypophyse par le système porte hypothalamo-hypophysaire. Seule une très faible fraction de cette décharge de GnRH se retrouve diluée dans le flot sanguin général, ce qui a pour conséquence que les taux circulants dans le sang périphérique n'ont aucune relation avec les taux physiologiques efficaces. En réponse à la sécrétion de GnRH, il y a une décharge de LH et de la FSH par l'antéhypophyse. La stimulation de l'hypophyse survient 60 secondes après le coït et le taux de LH ovulatoire est atteint en fait réellement à partir de 20 minutes *p.c.* [336] ou 28 et 90 minutes selon Fee et Parkes, 1929 [337] et entre 35 et 50 minutes d'après Firor, 1933 [338].

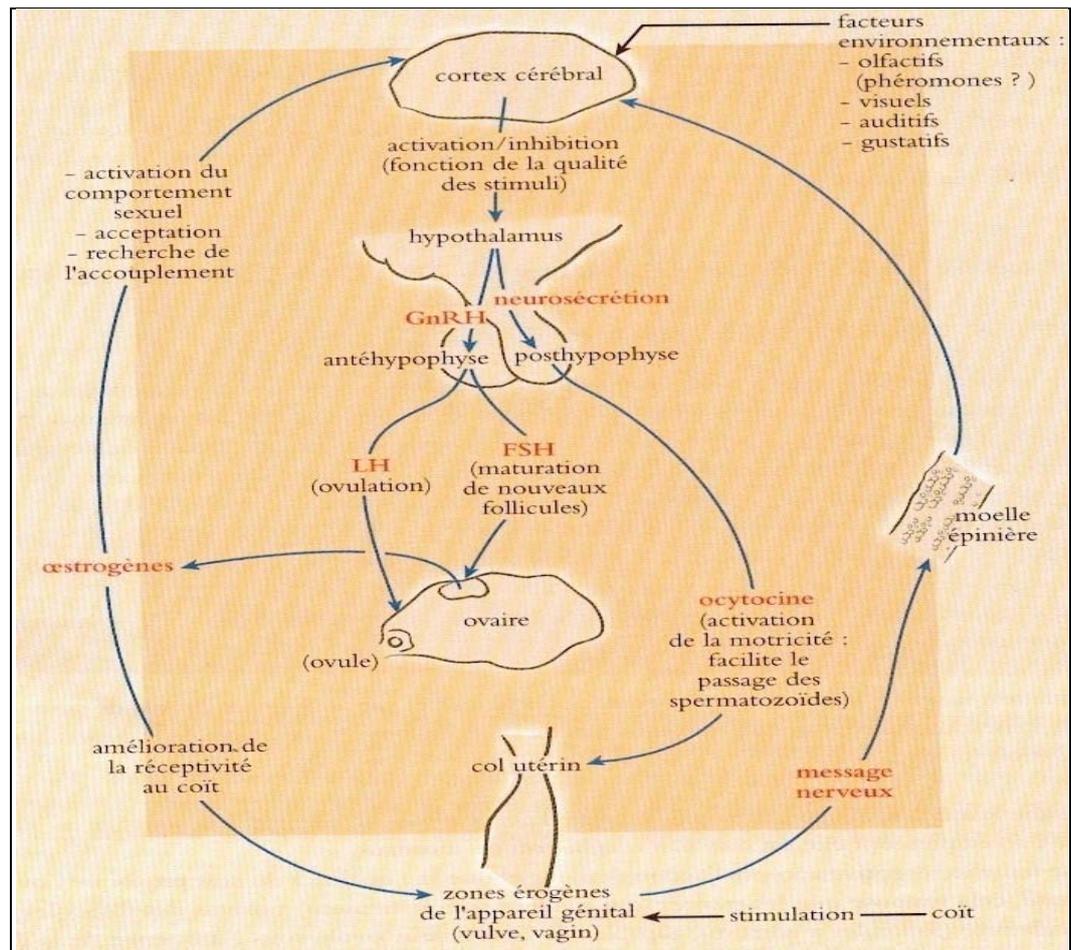


Figure 4.1: Régulation neurohormonale de l'ovulation provoquée chez la lapine [186].

Chez les lapines ayant ovulé, la LH est détectable au niveau plasmatique trente minutes après le coït. Elle atteint un maximum deux heures *post coitum* avant de retrouver sa valeur basale six heures après. Elle demeure à ce niveau les sept premiers jours de la gestation [339]. Par ailleurs, Jones et al, 1976 [340] mettent en évidence une élévation du niveau de LH dans les 3 minutes après l'accouplement et un pic 15 minutes après. Celui-ci se maintient pendant au moins 1 heure avant de retrouver sa valeur basale. Cette équipe conclut qu'une augmentation du taux sérique de LH à 300ng/ml est suffisante pour provoquer l'ovulation et la formation de corps jaunes par lutéinisation des cellules folliculaires. Chez le lama, le taux de LH apparaît 15 minutes après le coït, atteint un pic deux heures après, puis décline à un niveau basal, 7 heures après [325].

L'augmentation de la LH endogène apparaît le plus souvent sous la forme d'un «pic» de très forte amplitude et de durée variable selon les espèces, qui induit, dans les heures qui suivent, la rupture du follicule ovulatoire et la libération de l'ovocyte dans l'oviducte. Seuls les follicules qui expriment de nombreux récepteurs de LH à la surface des cellules de *granulosa* sont capables de répondre à ce signal par la régulation de l'expression de plusieurs gènes, et le transmettent ensuite aux cellules du cumulus et à l'ovocyte avant l'ovulation proprement dite [341].

L'intervalle de temps entre le pic pré ovulatoire et l'ovulation permet les changements morphologiques et biochimiques indispensables au follicule et à l'ovocyte qu'il contient. Une cascade de modifications endocrines et morphologiques constitue pour le follicule, le signal du déclenchement imminent de l'ovulation. Ces modifications sont fortement liées au pic pré ovulatoire de LH. Ce mécanisme semble être inclus dans un programme prédéterminé de stéroïdogénèse pré ovulatoire. En effet, en parallèle à la maturation ovocytaire, se produit une transition à la stéroïdogénèse folliculaire : majoritairement œstrogénique avant le pic de LH, elle s'oriente vers une production préférentielle de progestérone après celui-ci [341].

La LH est principalement connue pour son action déterminante dans le phénomène de l'ovulation (pic de LH ou pic pré ovulatoire). La LH est de plus en plus considérée comme indispensable (taux basal) pendant la phase de croissance folliculaire afin d'assurer la viabilité de l'ovocyte. Ce taux basal de LH est également impliqué dans le phénomène de reprise de la méiose ovocytaire [341].

Suite à l'accouplement, la sécrétion de FSH permet la reprise de la méiose jusqu'au stade métaphase II [342]. La concentration en FSH commence à augmenter trente minutes après, puis atteint un maximum deux à trois heures, elle diminue huit heures après l'accouplement. La lapine présente la particularité d'avoir un deuxième pic de FSH, moins marqué que le premier, de seize heures à vingt deux heures *p.c.* puis diminue graduellement pour atteindre un niveau basal 48 heures après [339]. La décharge en FSH post ovulatoire induirait la maturation d'une nouvelle vague folliculaire et la sécrétion d'œstrogènes par les follicules

matures. Cette sécrétion, pourrait maintenir l'équilibre hormonal, dont le blastocyste a besoin, pour la progression à travers l'oviducte et la libération de mucopolysaccharides, par les cellules épithéliales de l'oviducte qui vont entourer le blastocyste durant son transport dans les trompes de Fallope [343].

Bolet, 1984 [344] obtient une deuxième élévation du pic de FSH, à 10 h *p.c.* Il montre qu'il est indépendant du déroulement de l'ovulation, du premier pic de FSH et du pic préovulatoire de progestérone. Les conditions favorisant l'apparition de cette deuxième élévation de FSH ne sont pas encore connues mais il est clair que ce processus permet de stimuler des follicules en croissance pour l'établissement d'une nouvelle vague folliculaire. En outre, suite à l'accouplement, l'hypothalamus induit la libération d'ocytocine par la post hypophyse, qui facilite la ponte ovulaire [332].

4.3 Maturation du complexe ovocyte-cumulus pour la reprise de la méiose

L'ovulation est un processus complexe au cours duquel sont induits à la fois la reprise de méiose de l'ovocyte, l'expansion du cumulus, la rupture du pôle apical du follicule, et la restructuration tissulaire associée à la différenciation cellulaire nécessaire à la formation du corps jaune [105].

Au cours de la folliculogénèse, depuis la formation du follicule primordial jusqu'à la phase de croissance finale du follicule dominant, l'ovocyte est bloqué en prophase de première division méiotique et ce blocage est maintenu essentiellement par un niveau élevé d'AMPc intra-ovocytaire. Dans le follicule, ce facteur inhibiteur transite des cellules de la *granulosa* murales au cumulus et à l'ovocyte par des jonctions communicantes. *In vitro*, la reprise de méiose intervient spontanément quand le complexe ovocyte-cumulus est sorti du follicule et résulterait de l'arrêt de l'apport de ce facteur inhibiteur. *In vivo*, le pic pré ovulatoire de LH induit la phosphorylation de la connexine 43 (GJA1) qui constitue les jonctions communicantes, bloquant ainsi le passage d'AMPc par interruption du couplage métabolique entre les cellules folliculaires et l'ovocyte [345]. Le pic préovulatoire de LH induit aussi l'expansion du cumulus aussi nommé mucification. Cette expansion résulte de la sécrétion d'une matrice extracellulaire riche en acide hyaluronique [346] juste avant l'ovulation [136]. Le cumulus

expansé constitue un microenvironnement protecteur pour l'ovocyte et assure la captation du complexe par le pavillon de la trompe suite à l'ovulation. Il joue également un rôle dans la capacitation des spermatozoïdes avant la fécondation [347]. Il est aussi reconnu que les interactions entre l'ovocyte et les cellules du cumulus se produisent dans les deux sens [348 ; 349 ; 350]. Chez la souris, des CEEF «Cumulus Expansion Enabling Factor ou facteurs permettant l'expansion du cumulus» seraient sécrétés par l'ovocyte ayant atteint sa pleine grosseur [351]. Récemment, il a été suggéré que GDF-9, serait le plus probable de cette famille de TGF β , qui régulerait l'expansion du cumulus [352].

La rupture de la vésicule germinale (*Germinal Vesicle Break Down* ou GVBD) est le premier signe visible de maturation. Elle se produit dans les heures qui suivent le pic pré ovulatoire de LH et elle commence par un plissement de l'enveloppe nucléaire. Les pores nucléaires disparaissent puis l'enveloppe se fragmente avant d'être dégradée. Le nucléole disparaît rapidement au contact du cytoplasme. Les chromosomes se condensent durant et après la GVBD et les chiasmas, migrent vers l'extrémité des bras chromosomiques. Le fuseau se forme depuis les MTOCs (*microtubule organizing center*, équivalent du centrosome dans l'ovocyte) et ses tubules s'ancrent sur les chromosomes qui se distribuent sur la plaque métaphasique de la première division méiotique (métaphase I). L'anaphase et la télophase sont rapides, les chromosomes homologues se séparent et migrent aux pôles du fuseau, dont l'un provoque une boursouffure de la membrane qui deviendra le premier globule polaire. Après la télophase, les chromosomes de l'ovocyte se répartissent rapidement sur une plaque métaphasique alors que se forme le second fuseau méiotique (métaphase II) [353 ; 354]. Le globule polaire contenant la moitié du complément chromatinien est expulsé dans l'espace périvitellin. C'est à ce stade qu'intervient l'ovulation chez la plupart des mammifères

4.4 Modifications histologiques liées à l'ovulation

4.4 -1 Rupture de la paroi folliculaire

« *La totalité du processus ovulatoire, la congestion du follicule, la formation d'une protrusion à la surface de l'ovaire, sa rupture progressive et l'expulsion du contenu qui en résulte ressemblent curieusement à la formation et à la rupture*

d'un furoncle et y ressemble d'autant plus que certains mécanismes similaires sont impliqués » [22]. Durant la phase de maturation finale terminale les follicules acquièrent la possibilité de répondre à un pic de gonadotropines (LH principalement). Par ailleurs, un profond remaniement de leur structure permet l'expulsion d'un ovocyte mature, puis la formation d'un corps jaune.

Les modifications morphologiques du follicule ovarien induites par la décharge gonadotrope sont connues depuis plus d'une trentaine d'années [24 ; 355; 356]. *In vivo*, l'administration de LH chez une lapine réceptive aboutit à une augmentation en œstrogènes folliculaires (œstrone et œstradiol) à 1 heure *p.c.* suivi par une diminution à 4 heures *p.c.* La concentration en progestérone s'accroît aussi très rapidement mais décroît plus lentement et persiste à un faible niveau jusqu'à 6 heures *p.c.* [357]. Les prostaglandines (PGE2 et PGF2 α) sont synthétisées par le follicule en quantités appréciables peu avant l'ovulation [358]. La paroi folliculaire est modifiée dans les heures après la décharge en LH [24] et un amincissement au niveau de la région apicale facilite la rupture folliculaire. Plusieurs des changements morphologiques et métaboliques observés lors de l'ovulation ressemblent à ceux observés lors d'une réaction inflammatoire [359].

D'importants remaniements morphologiques et cytologiques aboutissent à la rupture des follicules :

- La *thèque externe* devient œdémateuse par diffusion de plasma sanguin.
- Les faisceaux de fibres de collagène de la *thèque externe* et de l'*albuginée* se dissocient.
- Les cellules de la *granulosa* se détachent de la lame basale, cessent de se diviser et perdent les jonctions qui les unissaient.
- Les cellules du cumulus présentent les mêmes transformations que les cellules de la *granulosa* sauf que leur dissociation est totale car elles secrètent abondamment de l'acide hyaluronique. Les cellules péri-ovocytaires demeurent assez souvent attachées à l'ovocyte formant la *corona radiata*.
- La lame basale séparant la *granulosa* de la *thèque interne* disparaît par endroit et des vaisseaux néoformés pénètrent dans la *granulosa* [184].

En outre, des changements ont également lieu à l'apex du follicule :

- Les cellules de l'épithélium ovarien s'étirent et s'aplatissent, accompagnant l'extériorisation du follicule à la surface de l'ovaire, puis se détachent.
- Les cellules sous jacentes de la *granulosa*, des thèques et de l'albuginée se dissocient complètement puis disparaissent.

Par la suite, la rupture de la paroi folliculaire nécessite l'action d'enzymes protéolytiques dégradant la matrice extracellulaire [184].

Nous allons successivement décrire les modifications histologiques consécutives à la décharge de LH au niveau de la *granulosa*, des thèques et du réseau capillaire et au niveau de l'apex du follicule.

➤ Changements histologiques au niveau de la *granulosa*

Chez la lapine, deux heures après l'accouplement, les cellules de la *granulosa* sont en cours de dissociation où une légère dissociation est apparente dans les cellules de la *granulosa* de la lapine. Les espaces intercellulaires ont bien augmenté et sont visibles à partir de la 4^{ème} heure. Dès la sixième heure, les cellules de la *granulosa* sont dispersées par le liquide folliculaire mais certaines cellules demeurent attachées par de longs prolongements cytoplasmiques à la lame basale du côté de l'apex. Peu avant l'ovulation, les cellules de la *granulosa* ont pratiquement disparu de la zone où se produira la rupture [25 ; 24]. A ce stade, à 8 heures *p.c.*, les espaces intercellulaires entre les couches des cellules de la *granulosa* sont proéminents au niveau des régions apicales et latérales. Les cellules du *cumulus oophorus* se dissocient comme celles de la *granulosa* mais leur dissociation est complète, ce qui contribue à la libération de l'ovocyte dans l'*antrum*. L'ovocyte est entouré par quelques cellules du cumulus dont les prolongements restent ancrés dans la membrane pellucide, elles forment la *corona radiata*. L'ovocyte est pratiquement libre dans le liquide folliculaire [24]. Les cellules du cumulus secrètent alors, une glycoprotéine qui englobe l'ovocyte et la *corona radiata*, formant une masse visqueuse qui s'étale à la surface de l'ovaire au moment de la rupture et facilite la capture de l'ovocyte par le pavillon [360].

- Changement au niveau des thèques et le développement du réseau capillaire

Kranzfelder et al, 1984 [153] utilisant des études autoradiographiques et morphométriques sur l'ovaire de lapine, concluent qu'il existe une liaison entre la prolifération des cellules de la *granulosa* et celle des cellules endothéliales de la *thèque interne*. Le développement du réseau vasculaire périfolliculaire est initié seulement lorsque la couche de la *granulosa* est composée de plusieurs couches cellulaires. Lors de la croissance folliculaire, durant et après l'ovulation, la diminution et d'une augmentation de l'index mitotique des cellules de *granulosa* sont suivies d'une diminution et augmentation dans l'index mitotique des cellules endothéliales du réseau capillaire. Cependant, la prolifération des cellules endothéliales des follicules en croissance de diamètre > 900µm continue, bien que la diminution de l'index mitotique des cellules de *granulosa* indique une réduction de la croissance du follicule. La détermination du nombre de capillaires dans la *thèque interne* des follicules en croissance et matures (3, 6, 8 et 14 heures après stimulation de lapines avec l'hCG), montre que le nombre de capillaires croît de façon linéaire avec l'augmentation de la taille des follicules. L'altération de l'index mitotique des cellules de la *granulosa* est suivie par une altération similaire de l'index mitotique des cellules endothéliales de la *thèque interne*. Les cellules de la *granulosa* pourraient avoir une fonction de régulation sur la croissance du réseau capillaire de la *thèque interne* [187]. .

Les lapines observées 4 heures après l'injection de hCG, présentent un œdème important au niveau de la *thèque interne*. Les cellules sont distribuées au hasard dans la région œdémateuse en petits groupes ou isolées, de même la partie interne de la *thèque externe* apparaît désorganisée. La paroi des capillaires autour des cellules de la *thèque interne* est intacte, quoique une légère hyperémie est présente [25]. Au niveau de l'albuginée, on n'observe pas d'œdème. Dix heures après l'injection l'œdème est évident au niveau des couches entre l'épithélium ovarien et les cellules murales de la *granulosa* [361]. Immédiatement avant la rupture, les fibroblastes de l'albuginée commencent à se dissocier. L'œdème au niveau de l'apex est presque absent, la paroi folliculaire au niveau

de l'apex paraît très fine et les structures cellulaires sont séparées par le liquide folliculaire [362 ; 363 ; 364].

Dans les heures précédant l'ovulation, le volume du follicule augmente rapidement sans qu'il y ait augmentation de la pression intrafolliculaire [365 ; 366 ; 367]. Elle est égale à la pression sanguine intracapillaire. Toute variation induite de la pression sanguine entraîne un changement de même sens de la pression intrafolliculaire [365]. Les modifications visibles au niveau des thèques permettent d'expliquer comment est possible la distension sans surpression, ni rupture précipitée du follicule. La dissociation et la destruction partielle des fibres de collagènes [368] ainsi que des dissociations cellulaires, dues à l'infiltration sérique particulièrement intense au niveau de l'apex que l'on observe dès la 4^{ème} heure dans la *thèque externe* contribuent à accroître l'élasticité de la paroi du follicule et à fragiliser l'apex. L'œdème de la thèque résulterait de l'élévation des stéroïdes, ainsi que de l'apparition des fenestrations dans les capillaires de la *thèque interne* [369].

Au moment de l'injection de hCG à des lapines, la lumière des capillaires est étroite. Quatre heures après, la lumière devient légèrement dilatée et quelques leucocytes sont présents. A 9h, la lumière est modérément dilatée et les cellules endothéliales deviennent plus minces. Des érythrocytes s'échappent de la lumière des capillaires et se retrouvent dans l'espace péricapillaire [370].

Puisque l'obstacle principal à l'extension et à la rupture du follicule est l'ensemble des fibres de collagènes de la thèque externe et de l'albuginée, différents systèmes viennent y remédier :

- Un double système de collagénase: une collagénase extracellulaire procédant au démantèlement des fibres collagènes et cathepsine lysosomiale collagenolytique assurant la digestion des fragments de collagène, correspondant ainsi à la situation normale des tissus en remodelage [368]. Les cellules productrices de collagénases semblent être les fibroblastes de l'albuginée [359]. La progestérone pourrait stimuler l'activité collagénase comme le montre l'augmentation de l'extensibilité des lambeaux de follicules en présence de progestérone [367].

- Des systèmes qui procèdent à la disparition de la matrice qui unit les fibres collagènes en faisceaux : Le liquide folliculaire possède une activité fibrinolytique intense (100 fois plus élevée que le plasma sanguin), dépendante de la présence de plasmine. Celle-ci résulterait de la transformation du plasminogène sanguin et liquide folliculaire en plasmine et par l'activateur du plasminogène [371].

➤ Changements au niveau de l'apex

Deux théories majeures ont longtemps dominé des discussions concernant le mécanisme de rupture du follicule préovulatoire. L'une implique une pression intrafolliculaire accrue, l'autre une dissolution enzymatique de la paroi folliculaire avant sa rupture [372]. Depuis que l'on a montré que la pression intrafolliculaire reste inchangée et est essentiellement égale à la pression capillaire pendant la période préovulatoire [365 ; 366], la théorie enzymatique domine [361 ; 373]. L'épithélium de surface est composé d'une couche unique de cellules cubiques reposant sur une lame basale. La caractéristique du cytoplasme cellulaire est la présence de granules denses atteignant jusqu'à 5 µm de diamètre, contenant des enzymes lytiques probablement impliquées dans le mécanisme de rupture de la paroi folliculaire [374]. La rupture, orientée vers l'extérieur, est préparée par une différenciation des cellules de l'épithélium ovarien, limitée à l'aire où elles recouvrent le follicule.

Chez la lapine, 4 heures après l'injection de l'hCG, un grand nombre de lysosomes sont présents dans la partie apicale de la cellule, ils grossissent et se multiplient dans les heures suivantes et sont plus nombreux à 9 heures. Environ 2 heures avant la rupture folliculaire, les lysosomes se vident et leur contenu est expulsé dans la tunique albuginée sous-jacente dont les fibroblastes dégénèrent, tandis que les fibres collagènes se désintègrent. Immédiatement avant la rupture folliculaire, l'épithélium de surface est extrêmement atténué laissant apparaître des signes de dégénérescence et le nombre de granules a diminué [26]. Les premiers signes de dissociation au niveau de l'apex sont observés dès 4 heures *p.c.* au même moment que la dissociation des cellules de la *granulosa* et des *thèques*. Dès 6 heures *p.c.*, l'albuginée devient œdémateuse, et à 10 heures *p.c.* une hyperhémie est observée au niveau des vaisseaux de la *thèque interne* et

l'apex du follicule ovarien. Le mur apical devient œdémateux et les fluides extra cellulaires dissocient les éléments denses du mur et l'apex devient plus mince suite à la pression intrafolliculaire. L'apex folliculaire est fin et pratiquement toutes les cellules sous jacentes de la *granulosa*, des thèques et de l'albuginée se dissocient complètement puis disparaissent. La faible augmentation de la pression intra folliculaire entre la décharge de LH et l'ovulation peut faciliter la rupture du follicule qui s'achève par la désintégration complète de l'apex. L'ovocyte est alors expulsé en réponse à la chute de pression hydrostatique provoquée par la rupture folliculaire (Figures 4.2 et 4.3), [130; 25].



Figure 4.2: Section d'un follicule de lapine en cours d'ovulation [130].

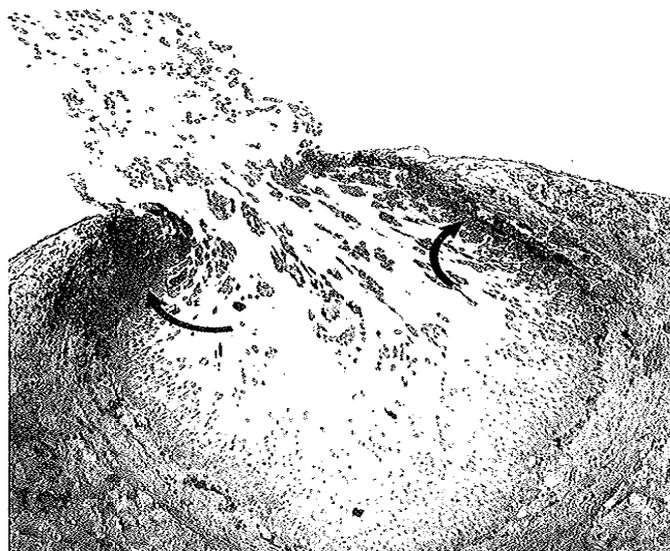


Figure 4.3: Section d'un follicule ovulatoire de lapin 1/2h après ovulation [25].

Ce remaniement explique que du matériel enzymatique en provenance de ces lysosomes ou granules, contribue à la rupture folliculaire [373 ; 375]. La libération des enzymes lysosomales peut être tenue pour responsable de la destruction progressive des assises sous-jacentes soit directement, soit en provoquant la libération d'enzymes protéolytiques; ce qui est particulièrement évident pour les fibroblastes à corps multivésiculaires de l'albuginée et de la thèque interne autour desquelles on voit disparaître la substance fondamentale intercellulaire et les fibres collagènes au cours de la même période [376]. Selon Weiner et Kaley, 1975 [377] chez le rat, la $PGF2\alpha$ est connue pour fragiliser la membrane des lysosomes et activer leurs enzymes. Cajander, 1976 [26] rajoute que c'est au moment où la concentration des $PGF2\alpha$ devient importante dans le liquide folliculaire que la fonte des lysosomes est observée dans l'épithélium ovarien. La $PGF2\alpha$ agirait donc en libérant les enzymes lysosomales de l'épithélium ovarien à l'apex du follicule, permettant ainsi sa rupture.

L'étude cinématographique de la rupture folliculaire par Hill et *al*, 1935 [378], a montré la nature explosive du phénomène et a permis de calculer la durée de l'expulsion de tout le contenu folliculaire (30 à 60 secondes). Récemment, Dahm-Kähler et *al*, 2006 [363] ont démontré par une méthode microscopique intravitale et par un enregistrement en vidéo, l'observation *in vivo* de l'ovulation sur l'ovaire de lapine (figure 4.4).

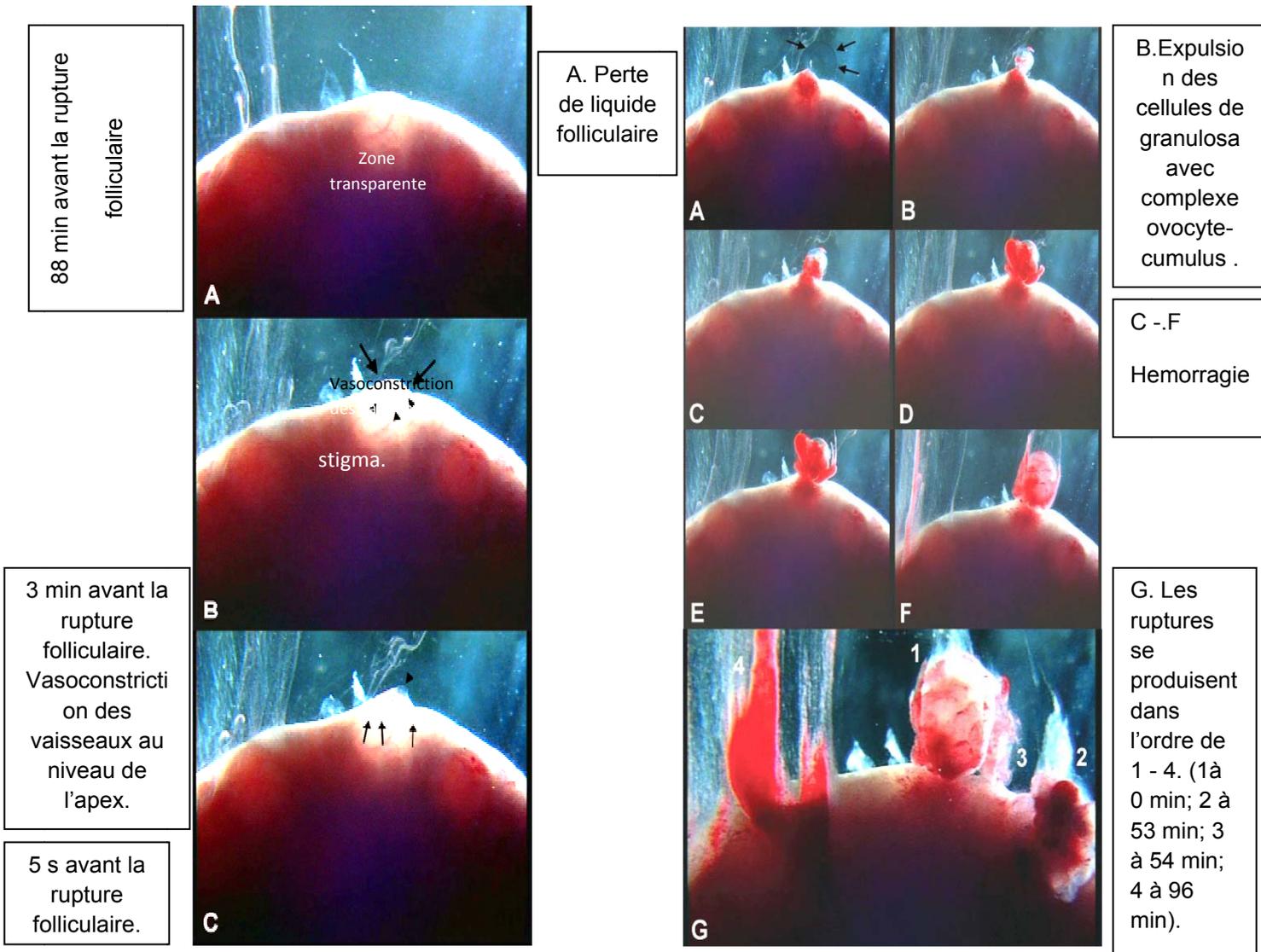


Figure 4.4: Processus des étapes de l'ovulation durant un enregistrement en vidéo [363].

4.4-2 Modifications vasculaires du follicule

Peu après la décharge gonadotrope, une augmentation du débit sanguin ovarien et de la perméabilité vasculaire est observée. Le flux sanguin ovarien augmente et est associé à une hyperhémie. Cette vasodilatation est due au monoxyde d'azote dit oxyde nitrique (NO), puissant vasodilatateur (tableau 4.1). En conséquence, le diamètre des vaisseaux et la surface des capillaires doublent dans la *thèque interne*. Par ailleurs, la perméabilité vasculaire augmente par exsudation de plasma sanguin et des fenestrations dans les parois des capillaires apparaissent d'où s'échappent les cellules sanguines. Le Platelet Activating Factor

(PAF) et Vascular Endothelial Factor (VEGF) sont des facteurs qui contribuent à l'augmentation de cette perméabilité vasculaire [184]. Une à 3 heures avant l'ovulation, une vasoconstriction des gros vaisseaux pourrait résulter de la présence d'endothéline, principalement localisée à l'apex du follicule (stigma) où l'ischémie est totale. Dans l'ensemble de la thèque, ont lieu des ruptures de vaisseaux et des microthromboses puis une angiogénèse, prémices de la formation du corps jaune [148 ; 363].

Enfin, l'augmentation généralisée de l'activité de l'activateur de la plasmine [371] résulte dans l'activation de protéases. Dans le follicule, l'interleukine -1 (IL-1) est un médiateur important ayant un effet sur le PAF [379]. Pendant les premières étapes de l'ovulation, IL-1 n'a pas d'effet sur le système PAF, mais diminue son activité au moment de la rupture folliculaire [380]. Ceci pourrait expliquer de la formation d'un caillot sanguin au niveau de l'apex folliculaire, et l'arrêt soudain de l'hémorragie. En plus de ces phénomènes vasculaires, l'ovulation est associée à une réaction de type inflammatoire [359]. Le nombre de lymphocytes et de macrophages augmente autour des follicules pré ovulatoires et ils secrètent des cytokines (IL-1 β =interleukine 1 β et TNF α = Tumor Necrosis Factor). Après la décharge gonadotrope, les concentrations de bradykinine, histamine et de facteur d'activation plaquettaire (PAF) augmentent. Cependant, l'augmentation des taux de métabolites de l'acide arachidonique, leucotriènes, prostaglandines PGE₂ et PF2_{alpha} est plus tardive [184]. Les cytokines inflammatoires, dont la concentration augmente, stimulent l'activité d'enzymes protéolytiques, la production de prostaglandines et de monoxyde d'azote. D'autre part, elles modulent aussi la stéroïdogénèse et interviennent dans la maturation du complexe ovocyte-cumulus.

Tableau 4.1: Récapitulatif des modifications intervenant dans le follicule au moment de l'ovulation [184].

	Premières heures après le pic de LH	Heures après le pic de LH jusqu'à la rupture du follicule
Premiers événements	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Formation d'AMPc puis Angiotensine II. ✚ Activation de la PKC, synthèse IP3. ✚ Augmentation de Ca²⁺ intracellulaire 	
Activation d'enzymes	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Kallikréine en bradykinine ✚ Activateur du plasminogène en plasmine ✚ Transformation de plasmine en procollagenase puis en collagénase ✚ Activation de la P450scc (coupure de la chaîne latérale de cholestérol) 	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Prostaglandine synthase ✚ A l'apex la plasmine libère le TNFalpha actif ✚ Protéases
Réaction inflammatoire	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Bradykinine ✚ Histamine ✚ IL1β, IL6, PAF 	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Augmentation des Prostaglandines. ✚ Libération du TNF alpha. ✚ Arrêt de la réaction Inflammatoire due à Inhibition de l'IL1β
Stéroïdes	Tous les stéroïdes diminuent puis seule la progestérone continue de s'élever	

Abréviations utilisées : AMPc: adenosine monophosphate cyclique ; IL : interleukine ; IP3 :inositol ; NO : oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ; PAF : facteur d'activation plaquettaire ; PKC : proteine kinase C. TNF :tumor necrosis factor ; VEGF : vascular endothelial growth factor.

4.5 Cascades d'événements développés par le pic de LH en fin de phase folliculaire

La fixation de la LH sur ses récepteurs présents à la surface de la *granulosa* et des thèques provoque la régulation de l'expression de plusieurs gènes qui transmettent le signal aux cellules du cumulus et à l'ovocyte. Les taux intracellulaires d'Adénosine MonoPhosphate cyclique (AMPC) et d'inositol phosphate augmentent dans les cellules de la *granulosa*. La Protéine Kinase, AMPC dépendante (PRKAC) ainsi activée induit une cascade de phosphorylation et d'activation de facteurs de transcription (CREB1, SP1) qui vont inhiber ou activer l'expression des gènes cibles (CYP19A1 ou aromatasase / P450Aro, CYP17A1 ou STAR, CYP11A1, HSD3B2). Ces changements se traduisent par une importante modification du profil de sécrétion des stéroïdes: les taux sériques d'œstrogènes et d'androgènes diminuent alors que le taux de progestérone augmente fortement, figure 4.5, [105]. Ces changements sont détectables très rapidement au niveau sanguin, car la thèque devient œdémateuse et hyperhémique, augmentant ainsi le flux sanguin du follicule pré ovulatoire. Simultanément, les cellules de la *granulosa* perdent leurs récepteurs de FSH, tandis que l'expression des récepteurs de LH diminue de façon transitoire pour augmenter à nouveau par la suite.

4.6 Rôle des gonadotropines et de l'angiotensine II dans la reprise de la méiose et ovulation

Par ailleurs, le système rénine-angiotensine est présent dans l'ovaire : le gène de la rénine s'exprime dans les cellules de la *thèque interne* des follicules susceptibles d'ovuler. Le niveau d'angiotensine II s'élève rapidement après le pic de LH et ce facteur peut être considéré comme un autre second médiateur des gonadotropines dans les follicules en parallèle de l'AMPC (Figure 4.6) [184].

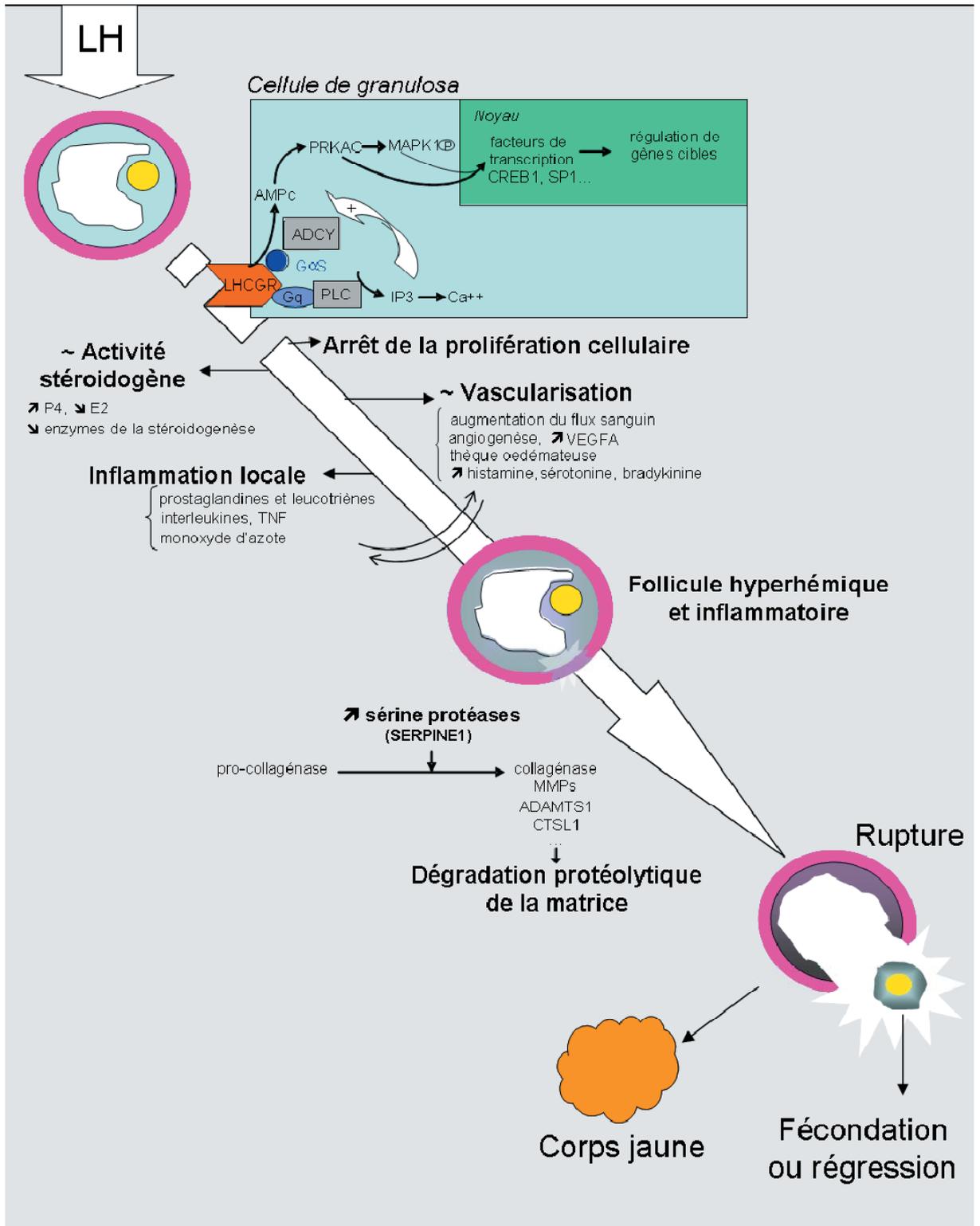


Figure 4.5: Cascade d'événements développés par le pic de LH en fin de phase folliculaire et conduisant à l'ovulation des follicules pré ovulatoires [105].

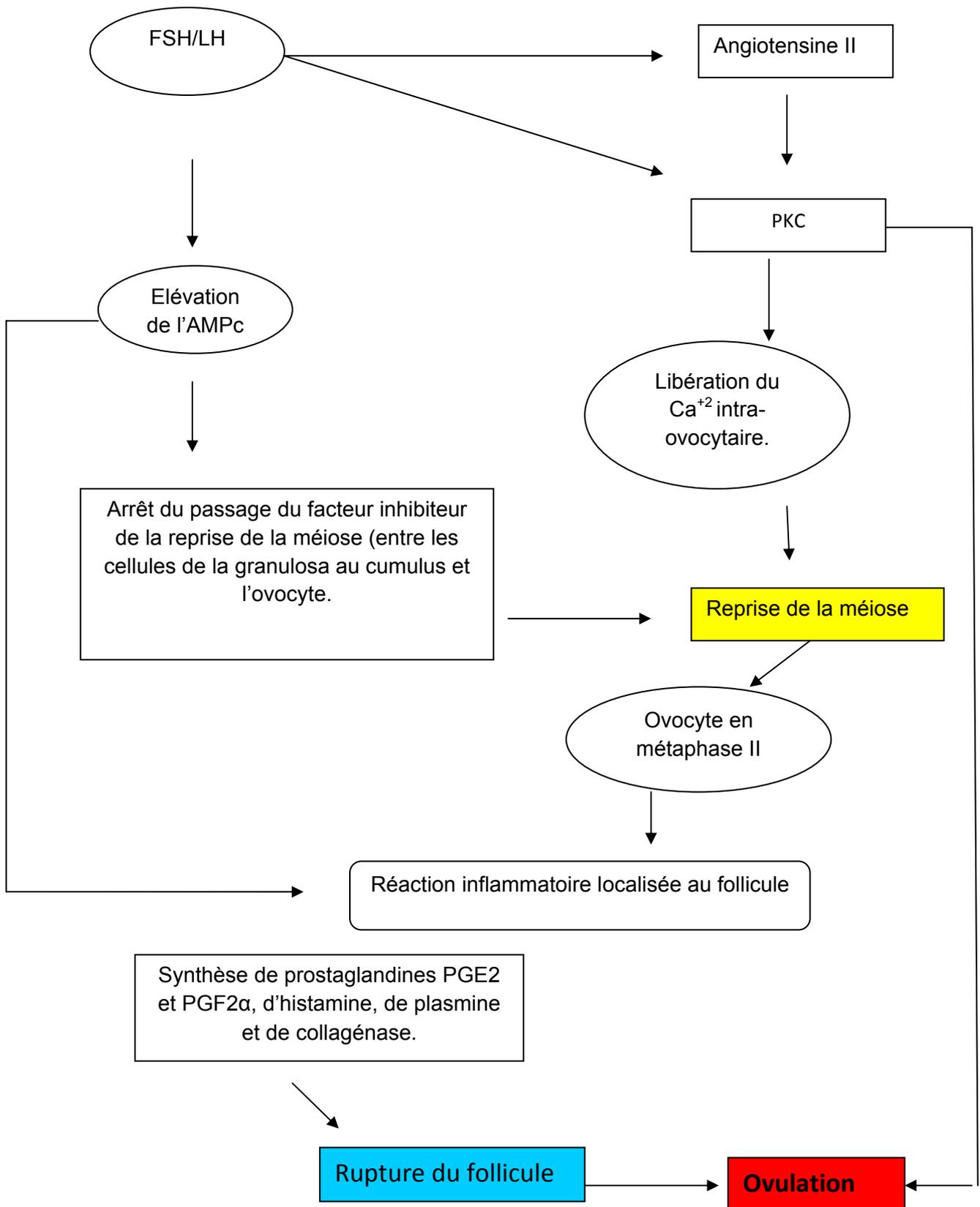


Figure 4.6: Rôle des gonadotropines et de l'angiotensine II dans la reprise de la méiose et l'ovulation [184].

4.7 Moment de l'ovulation

De nombreux travaux souvent anciens ont été publiés sur le moment de l'ovulation chez la lapine [22; 378 ; 381]. On peut toutefois retenir les investigations de Harper, 1961 [334] qui démontre que l'ovulation survient en moyenne entre 10 heures 30 minutes et 10 heures 45 minutes après injection de LH mais confirme cependant la variabilité enregistrée par d'autres chercheurs, (entre 9 heures 30 minutes et 14 heures après le coït). D'après cet auteur, l'ovulation survient chez la lapine au même moment, qu'elle soit induite par le coït ou par une injection de LH.

4.8 Méthodes d'induction de l'ovulation chez la lapine

L'utilisation de l'insémination artificielle chez le lapin dans les élevages est devenue une pratique commune dans les pays Européens. En conséquence, beaucoup de changements dans les opérations d'aménagement des fermes ont été introduits. En général, ces changements ont contribué à l'amélioration du style de vie de l'éleveur et à l'augmentation de la production. Cependant, le système d'aménagement actuel, pourrait être amélioré davantage par exemple par la réduction d'administration de substances exogènes, ou par la simplification de l'utilisation de ces substances qui, pour le moment ne peuvent pas être exclues si l'IA va être utilisée. Tel est le cas de la GnRH qui est nécessaire pour l'induction de l'ovulation.

Depuis vingt ans, les premiers essais avec la GnRH ou bien ses analogues synthétiques ont été appliqués pour l'induction de l'ovulation chez la lapine. L'IA a ainsi connu un intérêt croissant et a été progressivement incorporé dans l'industrie du lapin et actuellement, elle est largement utilisée. Les méthodes d'induction les plus utilisées sont l'injection intramusculaire de GnRH ou bien ses analogues synthétiques busereline et gonadoreline [382 ; 216]. Les facteurs hypothalamiques de synthèse associés à l'insémination artificielle n'améliorent pas significativement la fréquence d'ovulation et la fertilité chez les femelles réceptives. Par contre, ils améliorent significativement ces deux caractères chez les femelles non réceptives. Chez ces dernières, la fréquence d'ovulation est plus élevée avec le receptal (0,8µg de busereline) qu'avec le Fertagyl (20 µg de gonadoreline). Rodriguez et Ubilla, 1988 [382] ont mis en évidence sur des lapines nullipares, des défauts

d'ovulation suite à l'injection de Fertagyl significativement plus élevés chez les lapines non réceptives (38% contre 94% chez les réceptives). Les écarts que Theau Clément et *al*, 1990 [216] ont obtenu avec cette même molécule (Fertagyl) sont 72.5% pour les non réceptives et 92.6% pour les réceptives. Il apparaît que le traitement hormonal associé à l'insémination artificielle améliore significativement par rapport à la saillie naturelle: la fréquence d'ovulation et la fertilité. L'ovulation étant déclenchée par l'accouplement, il est possible d'induire l'ovulation des lapines directement par saillie non fécondante avec un mâle vasectomisé [383]

Actuellement, le déclenchement de l'ovulation est généralement effectué juste après l'IA par injection de GnRH (i.m.), de LH (i.v.), d'hCG (i.v.) ou par une combinaison de ces méthodes. Quelques études ont porté sur la relation entre les différents traitements utilisés pour l'induction de l'ovulation et les taux de collecte ainsi que les taux de survie *in vivo* ou *in vitro* [384]. Viudes de Castro et *al*, 1995 et Mehaisen et *al*, 2005 [385 ; 386], ont pu mettre en évidence que l'utilisation d'hCG tend à augmenter le taux d'ovulation même si l'effet sur le taux de collecte d'embryons normaux n'est pas significatif, confortant les résultats obtenus par Garcia-Ximenez et Vicente, 1992 [384].

Il a été démontré que la GnRH ajoutée à la semence et introduite par voie intra vaginale, peut donner les mêmes résultats que celle par voie intramusculaire. C'est une méthode facile pour l'éleveur [387]. En effet, ces auteurs ont montré que l'ovulation chez la lapine pouvait être induite par administration de 16 µg de busérelina (analogue de GnRH) par femelle directement dans la dose de semence utilisée pour l'insémination artificielle. Cette technique a l'avantage de s'affranchir de l'injection intramusculaire de GnRH sans aucune répercussion sur les taux de mises bas (respectivement 91,7 % vs 87,5 %) et avec une meilleure prolificité (11,7 vs 9,4). Cependant, l'ovulation provoquée avec cette technique se déroule de manière plus précoce (60 vs 90 min post IA). Les mêmes auteurs Quintela et *al*, 2008 [388] ont également testé l'efficacité de 25 µg d'un analogue de GnRH des-Gly10, D-Ala6 -LHRH éthylamide ajouté directement à la semence contre l'injection intramusculaire de 20 µg de Gonadoréline (GnRH). L'addition de l'analogue de GnRH dans la semence conduit à une fertilité supérieure (91,1 vs 85,6% pour le lot témoin). Les auteurs recommandent donc d'induire l'ovulation par l'administration directe de 25 µg d'un analogue de GnRH dans la semence,

afin d'améliorer le bien-être des lapines et le coût de production. Ce traitement paraît plus efficace que la gonadoréline par voie intramusculaire pour l'induction de l'ovulation. Une expérience similaire a été menée par Viudes de Castro et *al*, 2007 [389] qui testaient deux types d'analogues de GnRH et obtenaient des résultats similaires à la méthode conventionnelle en utilisant 5 µg de triptoréline par femelle.

Ondruska et *al*, 2008 [390] ont testé un "superanalogue" de GnRH-Lecirelinum (Supergestran) administré à des doses variant de 2,5 à 15,0 µg, en comparaison avec l'injection intramusculaire de 2,5 µg (lot témoin) de cette même molécule. La GnRH et la semence sont incubées à température ambiante pendant 30 minutes. Les auteurs ont conclu que l'administration dans la dose d'IA de 7,5 µg de GnRH-Lecirelinum permet de gagner 9,4% de fertilité par rapport au lot témoin. Nous préférons considérer que le dispositif expérimental ne permet pas de conclure sur la dose optimale de GnRH dans la semence, dans la mesure où le nombre d'inséminations pour chaque lot varie de 19 à 234, avec des doses d'insémination de 0,5 à 1,5 ml.

4.9 Atrésie folliculaire

La majorité des follicules sont voués à l'atrésie, soit 99.9 %, [391] puisque à peine 1% du nombre total de la population ovarienne y échappe et engendre une ovulation [392 ; 393]. L'atrésie se définit comme étant la régression du follicule jusqu'à sa disparition dans le stroma ovarien [148]. C'est le processus normal qui permet d'éliminer les cellules inutiles, qui ne se sont pas développées correctement et/ou sont endommagées [394]. Il y a deux sortes d'atrésie, la nécrose et l'apoptose, qui sont toutes les deux des formes de dégénérescence des cellules. En général, la mort cellulaire programmée, l'apoptose, est observée à n'importe quelle étape du développement folliculaire [395] sauf, que son appréciation histologique est plus difficile dans les follicules primordiaux [396].

Dans les follicules tertiaires cette forme d'atrésie est caractérisée en particulier par l'arrêt de la prolifération et la mort par apoptose des cellules de la *granulosa*, la fragmentation de la membrane basale qui sépare la *granulosa* des thèques folliculaires, la perte des jonctions perméables entre les cellules de la *granulosa* et la réduction de la vascularisation thécale. Chez le bovin, dans les

follicules primaires et secondaires, la dégénérescence peut commencer par l'ovocyte qui disparaît en premier, alors que dans les follicules plus gros, l'ovocyte bien que dégénéré, peut rester la dernière cellule identifiable [397]. Autre signe dans les follicules antraux en plus de la condensation des chromosomes, la membrane nucléaire se plisse, les cellules de *granulosa* pycnotiques se détachent de la membrane et flottent dans le liquide folliculaire [151]. Associé à l'atrésie, dans les follicules en croissance terminale elle s'accompagne aussi de la perte de l'expression et de l'activité de l'enzyme P450 aromatasase et de la sensibilité aux gonadotrophines FSH et LH des cellules de la *granulosa* conduisant à la chute du rapport œstrogènes/androgènes dans le liquide folliculaire [398]. La perte de l'activité s'étend ensuite aux cellules de la thèque, diminuant ainsi leur production d'androgènes et d'œstradiol. Il y a diminution de la synthèse d'œstradiol [399; 400] d'où diminution de sa concentration dans le liquide folliculaire.

Les follicules n'atteignant pas l'ovulation, subissent à l'issue de la sélection un phénomène qui les conduit à la mort : l'atrésie. Celle-ci débute par l'apoptose des cellules de la *granulosa* et de la thèque qui ne peuvent alors plus assurer la survie de l'ovocyte [401]. Le premier signe d'atrésie est la pycnose des noyaux des cellules de la *granulosa*. Chez la femme par exemple, l'atrésie d'un follicule de moins de 1mm de diamètre conduit à une disparition rapide de l'ovocyte, suivie d'une rétraction des cellules de la *granulosa* et enfin un épaississement des cellules de la thèque. En revanche, pour un follicule de diamètre supérieur à 1mm, l'atrésie débute par l'apparition de pycnose dans les cellules de la *granulosa*, une migration de l'ovocyte vers la périphérie puis une transformation de la *thèque interne* en glande interstitielle [402].

Chez la lapine, le taux d'atrésie est plus important dans les classes de follicules pré ovulatoires de petite taille ce qui peut signifier qu'ils sont plus sensibles à l'atrésie ou que leur croissance est freinée [403]. Hirshfield et Midgley, 1978 [404], notent chez la ratte que les follicules ayant un diamètre compris entre 200 et 400 μm (petits pré ovulatoires) ont un taux d'atrésie plus marqué qu'à d'autres stades de développement. La perte des récepteurs pourrait entraîner toutefois un ralentissement des sécrétions stéroïdiennes et un développement moindre de l'*antrum* [405]. Le taux d'atrésie le plus élevé des rates n'ovulant pas est certainement lié à la non décharge du pic de FSH [406].

Chez la lapine, Hulot et Mariana, 1985 [403] ont mis en évidence deux types de femelles, celles dont les ovaires ont une population de follicules de grande taille ne présentant pour la plupart aucun signe d'atrésie et des femelles présentant un taux d'atrésie voisin de 27%. L'absence d'atrésie et la plus grande taille des follicules, résultent d'un niveau de FSH circulant plus important, protégeant les follicules et accélérant simultanément leur croissance. Les follicules présentant plus de 10 cellules pycnotiques sont considérés comme atrésiques [129].

L'effet de l'alimentation sur l'atrésie folliculaire a été mis en évidence par Hulot et *al*, 1982 [129]. Le nombre de follicules atrésiques semble décroître pour les femelles nourries *ad libitum*, alors que cette diminution d'atrésie n'est pas nette chez les femelles rationnées [129]. Chez les femelles rationnées, le taux d'atrésie observé dans les follicules inférieurs à 407µm ne diffère pas de celui des lapines nourries *ad libitum*, mais il est supérieur dans les gros follicules.

4.10 Pseudogestation

Les ovules pondus peuvent ne pas se développer par déficience de fécondation (mâle trop jeune, mâle stérile mais sexuellement actif ou vasectomisé, qualité de la semence insuffisante voir mortalité embryonnaire précoce) ou par absence de fécondation (chevauchement entre femelles ou toute autre stimulation de l'ovulation sans dépôt de semence). Malgré cela, les follicules pré ovulatoires se transforment en quelques heures en corps jaunes progestatifs qui se maintiennent de 14 à 20 jours en activité. C'est le phénomène de pseudogestation, période pendant laquelle la lapine n'est pas fertile [407; 234 ; 65].

Durant cette période, les corps jaunes actifs au niveau de l'ovaire secrètent la progestérone qui aurait une action inhibitrice sur le développement folliculaire et la stéroïdogénèse [407 ; 408 ; 409]. De plus, un taux faible de progestérone altérerait le transport des gamètes et serait responsable de défauts de fécondation [410 ; 411]. En effet, Theau-Clément, 2000 [218] montre que des lapines pseudogestantes sont capables d'ovuler mais la fécondation est quasi totalement inhibée.

Au 6^{ème} jour de la pseudogestation, les corps jaunes deviennent dépendant des œstrogènes, apportés par les gros follicules présents dans l'ovaire, [412]. Ils commencent à régresser, au 12^{ème} jour de pseudogestation [413 ; 234 ; 235] puis disparaissent sous l'action de la prostaglandine F2 α (PGF2 α), facteur lutéolytique sécrété par l'utérus. Selon Rennie, 1968 [414], la destruction des gros follicules entraîne à la destruction immédiate des corps jaunes et à la fin de la pseudogestation. Dans des études très anciennes, Asami, 1920 [415] a démontré qu'il y'avait seulement un nombre faible de larges follicules à 2 jours *p.c*, alors qu'au 7^{ème} jour *p.c* plusieurs et larges follicules étaient évidents dans l'ovaire. L'apparition de nouveaux larges follicules reflète l'augmentation d'œstrogènes aux 4^{èmes} et 6^{èmes} jour après l'ovulation [416 ; 417].

Des dosages systématiques de progestérone, réalisés au moment de l'insémination (11 jours *p.p*), montrent que la fréquence des pseudogestations (concentration plasmatique > 1ng/ml) dépend de la parité des lapines (nullipares: 16% ; primipares: 32,5% ; multipares: 4-9%). La progesteronémie augmente durant les 12 premiers jours puis elle commence à régresser et disparaître entre le 15^{ème} et le 18^{ème} jour. La fin de la pseudogestation, est accompagnée de l'apparition d'un comportement maternel et de la construction d'un nid, lié à l'abaissement rapide du taux de progestérone. Afin de mettre fin à l'état pseudogestatif, une injection de PGF_{2 α} ou d'un analogue de synthèse, effectuée au 10-11^{ème} jour de la pseudogestation permet d'arrêter cette dernière et de féconder la lapine seulement 14 jours après une première insémination inféconde. Les corps jaunes deviennent progressivement sensibles aux facteurs lutéolytiques [238]. Boiti et *al*, 1998 [418], concluent que la grande majorité des corps jaunes peuvent être lysés dès le 9^{ème} jour de pseudogestation par injection de 200 μ g d'alfaprostol (analogue de PGF_{2 α}). La réceptivité de la lapine augmente à la fin de la pseudogestation (vulve blanche en début de pseudogestation (6-13jours), vulve rouge en fin de pseudogestation (18-21jours) [419].

CONCLUSION DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

A travers notre revue bibliographique, il ressort que sur le plan de la physiologie de la reproduction, la lapine présente des particularités qui ne simplifient pas sa maîtrise.

Il n'y a pas de cycle œstral mais des phases d'acceptation du mâle. La lapine est considérée comme une femelle en œstrus plus ou moins permanent. Il existe une alternance de périodes d'œstrus pendant lesquelles la lapine accepte l'accouplement et des périodes de dioestrus quand elle refuse.

La croissance folliculaire n'est pas encore parfaitement connue. Les travaux portant sur l'étude de la folliculogénèse, l'évolution de la population folliculaire et les vagues de la croissance folliculaire sont peu nombreux. Les follicules pré ovulatoires inhibent les plus petits follicules qui entrent en atrophie. Cette inhibition est levée par l'ovulation ou la dégénérescence de follicules pré ovulatoires lorsque l'ovulation n'a pas lieu.

La réceptivité sexuelle est considérée comme étant la première qualité nécessaire aux femelles pour la reproduction. Une lapine réceptive est une femelle qui accepte l'accouplement en cas de sa présentation au mâle. Les pics de réceptivité sexuelle de la lapine peuvent durer plusieurs jours avec une grande variabilité individuelle. La réceptivité est maximale après la mise bas. En insémination artificielle ou en saillie naturelle, les femelles réceptives ont un taux de fertilité et de prolificité supérieur à celui des femelles non réceptives. La réceptivité de la lapine peut être induite par les méthodes de biostimulation. La majeure partie des études sur cette espèce se consacre à l'évolution des profils hormonaux.

L'ovulation est induite par le coït qui agit comme un stimulus qui va entraîner une cascade neuroendocrine complexe aboutissant à la stimulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique à la décharge pré ovulatoire de LH et donc à l'ovulation 10 à 12 heures après l'accouplement. Les méthodes d'induction de l'ovulation les plus utilisées sont l'injection intramusculaire de GnRH ou bien ses analogues synthétiques Busereline et gonadoréline. Les facteurs

hypothalamiques de synthèse associés à l'insémination artificielle n'améliorent pas significativement la fréquence d'ovulation et la fertilité chez les femelles réceptives. Par contre, ils améliorent significativement ces deux caractères chez les femelles non réceptives. Chez ces dernières, la fréquence d'ovulation est plus élevée avec le Receptal (0,8µg de buseréline) qu'avec le Fertagyl (20µg de gonadoréline).

CHAPITRE 5

PARTIE EXPERIMENTALE

Problématique :

Parmi les facteurs limitants la fertilité de la lapine, énoncés dans la bibliographie, la réceptivité nous semble un critère primordial à étudier afin de répondre à la fois, à l'aspect technique et économique.

Avant d'aborder ce travail, il nous a semblé important de mesurer le comportement de la lapine locale vis-à-vis du mâle qualifiée de réceptivité dans nos élevages.

Pour cela, la première partie de notre travail consistait à mener une enquête dans les élevages de la région de la Mitidja.

Notre deuxième préoccupation était d'étudier le comportement de la lapine locale à la mise bas et l'involution utérine chez cette dernière sans tenir compte de la réceptivité.

La deuxième expérience s'intéressera à l'étude du comportement de la lapine locale vis-à-vis du mâle ou réceptivité, à travers l'étude de la cinétique folliculaire au cours de l'ovulation.

Enfin notre troisième expérience, a pour objectif de vérifier si la réceptivité ou non des femelles est liée aux caractéristiques morphométriques des ovaires et des cornes utérines d'une part et aux facteurs hormonaux d'autre part.

1^{ère} Partie pratique

5.1. Enquête sur le mode d'élevage du lapin local traditionnel élevé dans des régions de la Mitidja.

5.1-1 Objectifs

L'objectif de notre étude a été d'étudier les performances de production de 83 élevages de lapin traditionnels couvrant les zones: Alger (Baba Ali, Birtouta), Tipaza (Koléa, Bousmail, Meselmoune, Gouraya, Cherchell), Blida (Boufarik, El Affroun, Mouzaia), Ain Defla, Médéa et Chlef) pour une meilleure connaissance de ce secteur d'élevage et des contraintes majeures freinant son développement.

5.1-2 Matériel et Méthodes

5.1-2-1 Présentation de la région d'étude et du nombre d'élevages cynicoles étudiés

L'étude a été menée au niveau de la région de la Mitidja, située au centre du Nord de l'Algérie. Au total, nous avons visité 83 élevages cynicoles répartis sur 5 départements : Ain Defla et Médéa (n=17), Alger (n=19), Blida (n=17), Chlef (n=16) et Tipaza (14). Le sondage a débuté en février 2008 et s'est achevé en juin 2010. Pour la réalisation de l'enquête, nous avons effectué plusieurs sorties dans les élevages considérés.

5.1-2-2 Approche méthodologique

La méthodologie repose sur une fiche d'enquête (voir appendice B) conçue et adaptée aux conditions locales afin de connaître les caractéristiques des élevages à enquêter notamment :

- Les informations sur l'éleveur.

- La conduite et la productivité des élevages cunicoles.
- L'habitat, le matériel d'élevage et les conditions d'élevage.
- L'alimentation des lapins.
- L'hygiène et la santé au niveau des élevages.

La fiche d'enquête est structurée en six rubriques qui sont explicitées par des questions fermées à choix multiples, et questions ouvertes qui permettent à l'éleveur de choisir une réponse précise ou de donner librement son avis. Les six rubriques sont construites autour de :

- L'éleveur : cette rubrique nous permet de connaître le lieu d'activité, l'âge et le sexe des personnes qui s'occupent de l'élevage.
- La présentation de l'élevage : elle se résume en l'appréciation du type de logement et d'équipement utilisé en élevage.
- Les animaux : la répartition des animaux selon leur sexe et âge.
- L'alimentation et l'abreuvement: elle nous renseigne sur le type d'aliment et la fréquence d'utilisation de l'eau.
- La production : elle nous renseigne sur la conduite d'élevage et les différents paramètres liés à la reproduction (l'âge de la mise en reproduction, la conduite des saillies, la couleur de la vulve, la réceptivité).
- L'hygiène : cette dernière nous renseigne sur la fréquence de nettoyage de l'environnement des lapins.

5.1-3 Résultats et Discussion

5.1-3-1 Identification des éleveurs

La figure 5.1 décrit la répartition des éleveurs selon le sexe. Trois cas de prédominance des éleveurs ont été observés : les enfants dans la wilaya de Chlef

(50%) ; les hommes dans la wilaya de Blida (47,05 %) et pour les wilayas d'Alger, Ain Defla et Médéa, Tipaza, ce sont les femmes, qui prédominent la communauté d'éleveurs (63,15%, 76,47%, 71,42%). Cette prédominance s'explique par le fait qu'en milieu rural, la femme est plus disponible pour s'occuper des petits élevages, notamment celui du lapin. Les mêmes observations ont été apportées par Berchiche et Lebas, 1994 et Djellal et *al*, 2006 [96 ; 36] dans la région de Tizi Ouzou. Cependant, au Maroc, le responsable de l'élevage c'est plutôt l'homme dans 61% des cas suivi de la femme avec 27,5% [420]. Les résultats sont similaires dans les élevages grecs où le père de famille représente 54,3% des cas et la femme 30% [421].

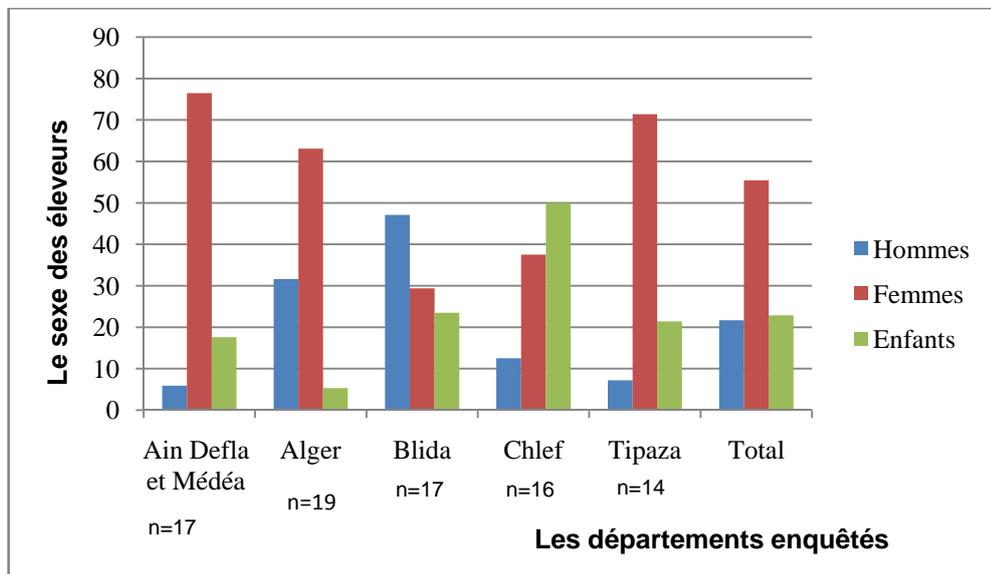


Figure 5.1 : Répartition des éleveurs selon leur sexe (n=83)

5.1-3-2 Identification des élevages

En observant la figure 5.2, on peut conclure que le nombre de lapines reproductrices par élevage est important pour la catégorie entre 1 à 4 femelles, l'exception a été observée dans la wilaya de Tipaza où la taille des élevages a été estimée à 28,56 %. Pour la catégorie 5 à 8 mères, elle a été estimée entre 30 et 40 % pour toutes les wilayas à l'exception de Blida (17,64 %). Les grands élevages (plus de 9 femelles) prédominent dans la wilaya d'Alger (21,11 %) ; ce nombre est infime pour les autres wilayas voir absent dans la région de Ain Defla

et Médéa. Dans la région de Tizi Ouzou, l'unité de 1 à 4 femelles constitue la taille moyenne d'un élevage et représente (80,5%), par contre, celle de 5 à 8 est moins fréquente et représente 17% [36]. Cet état est similaire à ceux observés dans les élevages traditionnels notamment Cubains [422] et Polonais [423]. Cependant, selon Berchiche et Lebas, 1994 [96], la plupart des élevages comptent 5 à 10 femelles. En général, nos résultats sont similaires à ceux observés dans les autres pays du Maghreb [68 ; 424].

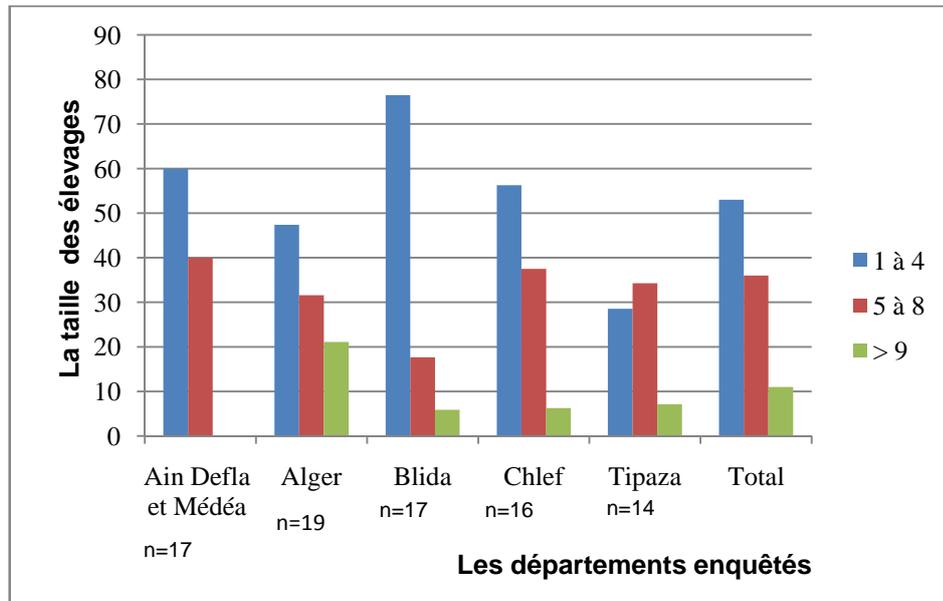


Figure 5.2: Taille des élevages selon le nombre des lapines reproductrices (n=83).

5.1-3-3 Répartition des élevages selon le nombre de lapereaux en engraissement

La distribution des élevages selon le nombre des petits au moment de l'enquête est mentionnée dans la figure 5.3. Une prédominance des élevages avec plus de 20 lapereaux a été enregistrée (avec un pourcentage variant entre 47,38 et 50 %) à travers toute la région de l'enquête, à l'exception de la wilaya de Blida où on observe une équivalence en matière du nombre de lapereaux entre la catégorie supérieure à 20 et entre celle de 11 à 20 lapereaux. Cette dernière est faiblement représentée à Alger (10,52%). Il n'y a pas une différence remarquable

pour la catégorie 6 à 10 lapereaux (21,42 % et 29,41%), une exception de 42,10 % à Alger. Pour Djellal et al, 2006 [36] la classe la plus importante est celle de 6 à 10 (38%), ensuite vient celle de 11 à 15 lapereaux (20%).

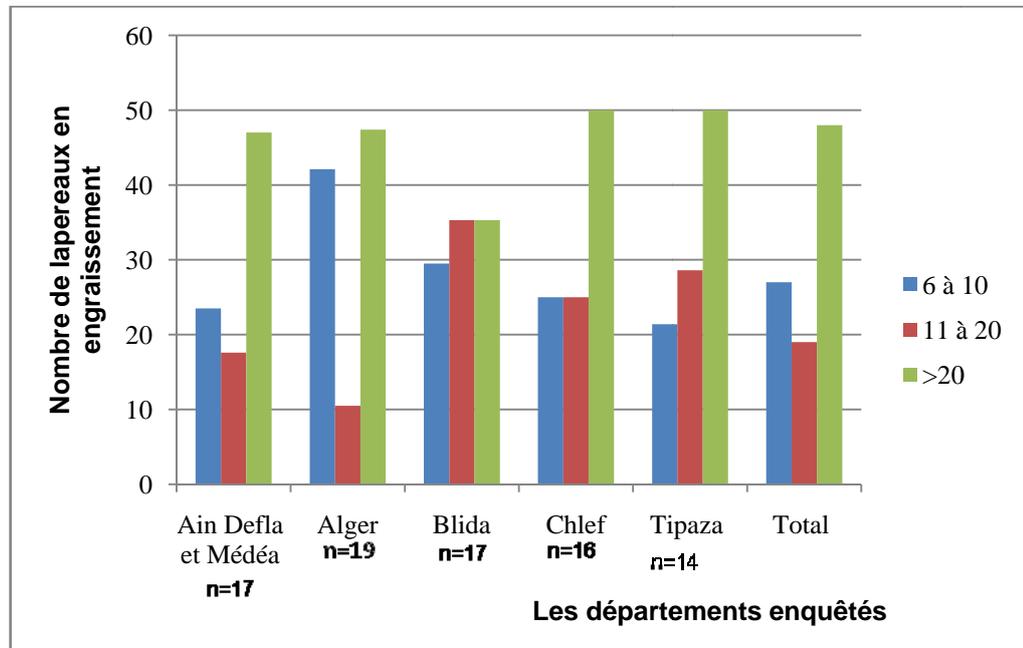


Figure 5.3: Distribution des élevages selon le nombre de lapereaux en engraissement par élevage (n=83).

5.1-3-4 Différents modes d'habitat

D'après les données de la figure 5.4 qui nous renseigne sur les différents modes d'habitat, une prédominance des vieux locaux a été enregistrée dans les wilayas de Chlef (68,75 %), Ain Defla et Médéa (76,47), ainsi que la wilaya de Tipaza (71,42). Par contre, les bâtiments en parpaing prédominent les wilayas d'Alger (47,36 %) et Blida (58 %) (figures 5.5 et 5.6). Aussi, l'utilisation des fûts métalliques (figures 5.7, 5.8) par les éleveurs pour la protection des lapins est plus fréquente dans les régions de Blida (17%). Au Maroc, 56,8% de bâtiments sont construits en dur, 42% en terre battue et 1,1% en tôle ou serres en plastique [420]. En Tunisie, les éleveurs conscients de la sensibilité du lapin aux fortes chaleurs estivales, optent pour un bâtiment entièrement en maçonnerie avec un

toit en voute permettant une bonne isolation ainsi qu'une bonne circulation de l'air à l'intérieur du bâtiment [425]. Le pourcentage d'utilisation des fûts métalliques ne dépassent pas les 17% pour toutes les wilayas. Les mêmes observations ont été apportées par Djellal et *al*, 2006 [36] où des caisses et des fûts sont utilisés et représentent seulement 7%.

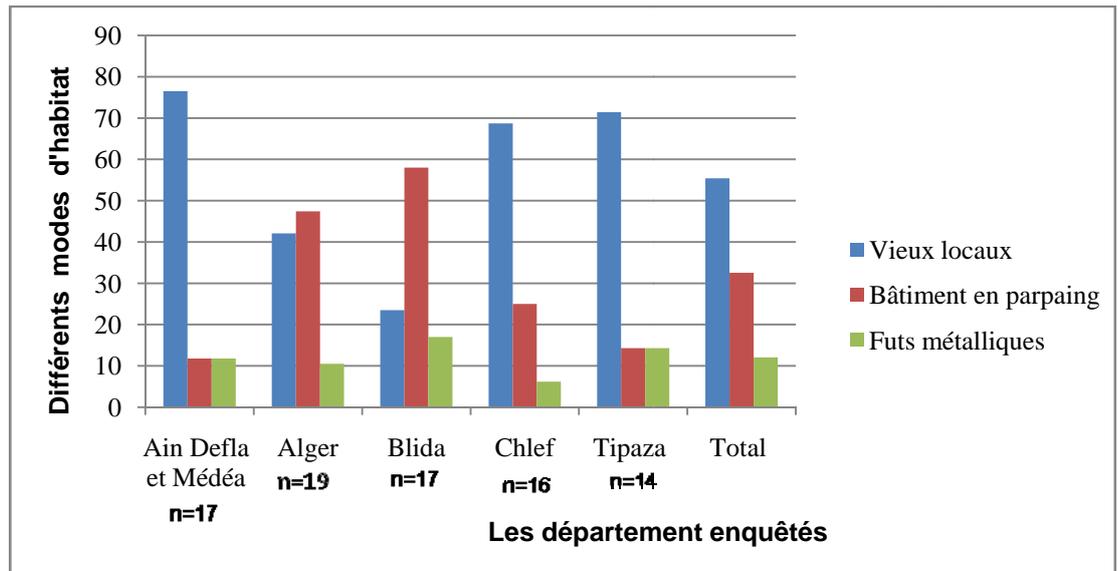


Figure 5.4: Différents modes d'habitat (n=83).



Figure 5.5: Cabane en parpaing.région Alger



Figure 5.6: Cabane en bois région de Blida



Figure 5.7: Fût métallique abritant une femelle avec ses petits dans la région de Tipaza



Figure 5.8: Lapin de population locale à l'intérieur d'un fut métallique dans la région d'AinDefla

5.1-3-5 Différents modes d'élevages

La figure 5.9. nous renseigne sur les différents modes d'élevages et les différents types de cages (les figures 5.10, 5.11, 5.12, 5.13, 5.14 représentent les différents élevages en cages en bois dans les régions visitées). On remarque que l'élevage au sol bétonné (figure 5.15) ou en terre battue, où les femelles ont tendance à creuser des trous (figure 5.16) de terriers pour construire à l'abri des prédateurs leur nid est pratiqué en abondance dans toutes les wilayas (entre 29,41 et 37,49 %), à l'exception de la wilaya de Blida (23,52%) où l'élevage en cage en bois est le plus utilisé (35,29%), ce dernier type d'élevage est pratiqué par les éleveurs de toute la région d'étude, sauf à Tipaza où il représente 21,42%. Les cages grillagées sont présentes pratiquement dans tous les élevages visités, mais une proportion réduite a été observée à Chlef (18,75 %). Les autres modes d'élevages (figures 5.17, 5.18, 5.19, 5.20) (caisson de réfrigérateur, de légumes, de vieux meubles de cuisine), sont présents avec des proportions faibles (ne dépassant en aucun cas 14,28 %).

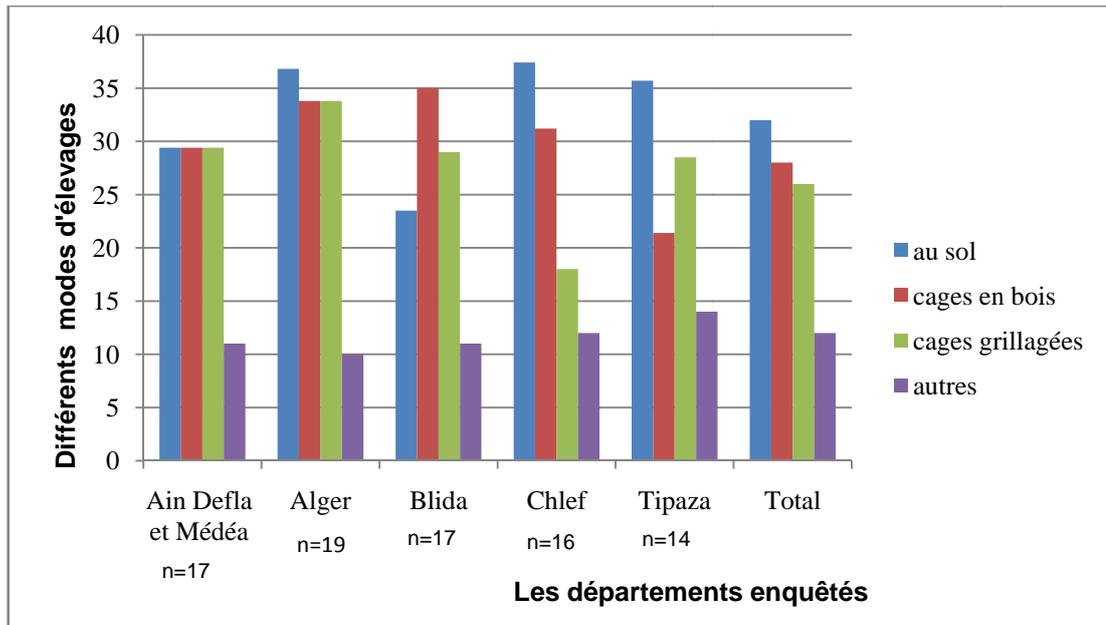


Figure 5.9: Modes d'élevages (n=83)

Ces observations correspondent aux résultats obtenus dans les élevages de la région de Tizi Ouzou [36], et Polonais [423] où les cages sont faits maison à partir d'une variété de matériaux disponibles sur place en imitation aux cages industrielles, le plus souvent en bois, en grillage métallique, ou en maçonnerie à 2 à 3 rangées de parpaings [425]. De plus, ces observations correspondent à celles rapportées sur l'élevage de lapins au Bénin par Kpodekon et *al*, 2000 [426]. Nos résultats sur l'élevage au sol correspondent avec ceux relevés par Berchiche et Lebas, 1994 [96] où 31,5% des lapins sont élevés au sol et 46,7% en cages. Au Maroc, l'élevage au sol représente 86,9% dont 42% dans un bâtiment et 58% sous le niveau du sol dans des puits ou des matmouras [420]. L'élevage en cages grillagées est peu répandu. Il représente uniquement 10,1% des élevages.



Figure 5.10: Cage maçonnerie traditionnelle Région de Blida.



Figure 5.11: Clapier en pierre et grillage. Région Tipaza



Figure 5.14: cages artisanales. Région Ain Defla



Figure 5.12: Cage métallique dans la région de Chlef.



Figure.5.13: Clapier mural en bois, région de Blida



Figure 5.15: Lapins de population locale en colonie au sol. Alimentation dans des bassines en plastique. L'usage de petites bassines pour mettre l'aliment limite les pertes mais n'empêche pas les lapins de monter dedans. Région de Chlef.



Figure 5.16: Lapine avec son petit en élevage au sol. On peut voir à droite l'entrée d'un abri (flèche) creusé par les lapins sous un mur. Région d'Ain Defla.



Figure 5.17: Lapins de population locale à l'intérieur d'un caisson de réfrigérateur contenant de l'eau et de la nourriture dans la région d'Alger.



Figure 5.18: Lapine de population locale avec sa portée à l'intérieur d'un caisson. Région d'Alger.



Figure 5.19: L'usage d'une caisse de légumes en plastique pour l'engraissement des petits lapereaux. Région Tipaza



Figure 5.20: Meuble de cuisine grillagé. Région d'Ain Defla.

5.1-3-6 Age de la mise à la reproduction

Selon les données du tableau 5.1, une fluctuation dans l'âge de la première mise des femelles à la reproduction a été observée. L'âge de 4 mois prédomine dans les wilayas d'Alger et Tipaza (47,37 et 50 %) respectivement, l'âge de 5 mois est dominant dans les wilayas de Blida (47,05 %), Ain Defla et Médéa (41,17 %), ainsi que la wilaya de Chlef où une égalité de proportion a été observée avec l'âge de 6 mois (37,50%). Djellal et al, 2006 [36], ont montré que 61% des femelles sont mises à la reproduction tardivement, ils avancent un âge de 5 mois et demi et plus. Les résultats obtenus par Jaouzi et al, 2006 [420] montrent que dans 61,2% des cas, les femelles sont mises à la reproduction au-delà de 4 mois, 44% entre 4 et 5 mois et 17,2% au-delà. Au Benin et en Tunisie, Kpodekon, 1987 et Ben Larbi et al, 2008 [427; 428] estiment cet âge à 6 mois. Au Liban, [429] la mise à la reproduction des femelles est évaluée à 6 mois. Selon Berchiche et Lebas, 1994 [96], ce retard de mise à la reproduction pourrait être explicité par le fait que les jeunes femelles ont une croissance lente. Les données correspondent aux différents âges de la mise des mâles à la reproduction. Une variabilité accrue entre les wilayas a été signalée. L'âge de 4 mois est beaucoup plus observé dans la wilaya d'Alger (63,15 %), l'âge de 5 mois est dominant dans les wilayas de Chlef (43,75 %) et Tipaza (57,14 %). Par contre l'âge de 6 mois prédomine les wilayas de Blida (41,17 %), Ain Defla et Médéa (58,32 %). Une absence des

mâles mis à la reproduction à l'âge de 7 mois a été signalée à travers toutes les wilayas d'étude à l'exception de la wilaya de Blida où cet âge occupe le deuxième rang (avec 29,41 %).

Jaouzi et al, 2006 [420] ont montré que la mise à la reproduction des mâles est effectuée au delà de 4 mois dans 86% des élevages, 43% entre 4 et 5 mois, et 43% au-delà de 5 mois. Pour Ben Larbi et al, 2008 [428], elle est estimée entre 5 à 6 mois.

Tableau 5.1: L'âge de la mise à la reproduction (Nombre/Pourcentage) (n=83).

	Chlef (n=16)	Alger (n=19)	Ain Defla et Médéa (n=17)	Tipaza (n=14)	Blida (n=17)
Femelles					
4 mois	4/25,0	9/47,4	5/ 29,4	7/ 50,0	6/35,4
5 mois	6/37,5	8/42,1	7 / 41,2	6/ 42,9	8/47,1
6 mois	6/37,5	2/10,5	5/ 29,4	1/ 7,1	3/ 17,5
Mâles					
4 mois	5/31,2	12/63,1	2/ 11,8	3/ 21,4	3/17,6
5 mois	7/43,7	4/21,1	5/ 29,4	8/ 57,2	2/11,8
6 mois	4/25,0	3/15,8	10/ 58,8	3/ 21,4	7/41,2
7 mois	00	00	00	00	5/29,4

5.1-3-7 Nombre de mise bas

Le nombre de mise bas par an est indiqué dans le tableau 5.2. Le nombre de 5 et plus de 5 mises bas par an prédomine dans toutes les wilayas. Bien qu'un pourcentage variant entre 11,76 et 26,31 de 2 à 4 mises-bas par an a été observé dans tous les élevages de la région. Selon Christodouloupoulos et al, 2001 [421] en Grèce, l'enquête a relevé une moyenne de 7,7 mise bas par an, pour Jaouzi et al,

2006 [420] une moyenne de 6,67 mises bas par an et [36] enregistrent un nombre de mise bas par an allant de 3 à 6. Cependant, ces résultats ne concordent pas avec ceux de Berchiche et Lebas, 1994 [96] qui estiment ce nombre aux environs de 3.

Tableau 5.2: Nombre de mise bas par an (n=83).

	Chlef (n=16)	Alger (n=19)	Ain Defla et Médéa (n=17)	Tipaza (n=14)	Blida (n=17)	Total
Nombre de mise bas par an						
2 à 3 fois	4/25	3/15,78	2/11,76	2/14,28	3/17,64	14/16,86
4 fois	2/ 12,50	5/26,31	2/11,76	2/14,28	4/23,52	15/18,07
5 fois	6/ 37,50	6/31,57	7/41,17	6/42,85	4/23,52	29/34,52
>5 fois	4/ 25	5/26,31	6/35,29	4/28,57	6/ 35,29	25/30,12

5.1-3-8 Nombre de lapereaux nés par portée

La figure 5.21 indique le nombre de petits par portée ainsi que des portées dans leur nid (figures 5.22 et 5.23). On remarque que la dominance de taille 6 à 10 petits par portée est présente dans les six wilayas. La taille de 5 est plus importante à Chlef (31,25%). La taille de 11 à 13 petits est supérieure dans la wilaya d'Alger (31,57%) suivie de la wilaya de Blida (23,52%) et absente à Ain Defla et Médéa. La taille de 2 à 3 est légèrement supérieure à Tipaza (21,2 %) et Blida (17,6 %), encore moins à Ain Defla et Médéa (11,7%), néanmoins, elle est quasiment absente à Alger et Chlef. Cependant, on note une absence totale de 4 lapereaux nés par portée à travers toute la région d'étude. Selon Berchiche et Lebas, 1994 [96], cette fluctuation du nombre de lapereaux nés est plus importante, elle est de 2 à 10 petits. La grande hétérogénéité de la population locale semble être l'une des principales causes de la variation de taille de portée.

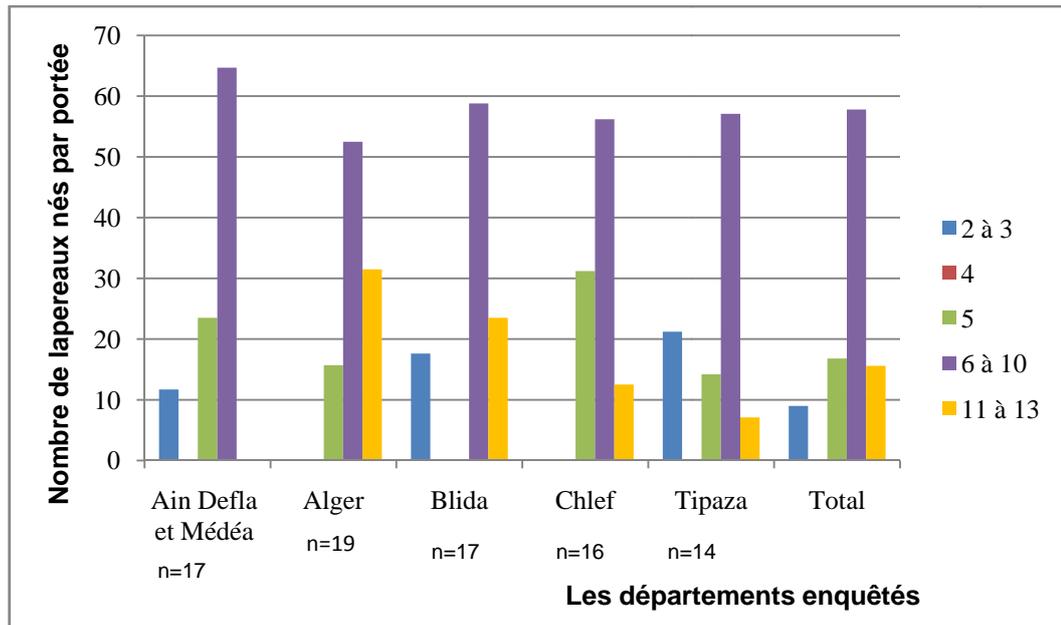


Figure 5.21: Nombre de petits par portée (n=83)



Figure 5.22: Lapereaux au nid.
Population locale région Ain Defla



Figure 5.23 : Lapereaux au nid.
Population locale. Région Tipaza

5.1-3-9 Intervalle mise bas-saillie

La figure 5.24, indique la durée des intervalles mise bas - saillie. La situation est pareille à travers toute la région d'étude, l'intervalle 31 - 45 jours supplante les autres (avec des pourcentages allant de 41,17 jusqu'à 57,89 %). Le nombre supérieur à 45 jours occupe la seconde position (21,05 à 29,41 %). A l'exception de la wilaya de Blida, où on observe une supériorité pour la catégorie

10 à 20 jours (17,64 %) relativement à la catégorie 21 à 30 jours (11,76 %), ces 2 dernières catégories ont présenté une égalité de pourcentages pour les autres wilayas d'études.

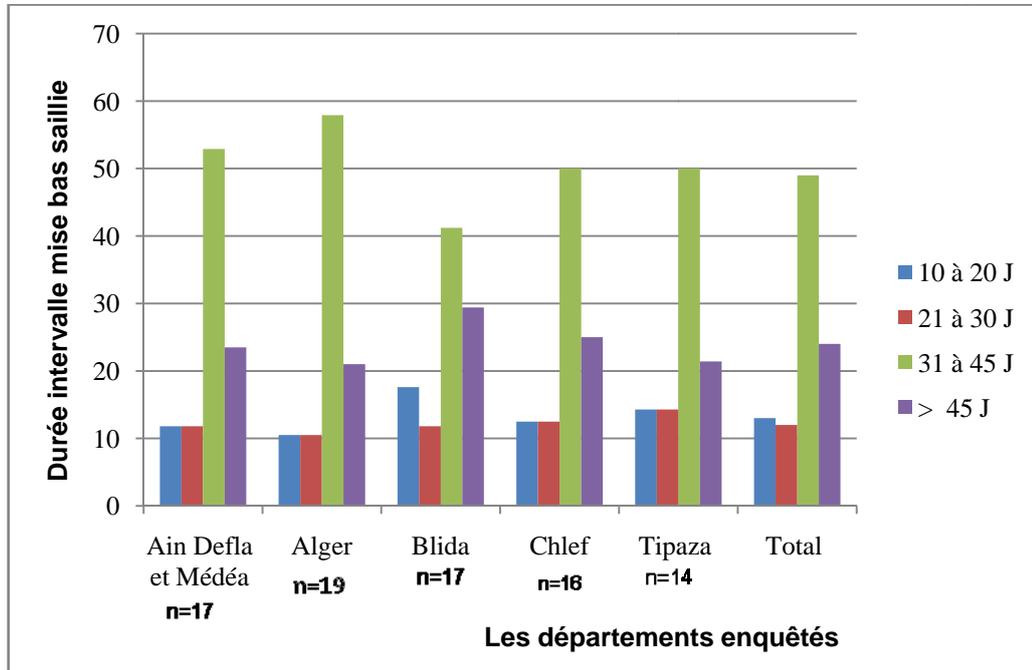


Figure 5.24: La durée de l'intervalle mise bas – saillie (n=83)

5.1-3-10 Durée d'allaitement

La figure 5.25 nous renseigne sur la durée d'allaitement, pour toutes les wilayas, une prédominance de la période 30 à 31 jours a été remarqué (entre 50 à 75 %). La durée d'allaitement de 40 à 45 jours est légèrement supérieure à Ain Defla (29,41 %) et Tipaza (21,43%) et encore, à égalité à Blida (11,76 %) et Chlef (12,50 %). Pour la catégorie supérieure à 45 jours, une infime supériorité est remarquée dans la région de Chlef (12,5 %). Quant à la durée d'allaitement de 21 jours, une légère supériorité est observée à Tipaza (21,43%) en contre partie, elle fait défaut à Chlef, Ain Defla et Médéa.

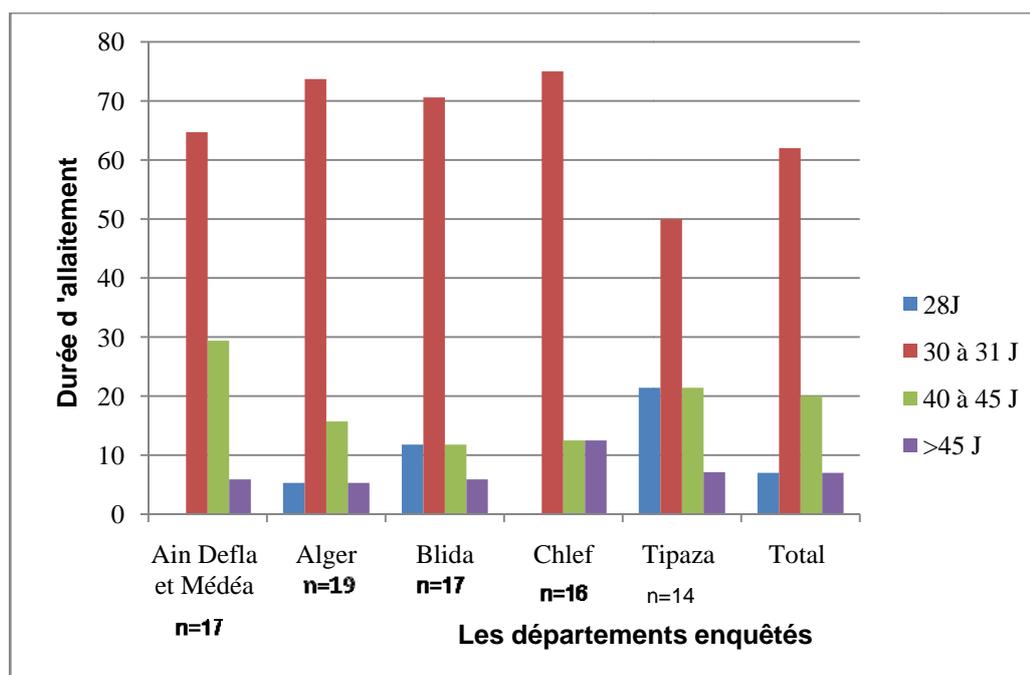


Figure 5.25: Durée d'allaitement (n=83).

5.1-3-11 Saison des mises-bas

D'après les données du tableau 5.3, qui indique les différentes saisons de mises bas, on peut conclure que la saison qui correspond au plus grand nombre de mise bas est le printemps (entre 64,28 à 100 %). En ce qui concerne les autres saisons, la situation est très variable où on note une absence totale d'observation pour certaines wilayas, tel que pour la wilaya de Blida en été et en automne, pour Ain Defla et Médéa en automne et hiver, et pour Chlef en automne. Nos résultats sont similaires de ceux rapportés par Djellal et *al*, 2006 [36], où les mises bas semblent être beaucoup plus fréquentes au printemps mais, malgré les fortes chaleurs d'été, certains éleveurs (11%) signalent des mises-bas dans cette période. Dans le cas où la saison influence l'élevage, l'été s'avère le plus pénalisant selon 68% des éleveurs, suivi de l'automne avec 23% des éleveurs et de l'hiver avec seulement 8% [420].

5.1-3-12 Distribution de la mortalité par saison

La mortalité par saison est mentionnée dans le tableau 5.3, elle sévit beaucoup plus en automne pour toutes les wilayas (entre 37,5 à 50 %). Ensuite,

c'est dans la saison d'été que surviennent la mortalité (entre 23,52 à 35,29 %), à l'exception de la wilaya d'Alger en hiver (21,05 %), vu la température élevée enregistrée en cette saison (plus de 40 °C). En effet, cette saison occupe le troisième rang en matière de mortalité au niveau des élevages pour le reste des wilayas. Par contre, Djellal et al, 2006 [36] ont montré qu'environ 46% des élevages indiquent une forte mortalité au printemps et 36% des élevages enquêtés signalent une mortalité élevée en été.

Tableau 5.3: Distribution des mises bas et de la mortalité selon la saison

	Chlef (n=16)	Alger (n=19)	Ain Defla et Médéa (n=17)	Tipaza (n=14)	Blida (n=17)
<i>La saison des mises bas</i>					
Printemps	16/100	18/94,73	17/100	9/64,28	14/100
Automne	/	6/31,57	/	1/7,14	/
Hiver	6/37,5	2/10,52	/	2/14,28	5/29,41
Été	2/12,5	4/21,05	5/29,41	2/14,28	/
<i>La mortalité par saison</i>					
Hiver	3 / 18,75	4 / 21,05	2 / 11,76	2 / 14,28	3 / 17,64
Printemps	2 / 12,5	3 / 15,79	1 / 5,88	1 / 7,14	2 / 11,76
Automne	6 / 37,5	9 / 47,36	8 / 47,05	7 / 50	8 / 47,05
Été	5 / 31,25	3 / 15,79	6 / 35,29	4 / 28,57	4 / 23,52

5.1-3-13 Fréquence de distribution de l'eau et de nettoyage des élevages

Les différentes fréquences de distribution de l'eau de boisson sont mentionnées dans le tableau 5.4. On remarque que la situation est presque pareille dans la région d'étude, la distribution de l'eau quotidiennement avoisine les 50 %. La distribution 1 fois / 2 jours est importante à Ain Defla (29,41 %) suivi de Chlef (25 %) et une similitude de fréquence de distribution d'eau a été

remarqué dans les autres wilayas. Pour une fréquence d'une fois par semaine, la différence entre les wilayas n'est pas importante, à l'exception de Tipaza (7,14%). La distribution seulement en été est prise en considération beaucoup plus par les éleveurs dans la région de Tipaza (21,42%) comparativement à la wilaya d'Alger où le pourcentage ne dépasse pas 5,26. Les moyens utilisés par les éleveurs tels que des bouteilles de boisson en plastique, ou bien d'autres récipients récupérés que ce soit en acier ou en plastique, ils risquent donc d'être souillés ou renversés privant les animaux d'eau. La qualité d'eau est altérée en raison du manque d'hygiène des récipients et de leur exposition au soleil (figures 5.26 et 5.27).

Selon les données du tableau 5.4, la fréquence de nettoyage des cages se fait pour la plupart des élevages une fois par semaine (avec un pourcentage de 47,05 à 64,28 % pour toutes les wilayas). Encore, pour un pourcentage non négligeable (entre 28,57 à 35,29 %) le nettoyage est appliqué une fois par mois. Uniquement dans la wilaya de Blida, le nettoyage se fait dans un délai de 1 à 4 jours (17,6 %). Certes, quelques éleveurs sont conscients des problèmes d'hygiène, qui peuvent engendrer des préjudices pour les lapins tels que les maladies digestives, respiratoires et locomoteurs en distribuant les aliments au sol, qui peuvent être mélangés avec les crottes et les urines de ces animaux (figures 5.28, 5.29). Cependant certains éleveurs négligent les problèmes d'hygiène, en déposant les aliments de leur lapin au sol, ou bien dans des récipients que le lapin peut souiller par ses crottes, ou uriner dedans.

On a trouvé durant notre enquête certains éleveurs qui utilisent le même bâtiment pour les lapins, ainsi que pour d'autres espèces, telles que les moutons (figure 5.30) et pigeons (figure 5.31) canard et poulet (figures 5.32, 5.33). Ce qui rend le nettoyage quotidien que nécessitent les lapins difficile. Ceci favorise la diffusion des germes d'une espèce à l'autre, et l'apparition de plusieurs maladies.

Tableau 5.4: La fréquence de distribution de l'eau et de nettoyage des élevages (n=83).

	Chlef (n=16)	Alger (n=19)	Ain Defla et Médéa (n=17)	Tipaza (n=14)	Blida (n=17)
La fréquence de distribution de l'eau					
Chaque jour	8/50	12/63,15	8/47,05	8/57,14	10/58,82
1 fois / 2jours	4/25	3/15,79	5/29,41	2/14,28	3/17,64
Une fois/semaine	2/12,5	3/15,79	2/11,76	1/7,14	2/11,76
Été seulement	2/12,5	1/5,26	2/11,76	3/21,42	2/11,76
Fréquence de nettoyage des élevages					
1- 4 jours	1/6, 25	2/10,52	2/11,8	1/7,14	3/ 17,64
1 fois /semaine	10/62,5	11/57,89	9/52,9	9/64,28	8/ 47,05
1 fois /mois	5/31,25	6/31,57	6/35,3	4/28,57	6 / 35,29



Figure 5.26: Distribution de l'eau dans des bouteilles en plastiques transformées en abreuvoirs et accrochées au grillage dans la région d'Alger.



Figure 5.27: L'abreuvement est assuré par de petites cuvettes trop faciles à renverser. Dans les cuvettes l'eau se pollue très facilement. Région de Blida.



Figure 5.28: Elevage à l'intérieur d'un meuble abandonné. L'usage d'un récipient pour nourriture n'empêche pas les lapins de monter et de le souiller avec les crottes. Région Tipaza.



Figure 5.29: Dans cet élevage, le pain est stocké à l'intérieur de fûts. Noter l'état moisi du pain (flèche). Région Ain Defla.



Figure 5.30: Dans cet élevage mouton et lapins se partagent le même repas composé de restes de cuisine région Tipaza



Figure 5.31: L'usage de cages pour l'élevage de poussins en cohabitation avec les lapins. Région Bliida.



Figure 5.32: Sur cette photo les lapins cohabitent avec les poules. Région Bliida.



Figure 5.33: sur cette photo les lapins cohabitent avec les canards dans la région de Médéa.

5.1-3-14 Différents aliments utilisés

Le tableau 5.5 indique les fréquences d'utilisation des différents aliments. Les herbes spontanées représentent les aliments les plus distribués à travers la région (le pourcentage varie de 52,94 pour atteindre 100 % à Chlef), à l'exception de la wilaya d'Alger où il représente l'aliment le moins distribué (7,4 %). Les restes de table distribués aux lapins de la wilaya de Blida sont de la même proportion que les herbes spontanées, ils sont encore distribués avec des pourcentages non négligeables variant de 29,41 jusqu'à 56,25 % pour les autres wilayas. Au niveau de la wilaya d'Alger, le pain sec représente l'aliment le plus distribué (84,21 %) (figures 5.34, 5.35). Ce dernier occupe le second rang dans la wilaya de Chlef et Blida. Pour les autres wilayas, c'est le son de blé. Enfin, ce sont les feuilles d'arbre, des carottes, (figures 5.36, 5.37) qui représentent le type d'aliment le moins distribué (les pourcentages ne dépassent pas 25 %) à l'exception de la wilaya de Blida. Beaucoup d'éleveurs utilisent un aliment fermier, comme le son, constat similaire avancé par Barkok, 1990 ; Berchiche et Lebas, 1994 ; Brzozowski et al, 1998 ; Christodoulopoulos et al, 2001; Jaouzi et al, 2006 ; Djellal et al, 2006 [424 ; 96 ; 423 ; 421 ; 420 ; 36]. Les végétaux et les restes de table constituent la principale source d'alimentation dans ce type d'élevage ce qui est commun à plusieurs contrées dans le monde [430]

Tableau 5.5: L'utilisation des différents aliments

Aliments	Chlef	Alger	Ain Defla, Médéa	Tipaza	Blida
Herbes spontanées	16 / 100	14 / 7,4	9 / 52,9	10 / 94,2	16 / 94,2
Restes de table	9 / 56,2	9 / 47,4	5 / 29,4	5 / 35,7	16 / 94,2
Son	6 / 37,5	15 / 78,9	6 / 35,3	7 / 50,0	9 / 52,9
Pain rassis	13 / 81,2	16 / 84,2	5 / 29,4	5 / 35,7	14 / 82,4
Feuilles d'arbre, carottes	4 / 25,0	3 / 15,8	1 / 5,9	1 / 7,1	14 / 82,4



Figure 5.34: Distribution de pain moulu à l'intérieur d'un récipient plat que les lapereaux ont gaspillé. Région de Chlef.



Figure 5.35: L'abreuvement est assuré par de petites cuvettes trop faciles à renverser. Dans les cuvettes l'eau se pollue très facilement. Région de Blida.



Figure 5.36: Distribution de carottes pour des lapereaux. Région d'Alger



Figure 5.37: Distribution de fourrage vert au sol dans la région de Chlef

Conclusion

Cette enquête a permis la caractérisation des élevages cynicoles traditionnels situés dans la région de Mitidja. Plusieurs aspects ont été identifiés : éleveur, élevages cynicoles (conduite et productivité), habitat, matériel d'élevage, alimentation et hygiène des animaux.

A la lumière des résultats obtenus à l'issue de cette étude, il en ressort que :

Dans la majorité des élevages cunicoles de la région de Mitidja, les femmes prédominent la communauté des éleveurs. Parallèlement, ces élevages se caractérisent par un nombre de femelles reproductrices faible (1 à 4 femelles / élevage) et un nombre de lapereaux supérieur à 20 par élevage. Ces résultats s'expliquent par le manque de moyens consenti à ce type d'élevage.

Une nette prédominance des vieux bâtiments et des bâtiments en parpaing avec soit des cages en bois (Alger), ou un élevage au sol bétonné ou en terre battue. Ces observations correspondent à celles rapportées par plusieurs auteurs dans plusieurs régions du monde notamment l'Afrique et l'Europe.

L'âge de la mise à la reproduction a varié entre 4 à 5 mois pour la majorité des élevages enquêtés, à l'exception des élevages de la wilaya de Chlef où quelques éleveurs préfèrent saillir leurs femelles tardivement (6 mois). Par ailleurs, le nombre de mise bas par an était de 5 dans la majorité des élevages et avec un nombre de lapereaux nés par portée qui est assez variable d'un élevage à un autre. Ce résultat pourrait être lié à la grande hétérogénéité de la population locale algérienne de lapin.

L'intervalle entre la saillie et la mise bas était de 31 à 45 jours avec une prédominance d'une période d'allaitement de 30 à 31 jours. La majorité des éleveurs ont constaté que les mises bas sont très fréquentes au printemps par rapport aux autres saisons. La mortalité des lapereaux est plus importante en automne et en été liée aux fortes températures enregistrées dans ces régions durant cette dernière saison.

La distribution de l'eau d'abreuvement se fait dans la majorité des élevages d'une manière quotidienne. Cependant, le nettoyage des élevages ne se fait qu'une seule fois par semaine pour la majorité des élevages, ce qui les prédisposent à l'apparition de plusieurs pathologies liées au manque d'hygiène.

Enfin, une grande diversité des aliments utilisés dans les élevages enquêtés a été notée. Les herbes spontanées, le reste de table et le pain sec sont les aliments les plus distribués.

Les résultats escomptés relatifs à la réceptivité (couleur de la vulve, acceptation ou refus du mâle) n'ont malheureusement pas été mesurés car ils ne

présentaient pas d'intérêt auprès des éleveurs. A travers les données de la littérature, Il est connu que le taux de non réceptivité dans les élevages de la lapine locale d'après les auteurs Moulla et Yakhlef, 2007 et Zerrouki et al, 2001 [74; 516] est de 11%, 20% respectivement.

A partir de ce constat, nous allons tenter d'apporter dans la deuxième partie expérimentale, des éclaircissements sur le comportement de la lapine locale.

Après une description de la méthodologie du travail (conduite d'élevage et présentation des conditions expérimentales), nous avons mené trois expériences qui portent sur :

- 1- Etude du comportement, et des changements anatomo- histologiques ovariens et utérins dans la phase *post partum* de lapines nullipares de population locale.
- 2- Etude de la cinétique folliculaire au cours de l'ovulation chez les lapines ayant accepté (réceptive) ou refusé l'accouplement (non réceptive) de population locale
- 3- Etude des caractéristiques morphométriques des ovaires et des cornes utérines ainsi que le dosage hormonal du 17β -œstradiol et la progestérone plasmatiques de 0 à 14h *post coitum* en fonction de la réceptivité des lapines locales.

2^{ème} Partie pratique

5.2 Présentation générale des conditions expérimentales de la deuxième partie

La deuxième partie expérimentale de ce travail se compose de trois expériences qui ont été réalisées au niveau du bâtiment cunicole de la station expérimentale de l'Université Saad Dahlab Blida. La première expérimentation avait pour objectif la description du comportement des lapines à la mise bas, et les changements anatomo-histologiques des ovaires et uteri au cours de la phase *post partum*. La seconde avait pour objectif, l'étude de la croissance folliculaire entre le moment de la saillie naturelle et le moment de l'ovulation, d'une part, chez des lapines réceptives au moment de la saillie et d'autre part, chez des lapines non-réceptives qui ont subi une saillie assistée. La troisième expérience est une étude comparative sur l'influence de la réceptivité et l'injection de la GnRH chez des lapines locales, sur les caractéristiques macroscopiques des ovaires et des cornes utérines, sur la quantification de la population folliculaire, sur les caractéristiques morphométriques des follicules antraux et l'évaluation de la sécrétion du 17β -œstradiol et de la progestérone plasmatique, de 0 à 14h suivant l'accouplement.

5.2-1 Animaux et conduite d'élevage

Toutes les femelles utilisées dans ces expérimentations, appartiennent à la population locale dont les robes sont très diversifiées figure 5.38. Dans l'expérience 1, les femelles ont été élevées à l'Institut Technique des Elevages (ITELV) de Baba Ali. Dans le but de suivre scrupuleusement, le comportement des femelles durant la mise bas, et de préciser le moment exact de la mise bas, les lapines gestantes, ont été transférées au niveau de la salle de maternité du clapier, de la station expérimentale de l'Université Saad Dahlab de BLIDA, et ont été placées dans des cages individuelles munies de boîte à nid. Dans les expériences 2 et 3, les lapines âgées de 1 mois, provenant d'élevages des régions enquêtées, sont placées dès leur arrivée au clapier, dans des cages

individuelles. Ainsi elles sont immédiatement traitées par une injection sous cutanée d'une solution antiparasitaire (ivermectine à 1%), un rappel se fait une semaine après, afin d'éviter et d'écartier toute éventuelle maladie parasitaire notamment la gale). Les expériences 2 et 3 ont été menées sur ces femelles lorsqu'elles atteignent l'âge de 4,5 à 5,5 mois.

Les mâles utilisés pour les saillies, au nombre de 10 appartiennent à la population locale. Ils sont utilisés pour les saillies à l'âge de 10 à 12 mois. Ils étaient élevés dans des cages individuelles grillagées. Ils sont utilisés pour saillir toutes les femelles avec un rythme de deux saillies par jour et un repos d'une journée entre deux saillies consécutives. Ils étaient de très bonne ardeur sexuelle (fertilité prouvée).

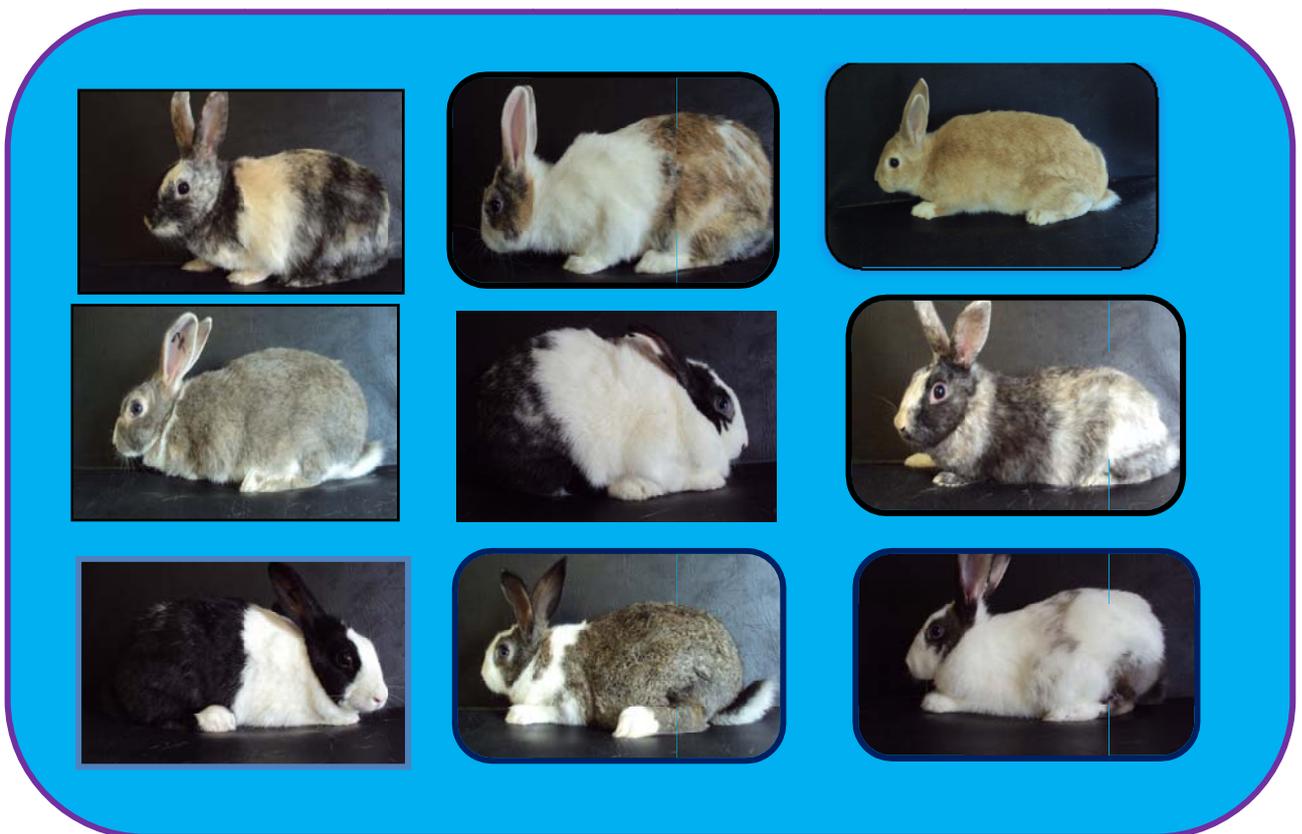


Figure. 5.38: Différents phénotypes de lapines population locale

5.2-2 Bâtiment et matériel d'élevage

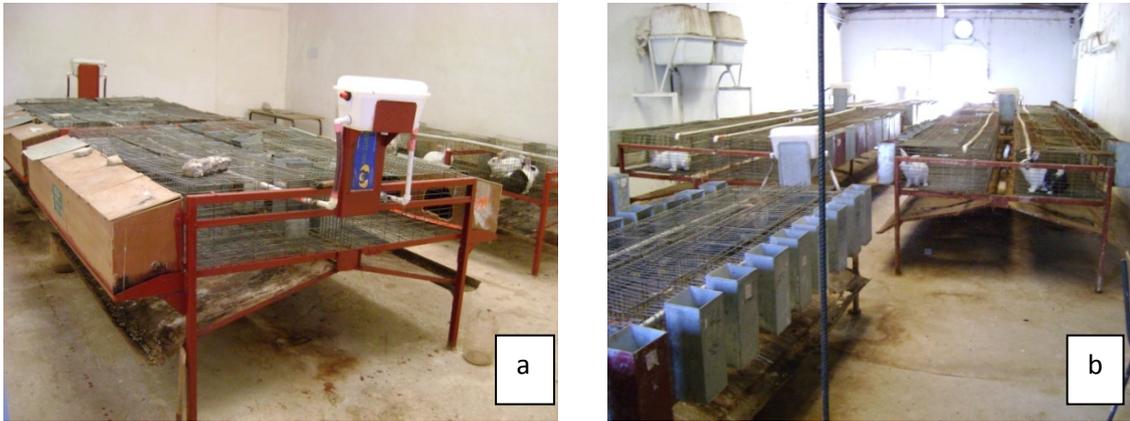
Le bâtiment (figure 5.39) est d'une superficie de 184 m², construit en dur et possédant une charpente de type métallique. Il est composé d'un couloir et de quatre salles : la première salle est réservée pour le stockage d'aliment, la deuxième est une maternité, alors que la troisième sert à l'engraissement des jeunes lapereaux, une quatrième salle est réservée pour les travaux expérimentaux. L'aération statique est assurée par des fenêtres. En plus des fenêtres, le clapier est éclairé à l'aide de quatre néons pour chaque salle. Durant l'expérimentation, les animaux ont été logés dans des batteries à engraissement à un seul étage. Chaque cage, conçue en grillage métallique, mesurant 70cm de longueur sur 40cm de largeur et 30cm de hauteur. Toutes les cages sont équipées d'une trémie d'alimentation. L'eau est distribuée par des abreuvoirs automatiques à tétines.



Figure 5.39: Le bâtiment d'élevage au niveau de la station expérimentale de l'Université Saad Dahla Blida

En maternité et en salle d'engraissement (figures 5.40 a et 5.41 b), toutes les cages sont équipées d'une trémie d'alimentation et d'une tétine pour l'abreuvement automatique. Une boîte à nid en bois est ajoutée 3 jours avant les

mises bas. Au dessous des cages, les déjections sont directement réceptionnées sur le sol en béton avec une légère pente permettant l'écoulement des urines. Le nettoyage est effectué 2 fois par semaine.



Figures 5.40 et 5.41: L'intérieur du clapier. Salle de maternité (a) et salle d'engraissement (b).

5.2-3 Alimentation

Les animaux étaient nourris *ad libitum*. L'alimentation comprenait un granulé spécial pour les lapins provenant de l'unité de fabrication de l'aliment de Bétail "CEREGAN". Il est composé de maïs, de tourteau de soja, de farine de luzerne déshydratée, de son de blé, d'orge et un complément minéral vitaminé (CMV), dont la composition centésimale des matières premières est :

- Luzerne : 44%
- Maïs : 4%
- Son : 21%.
- Tourteau de soja : 8%
- Orge : 20%
- CMV : 3%

Expérience 1. Etude du comportement, et des changements anatomo-histologiques ovariens et utérins dans la phase *post partum* de lapines nullipares de population locale.

L'objectif de ce travail est de décrire le comportement à la mise bas, le statut ovarien et les changements anatomo-histologiques liés à l'involution utérine au cours de la phase *post partum* chez des lapines nullipares de population locale algérienne.

5.2-4-1 Matériels et Méthodes

5.2-4-1-1 Lieu et matériel animal

Cette expérimentation s'est déroulée au sein du clapier de la station expérimentale de l'Université de Blida, pendant la période de mars à juin, 2005.

Les lapines utilisées dans cette étude proviennent de l'institut technique des élevages L'ITELV (Baba-Ali, Alger). 20 femelles nullipares, âgées de 5 à 6 mois, d'un poids moyen de $2455 \pm 52,4$ g, sont logées dans des cages individuelles en grillage métallique disposées en Flat-deck

Au cours de l'expérimentation 5 mâles âgés de 10 mois et pesant en moyenne 2800 ± 454 g ont été utilisés pour les saillies.

5.2-4-1-2 Protocole expérimental

Les différentes étapes de l'expérimentation ont été regroupées sur le schéma suivant (figure 5.42).

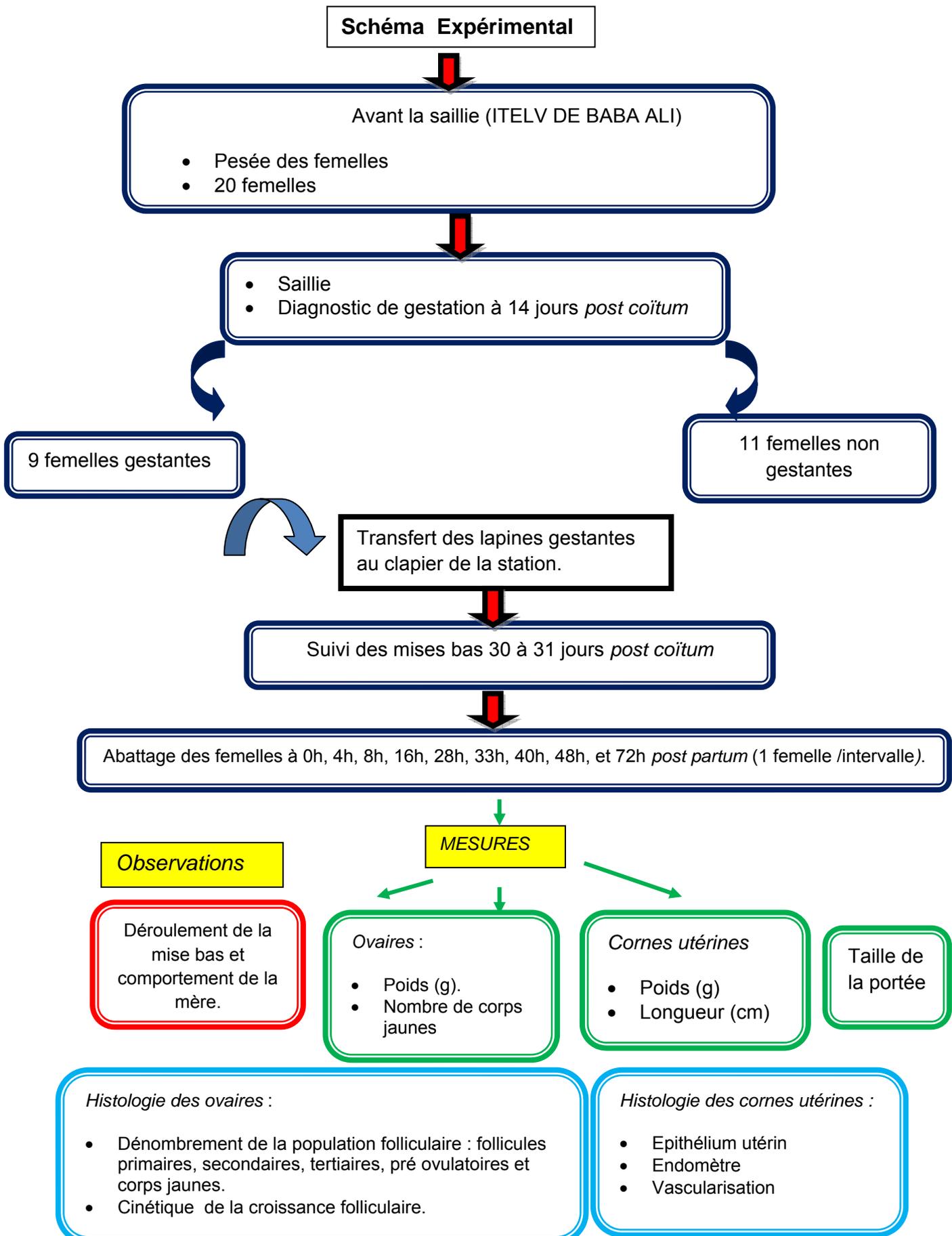


Figure 5.42: Protocole expérimental

Le diagnostic de gestation est réalisé au 14^{ème} jour après la saillie pour toutes les lapines par palpation abdominale. Neuf lapines ont été présumées gestantes. Une semaine avant la date présumée de la mise bas, les lapines gestantes, ont été transférées au niveau de la salle de maternité du clapier, de la station expérimentale, placées dans des cages individuelles munies de boîte à nid dans le but de d'observer le comportement des femelles et de préciser l'heure exacte de la mise bas. Les boîtes à nid sont préparées avec des brins de paille. Le portillon de la boîte à nid est ouvert pour permettre à la lapine de construire son nid et de mettre bas. A partir du 29^{ème} jour de gestation, le comportement des femelles a été scrupuleusement observé. Ainsi, l'heure exacte, la durée de la parturition, le déroulement, le comportement de la mère vis à vis de sa portée au moment de la mise bas et le nombre de nés vivants et de nés morts ont été enregistrés. A la fin des mises bas, les lapines ont été séparées de leur portée et ont toutes été regroupées dans une même cage. Les 9 lapines ont été sacrifiées à des moments variables de la phase *post partum*: 0h, 4h, 8h, 16h, 28h, 33h, 40h, 48h, et 72h.

5.2-4-1-3 Paramètres étudiés

➤ Sur les ovaires

Minutieusement débarrassés des tissus adipeux, les ovaires sont pesés séparément à l'aide d'une balance de précision. Les corps jaunes sont dénombrés. Les ovaires (n= 18) destinés aux coupes histologiques selon la technique de Martoja et Martoja-Pierson, 1967 [488] sont rapidement fixés dans du formol à 10% (voir appendice C).

➤ Sur les cornes utérines

Les cornes utérines (voir appendice D) débarrassées de leur graisse, sont séparées et coupées entre les deux cervix. Le poids de chacune des cornes,

droite et gauche, est enregistré, et leur longueur mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

5.2-4-1-4 Réalisation des coupes histologiques

Suite à leur fixation, les ovaires et les cornes utérines ont été progressivement déshydratés par passages successifs dans des solutions d'éthanol de degré croissant puis dans une solution de xylène, ensuite ils ont été inclus dans la paraffine et disposés dans des moules plastiques cubiques. A l'aide d'un microtome (Leitz, Wetzlar, Allemagne, voir appendice C), des coupes de 7 µm d'épaisseur ont été colorées à l'hématoxyline et éosine (H.E) puis montées entre lame et lamelle à l'aide d'un milieu de montage EUKITT. Les photographies ont été prises à l'aide d'un microscope de type Motic, avec caméra intégrée (voir appendice E). Le comptage des follicules primaires, secondaires, tertiaires, pré ovulatoires et le nombre de corps jaunes a été réalisé. La lecture des lames a été faite aux grossissements, X100, X400 et X1000.

5.2-4-2 Résultats

5.2-4-2-1 Comportement des lapines et déroulement des mises bas :

- Cinq lapines ont mis - bas normalement après avoir préparé leur nid.
- Une sixième lapine a mis bas de 3 petits vivants. Le lendemain, deux d'entre eux avaient été dévorés par la mère et le troisième était entamé vivant. Douze heures après, la mère achevait la mise bas de 3 nés morts.
- Une septième lapine avait mis bas d'abord de 3 nés vivants et au cours du déroulement de la mise bas elle est morte par dystocie. Son sacrifice était prévu à 72 heures *post-partum*, elle a donc été éliminée de l'expérimentation.
- Une huitième lapine a quitté son nid pour mettre bas hors du nid, et les petits ont été abandonnés
- Une neuvième lapine a mis bas d'un lapereau puis de 7 lapereaux vivants deux heures après.

Les mises bas se sont déroulées à des moments différents : tôt le matin, l'après midi et la nuit. Pour la sixième lapine dont le sacrifice était fixé 16 heures *post partum*, la mise bas s'est déroulée d'une manière étrange. Elle effectuait des sauts, tournait autour d'elle-même, était effrayée, même paniquée à la vue de la naissance de chaque nouveau né vivant. Elle a immédiatement abandonné sa portée et s'est réfugiée dans un coin. Douze heures après, au matin, elle a achevé sa mise bas de 3 morts nés. Dans le nid, deux nouveaux nés étaient absents, elle les avaient dévoré et elle avait même entamé le troisième. La lapine n°7 est morte de dystocie 15 min après avoir mis bas de 3 nés vivants. Dès lors, une incision de la cavité abdominale et l'extériorisation des cornes utérines a montré la présence de deux lapereaux morts, développés à terme. Ils étaient placés au niveau de chaque corne à proximité des cols utérins sans doute bloqués à ce niveau, au moment de la mise bas. Cette femelle était très grasse (3,850 kg).

Suite à leur regroupement après mise bas dans la même cage, nous avons constaté que des lapines se chevauchaient.

5.2-4-2-2 Etude anatomo histologique des ovaires

5.2-4-2-2-1 Poids des ovaires et nombre des corps jaunes

Entre 0 et 48 heures *post partum*, le poids de chaque ovaire varie de 0.24 à 0.63 g. Leur poids moyen varie de 0,48 à 1,24 g (tableau 5.6). Jusqu'à 8 heures *p.p*, il y a généralement égalité entre le nombre de corps jaunes et les nés totaux. Dès 16 heures *p. p*, 50 % des corps jaunes ont commencé leur régression et à partir de 32 h *p.p* ils ont totalement régressé.

Jusqu'à 8 heures *p.p* nous observons sur les ovaires un nombre de corps jaunes correspondant généralement au nombre de lapereaux nés.

Tableau 5.6: Poids des ovaires, nombre de corps jaunes et taille de portée à la naissance.

Numéro de lapine	Intervalle mise bas et observation	Poids des ovaires (g)			Corps jaunes			Nés totaux
		Droit	Gauche	Total	Droit	Gauche	Total	
1	0 h	0.32	0.30	0.62	4	4	8	8
2	4 h	0.33	0.46	0.79	1	7	8	7
3	8 h	0.32	0.36	0.68	4	5	9	9
4	16 h	0.24	0.24	0.48	1	2	3	6
5	28 h	0.40	0.35	0.75	2	1	3	8
6	32 h	0.38	0.41	0.79	0	0	0	5
7	40 h	0.40	0.46	0.86	0	0	0	8
8	48 h	0.63	0.61	1.24	0	0	0	9

5.2-4-2.2-2 Dénombrement de la population folliculaire

La croissance folliculaire a été étudiée entre 0 h et 48 heures *post partum*. A défaut de suivre la croissance folliculaire sur les mêmes lapines pour chacun des stades étudiés (0h. 4h. 8h. 16h. 28h. 32h. 40h. 48h), une lapine a été sacrifiée et nous avons compté le nombre de follicules primaires, secondaires et tertiaires.

Nous constatons dans la figure 5.43, que dès la mise bas, une présence importante des follicules primaires qui sont deux fois plus importants que les follicules secondaires. Les follicules tertiaires et pré ovulatoires étant minoritaires. A 4h, les follicules primaires sont peu représentés ainsi que les follicules pré ovulatoires. Les follicules secondaires dominant alors que nous n'observons pas de follicules tertiaires. A 8h, le nombre de follicules primaires augmente alors que le nombre de follicules secondaires diminue. Les follicules tertiaires réapparaissent et les follicules pré ovulatoires augmentent légèrement. A 16h le nombre des follicules primaires se maintient alors que le nombre de follicules secondaires augmente. Le nombre de follicules tertiaires restant stables et le nombre de follicules pré ovulatoires double. A 28 h, le nombre de follicules

primaires reste stable. Les follicules secondaires diminuent plus que la moitié. Les follicules tertiaires sont absents. Le nombre de follicules pré ovulatoires est le même qu'à 0h. A 32 h, le nombre de follicules primaires augmente de même que celui des follicules secondaires. Les follicules tertiaires réapparaissent à nouveau et le nombre de follicules pré ovulatoires est le même qu'à 8h .A 40 h. le nombre de follicules primaires diminue à moitié. Les follicules secondaires sont absents de même que les follicules pré ovulatoires. Le nombre de follicules tertiaires reste stable. Enfin, à 48 h les follicules primaires dominant. Les follicules secondaires sont faiblement représentés alors que les follicules tertiaires et pré ovulatoires sont absents.

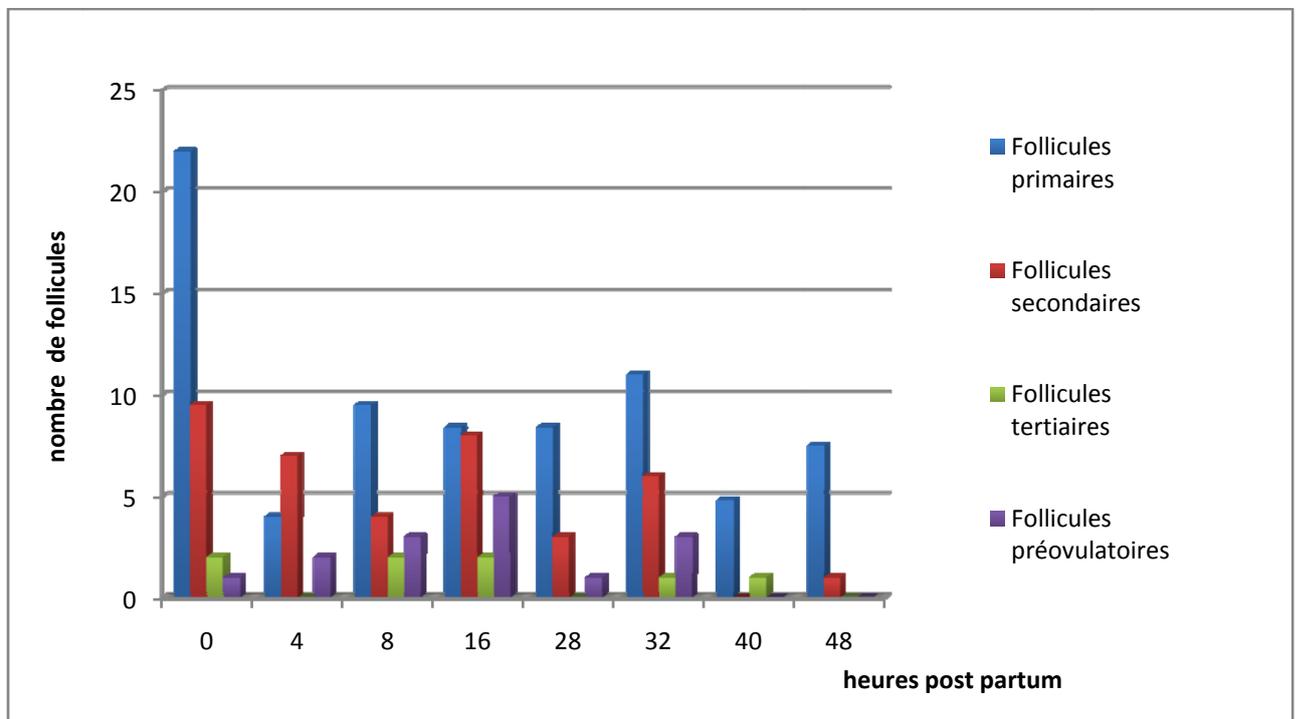


Figure 5.43: Populations folliculaires entre 0 à 48 h *post partum*.

5.2-4-2-2-3 Etude histologique des ovaires dans la phase *post partum*

L'observation des coupes histologiques réalisées à partir d'ovaires prélevés à différents stades après la mise bas, met en évidence de grandes modifications. Dès la mise bas, les corps jaunes se trouvent à la surface de l'ovaire ayant l'aspect d'un massif parenchymateux composé de cellules lutéiniques (Figure 5.44) et de nombreux follicules primaires, des follicules secondaires et tertiaires

(Figures 5.45 et 5.46). A 4 h, les follicules secondaires sont encore présents alors que les follicules tertiaires sont absents. Les follicules pré ovulatoires se trouvent proches de l'albuginée contenant un ovocyte et des cavités remplies de liquide folliculaire (Figure 5.47). De 8 heures à 16 heures, le nombre de follicules pré ovulatoires est plus important proches de l'albuginée, ils contiennent un ovocyte légèrement excentré, entouré d'une zone pellucide et du *cumulus oophorus*, d'une cavité antrale unique repoussant la *granulosa* vers la périphérie et les corps jaunes sont à la périphérie de l'ovaire (Figures 5.48 et 5.49).

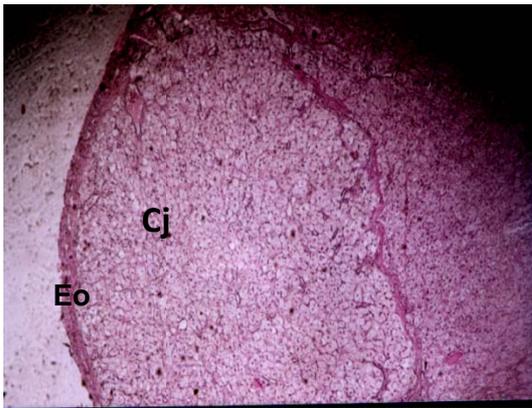


Figure 5.44: Coupe d'ovaire de lapine 0h *post partum*. Corps jaune (Cj); Epithélium ovarien (E.o). H.E. GX100.

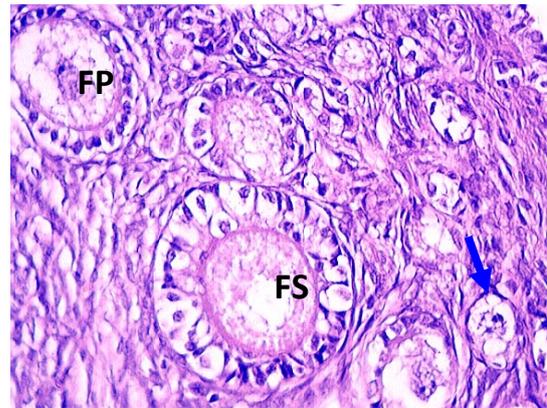


Figure 5.45: Coupe d'ovaire de lapine 0h *post partum*. Follicule primordial (flèche); Follicules primaire (FP); Follicule secondaire FS). H.E.GX100.

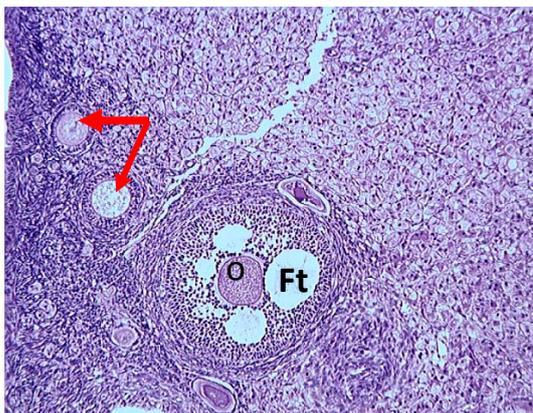


Figure 5.46: Coupe d'ovaire de lapine 0h *post partum*. Follicule tertiaire (Ft), Follicule laire (flèches); Ovocyte (O). H.E. GX400.

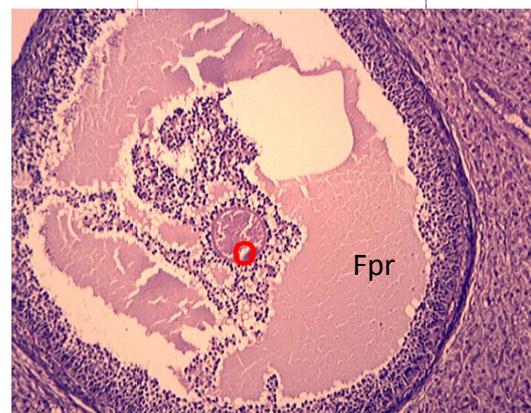


Figure 5.47: Coupe d'ovaire de lapine 4h *post partum*. Follicule pré ovulatoire (Fpr) Ovocyte (O).H.E.GX400.

De 28h à 40h la taille des corps jaunes diminue (figures 5.50, 5.51 et 5.52). A 32h, les follicules matures sont proches de l'albuginée (figure 5.53). Par ailleurs, nous avons observé sur l'ovaire de la lapine n°7 sacrifiée à 40 heures *pp*, la présence d'un follicule rompu (figure 5.54). A 48 heures, les corps jaunes sont de taille encore plus réduite (figure 5.55).

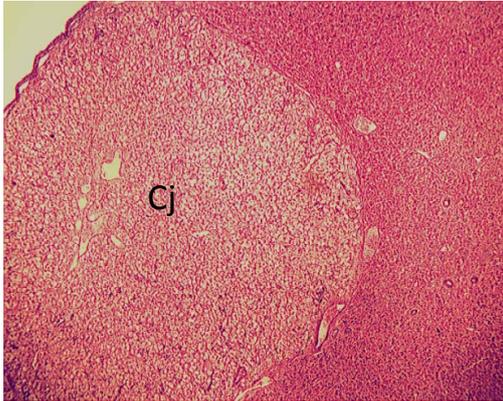


Figure 5.48: Coupe d'ovaire de lapine 8h *post partum*. Corps jaune (Cj). H.E. GX100.

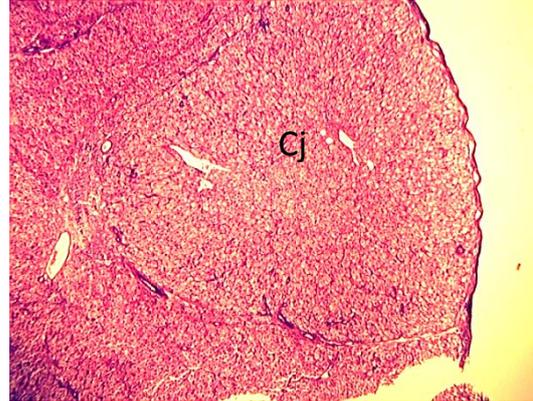


Figure 5.49: Coupe d'ovaire de lapine 16h *post partum*. Corps jaunes (Cj). H.E.GX100

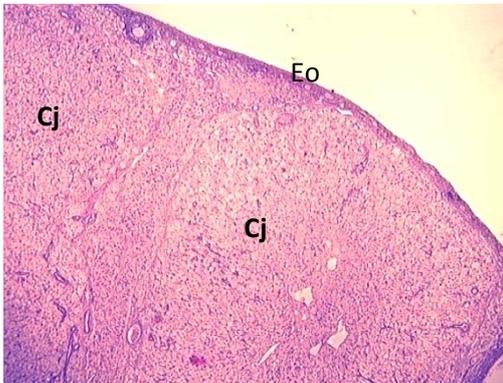


Figure 5.50: Coupe d'ovaire de lapine 28h *post partum*. 2 corps jaunes (Cj) ; Epithélium ovarien (Eo).H.E. GX100

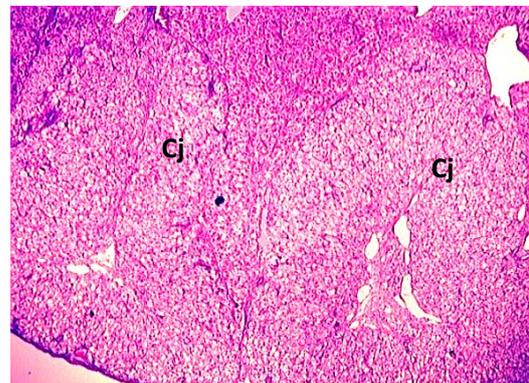


Figure 5.51: Coupe d'ovaire de lapine 32h *post partum*. Corps jaunes en régression (Cj). H.E.GX100

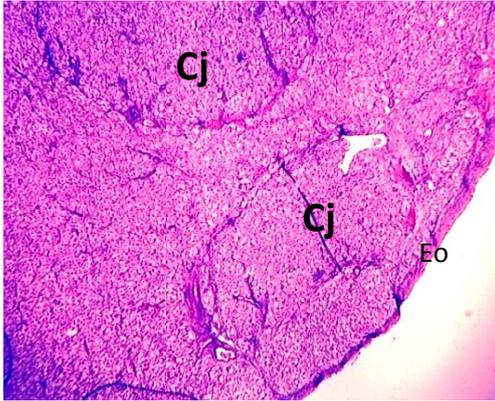


Figure 5.52: Coupe d'ovaire de lapine 40h *post partum*. Corps jaunes en régression Epithélium ovarien (Eo).H.E.GX100

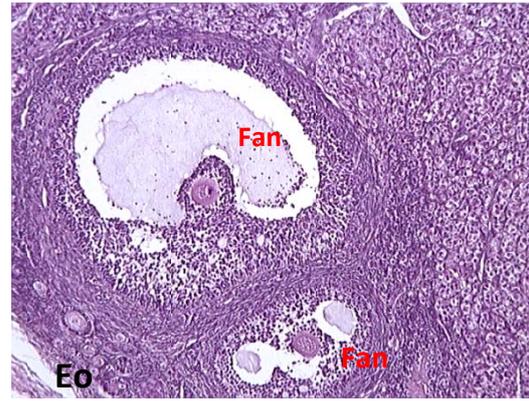


Figure 5.53: Coupe d'ovaire de lapine 32h *post partum*. Deux follicules antraux (Fan) proches de l'épithélium ovarien (Eo).H.E.GX100



Figure 5.54: Coupe d'ovaire de lapine 40h *post partum*. Follicule rompu (Fr); H.E. GX100

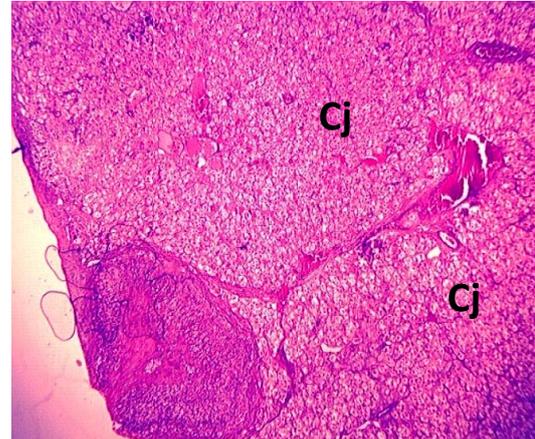


Figure 5.55: Coupe d'ovaire de lapine 48h.*post partum*. 2 corps jaunes (Cj). H.E.GX100

5.2-4-2-3 Etude anatomo-histologique des cornes utérines

5.2-4-2-3-1 Poids et longueur des cornes utérines

Le poids des lapines avant la mise bas, le poids et la longueur des cornes utérines de 0 à 48 heures après la mise bas sont représentés sur le tableau (5.7). Avant la mise bas, le poids des lapines varie de 2,7 kg à près de 4 kg.

Les différences de poids et de longueur des cornes utérines à différentes heures après la mise bas sont plus apparentes après 28h. En effet, au-delà de cette période le poids total des cornes diminue de 49,8g à 22,4g. La différence en

poids total des cornes est aussi apparente lorsqu'elle est considérée en relation avec le poids corporel. Entre 0 et 28h *p.p* le ratio était entre 12,07 et 16,6 ; entre 32 et 48 h *p.p*. le ratio était de 5,64 et 8,63. Les changements entre la longueur des cornes suit le même modèle, rangeant de 14 à 29cm au delà de 28h *post partum* et entre 10,5 et 20cm entre 32 et 48 h *p.p*.

Le rapport du poids total des cornes utérines sur le poids des lapines avant la mise bas chute de manière drastique à partir de 32 heures *pp*.

Tableau 5.7: Poids et longueur des cornes utérines plus les nés totaux

Lapines	Intervalle des mises bas et observation	Poids des lapines (kg) avant la mise bas	Poids des cornes utérin (g)				Longueur des cornes utérines (cm)		Nés totaux
			Droite	Gauche	Total	Ratio (1)	droite	gauche	
1	0 h	3.310	21.1	21.1	42.2	12.75	20.0	20.0	8
2	4 h	3.465	20.0	26.1	46.1	13.30	19.0	29.0	7
3	8 h	3.255	20.0	19.3	39.3	12.07	14.0	14.0	9
4	16 h	2.743	18.0	21.0	39.0	14.22	19.0	21.0	6
5	28 h	3.750	28.5	21.3	49.8	16.6	21.0	14.0	8
6	32 h	3.015	11.4	11.7	23.1	7.66	10.5	12.0	5
7	40 h	3.850	11.6	18.6	30.2	8.63	10.6	14.0	8
8	48 h	3.975	13.0	9.4	22.4	5.64	20.0	15.0	9

(1) Poids des cornes utérines / Poids des lapines

5.2-4-2-3-2 Etude histologique de l'épithélium utérin et de l'endomètre

Les résultats des observations des coupes histologiques de l'épithélium et l'endomètre sont portés sur les tableaux (5.8 et 5.9). A la mise bas, l'état de l'épithélium utérin est complètement dégénéré à plusieurs endroits d'implantations des embryons (figure 5.56). A 4 h *p.p.*, les glandes utérines sont nombreuses, apparemment vides, certaines contiennent dans leur lumière des cellules polynucléaires probablement des artefacts (figure 5.57), pour d'autres des mitoses sont observées au niveau de l'épithélium glandulaire (figure 5.58) : On note une intense activité mitotique au niveau de l'épithélium utérin la présence des cellules polynucléaires dans la lumière des capillaires, qu'elle quitte par diapédèse à travers la paroi endothéliale (figure 5.59).

A 8 heures, on trouve les polynucléaires dans la lumière des capillaires (figure 5.60), alors que l'endomètre est clairsemé d'un grand nombre de ces cellules (figure 5.61). Cependant, chez la lapine sacrifiée à 16 heures, on note dans l'endomètre, la présence de tissu décidual assez développé et même des cellules géantes (figure 5.62). De même que le nombre de cellules polynucléaires a diminué dans l'endomètre et l'épithélium est presque totalement régénéré, composé surtout de cellules ciliées.

L'épithélium utérin est totalement régénéré de 28 heures à 48 heures (figures 5.63, 5.64, 5.65), avec la reconstitution des cellules hautes ciliées. Les glandes utérines augmentent en nombre et deviennent tortueuses à lumière large, avec une régression de l'œdème du stroma qui était lâche juste après la mise bas. A partir de 28 heures, l'endomètre commence à reprendre sa forme pour devenir complètement compact (figure 5.66).

Par ailleurs, chez deux lapines sacrifiées à 16 et 40 heures *post partum* on a constaté la présence d'importantes plaques déciduales et des cellules géantes trophoblastiques plus nombreuses qui envahissent la surface de la muqueuse utérine (figures 5.67, 5.68, 5.69) alors que ce type de cellules est totalement absent chez les autres cas de lapines. En effet, juste après la mise bas, les lapines sont séparées de leurs portées, elles n'allaitent pas leurs petits et sont placées dans une même cage. De ce fait, les lapines dont le sacrifice est prévu à

16 heures et 40 heures après mise bas ont pu être chevauchées par leurs congénères. Cette stimulation a pu induire chez ces femelles une pseudogestation. L'observation des plaques déciduales le suggèrent. Par ailleurs, suite à ces dernières observations inattendues, il nous ai pas venu à l'esprit de contrôler la présence de jeunes corps jaunes avec stigma turgescent à la surface de l'ovaire signifiant une ovulation.

Tableau 5.8: Résultats des coupes histologiques sur les cornes utérines (Epithélium) (n=8).

Lapine	Intervalle mise bas et observation	Etat de l'épithélium	Forme cellules	Position noyau
1	0h	Dégénéré	Basse	Centrale
2	4h	Activité mitotique intense	Basse	Centrale
3	8h	Activité mitotique	Cubique ± ciliée	Centrale
4	16h	Totalement régénéré	± haute ciliée	Moyenne
5	28h	Totalement régénéré	Haute ciliée	Moyenne
6	32h	Totalement régénéré	Haute ciliée	Moyenne
7	40h	Totalement régénéré	Haute ciliée	Moyenne
8	48h	Totalement régénéré	Haute ciliée	Basale

Tableau 5.9: Résultats des coupes histologiques sur les cornes utérines (l'endomètre) (n=08).

Lapine	Heure <i>post-partum</i>	Etat de vascularisation	Forme cellules	Forme glande	Stroma
1	0h	Vascularisé	Polygonale	Tubuleuse simple	Lâche et spongieux
2	4h	Vascularisé	Polygonale	Tubuleuse simple	Lâche/spongieux
3	8h	Très vascularisé	Polygonale	Tubuleuse simple	Lâche/spongieux
4	16h	Très vascularisé	Polygonale	Tubuleuse simple	Lâche/spongieux
5	28h	Très vascularisé	Polygonale	Tubuleuse simple	Lâche/spongieux
6	32h	Très vascularisé	Polygonale	Tubuleuse simple	± Compact
7	40h	Très vascularisé	Polygonale	Légèrement tortueuse	Compact
8	48h	Très vascularisé	Polygonale	Tortueuse	Compact

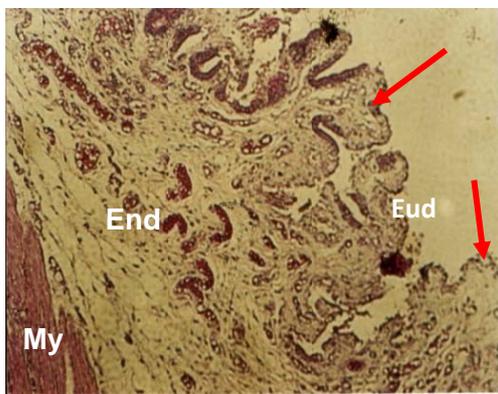


Figure 5.56: Coupe d'utérus de lapine 0h *post partum*. Epithélium utérin dégénéré (flèches ; Endomètre (End) ; Myomètre (My). H.E.GX100

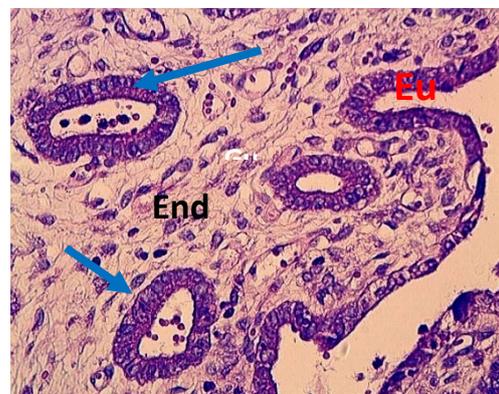


Figure 5.57: Coupe d'utérus de lapine 0h *post partum*. Epithélium utérin (Eu) ; Endomètre (End) ; Glandes utérines (flèches). H.E. GX100

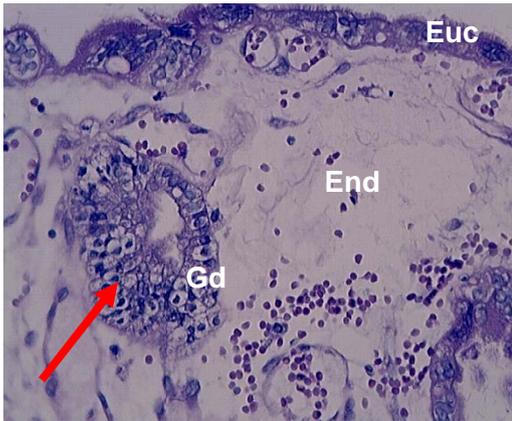


Figure 5.58: Coupe d'utérus de lapine 4h *post partum*. Glande utérine en division (flèche); Epithélium utérin cilié et mitoses (Euc); Endomètre (End). H.E. GX100

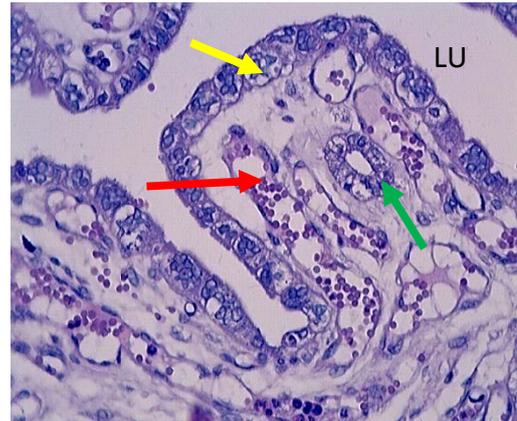


Figure 5.59: Coupe d'utérus de lapine 4h *post partum* Cellules de l'épithélium utérin en division (flèche jaune); glande utérine (flèche verte); Capillaires sanguins (flèche rouge). Lumière utérine (LU). H.E.GX100.

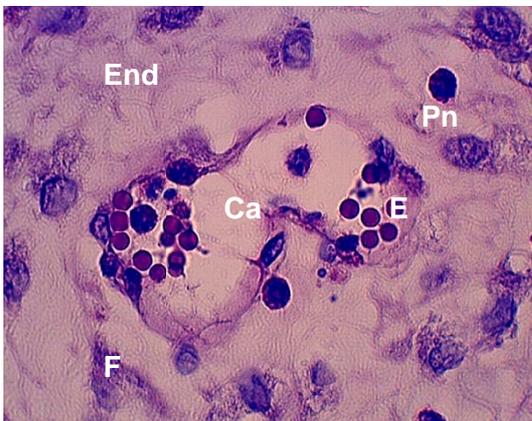


Figure 5.60: Coupe d'utérus de lapine 4h *post partum*. Endomètre (End); Lumière de capillaire (Ca); Polynucléaires neutrophiles (Pn); Fibroblaste (F); Erythrocytes (E). GX1000

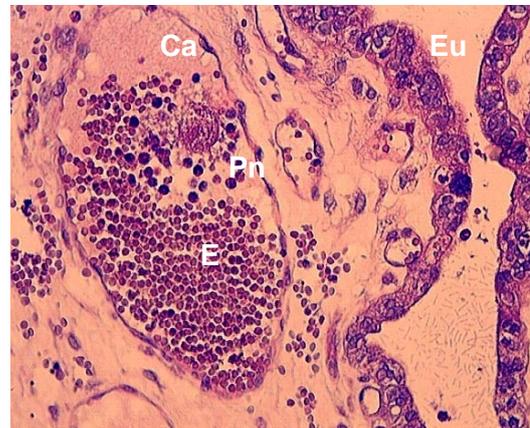


Figure 5.61: Coupe d'utérus de lapine 8h *p.p.* Capillaire(Ca); Polynucléaires neutrophiles (Pn); Erythrocytes (E); Cellules de l'épithélium utérin en division (Eu).GX100

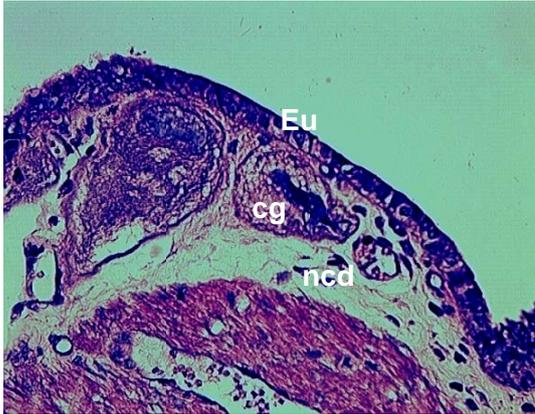


Figure 5.62: Coupe d'utérus de lapine pseudogestante. 16h *p.p.* Epithélium utérin (Eu); noyaux des cellules déciduales (ncd); cellules géantes (cg).H.E.GX400

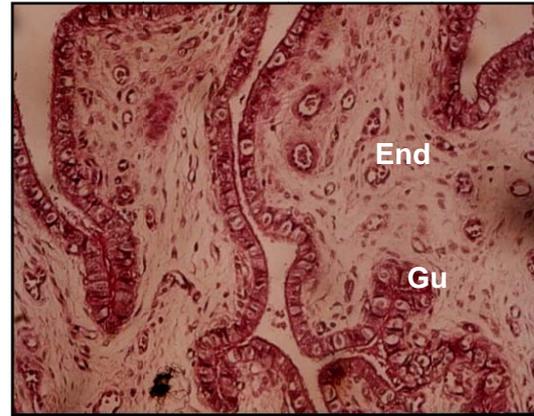


Figure 5.63: Coupe d'utérus de lapine 48h *post partum*. Glandes utérines (Gu) ; endomètre (End). H.E.GX100

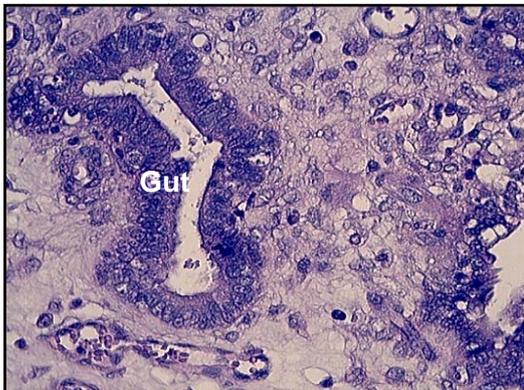


Figure 5.64: Coupe d'utérus de lapine 48h *post partum*. Glande utérine tortueuse et cellules hautes ciliées (Gut).H.E.GX400

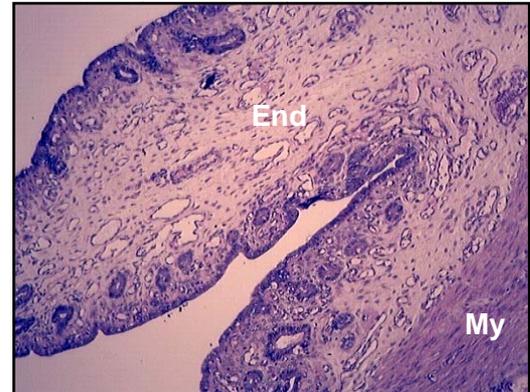


Figure 5.65: Coupe d'utérus de lapine 48h *post partum*. Endomètre (End); Myomètre (My).H.E.GX100

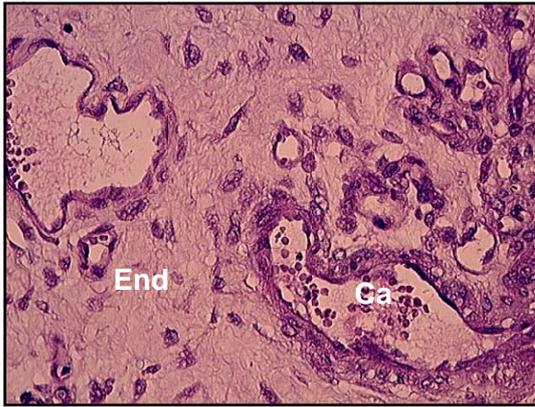


Figure 5.66: Coupe d'utérus de lapine pseudogestante 28h *p.p.* Endomètre compact (End); Capillaires (Ca). H.E.GX400

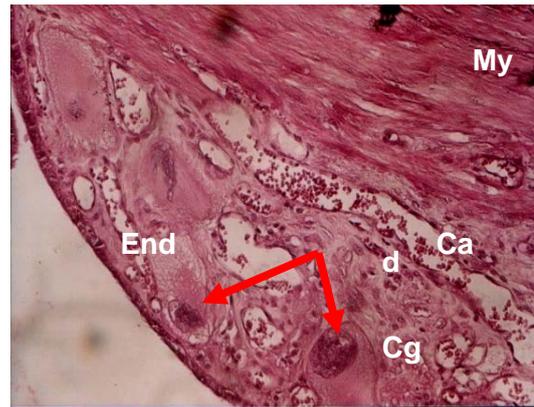


Figure 5.67: Coupe d'utérus de lapine pseudo gestante 40h *p.p.* Endomètre (end); tissu décidual (d); cellules géantes (flèches); Myomètre (My). Capillaires (Ca). H.E.G X100.

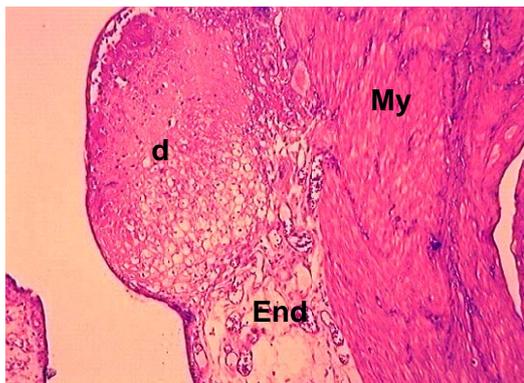


Figure 5.68: Coupe d'utérus de lapine pseudogestante 40h *post partum.* Tissu décidual (d); Endomètre (End); Myomètre (My).H.E.GX100

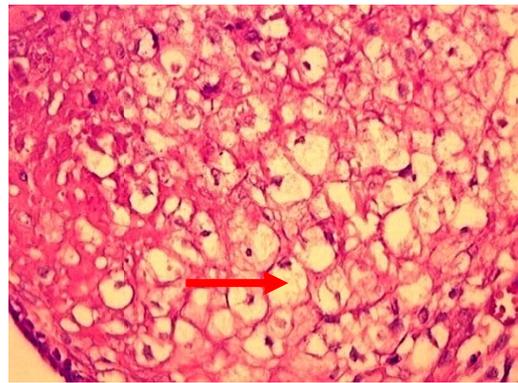


Figure 5.69: Coupe d'utérus de lapine pseudo gestante 40h *post partum.* Cellules du tissu décidual (flèche) H.E.GX400.

5.2-4-3 Discussion

L'objectif de cette étude était d'étudier le comportement de la lapine au moment de la mise bas, ainsi que de réaliser une étude macroscopique et microscopique des ovaires et des cornes utérines au cours des 48 heures suivant la mise bas. Seulement huit lapines sur 20 étaient gestantes. Une faible fertilité dépend généralement de l'ordre de parité. En effet, Chmitelin et al, 1990 [66] ont démontré que la fertilité était liée à la parité (> 85%: nullipares, < 70%: primipares et 78,6 %: multipares).

Déroulement de la mise bas et comportement des lapines. La plupart des lapines (5 sur 9) ont eu un comportement normal, préparant leur nid avant la mise bas. Deux ont mis bas en deux temps. Le fractionnement de la parturition a été également observé par Lebas, 1994[18]. Trois pour cent des mises bas s'effectuent en deux temps, dans un intervalle de 8 à 12 heures. Dans notre expérience, une lapine a mis bas en dehors de son nid tout en abandonnant sa progéniture, une autre était effrayée et a présenté le phénomène de cannibalisme, comportement dû à un stress, à un déficit alimentaire ou un manque d'eau selon Besselièvre, 1980 [431]. Cependant, Hafez, 1975 et Sandford, 1980 [432 ; 433] ont observé qu'une femelle ayant des problèmes digestifs comme la constipation, devient fiévreuse et développe un manque d'appétit et dans ces conditions elle peut tuer et dévorer ses petits. On peut faire l'hypothèse que le déplacement de ces lapines (depuis la ferme vers le laboratoire), avant la mise bas a pu engendrer un stress, conduisant l'une d'elles à dévorer ses petits. En effet, ces lapines n'ont manqué ni de nourriture, ni d'abreuvement. Par ailleurs, Harkness et Wagner, 1989 [434], ont observé l'état d'excitation d'une lapine primipare associé à une placentaphagie.

Cinétique des corps jaunes. L'observation des ovaires de 0 à 8h *post partum* montre que les corps jaunes sont proéminents à la surface de l'ovaire, tandis qu'ils régressent à partir de 16h. Les résultats des poids des ovaires sont comparables avec ceux de Lesbouyries, 1949 [435] chez la lapine New zélandaise ayant porté, les ovaires pèsent 0,25-0,85g alors que chez une lapine vierge les ovaires pèsent 0,10-0,35g.

Dénombrement des populations folliculaires. Nos résultats montrent que dès la mise bas, des follicules antraux sont prêts à ovuler, ils sont cependant faiblement représentés entre 0 et 48 heures (par exemple seulement 2 follicules sur la lapine observée au moment de la mise bas et aucun 48 heures après). Il est difficile d'interpréter les résultats du dénombrement des différentes populations folliculaires aux différents stades *post partum* car les mesures ont été effectuées sur des lapines différentes, certaines présentaient de plus des difficultés au moment de la mise bas (cannibalisme pour la lapine abattue à 16 heures *post partum* et mise bas hors du nid pour la femelle abattue à 40 heures *post partum*). Cependant, Hulot et Mariana, 1982 [436] observent aussi, une quantité variable de follicules dont le diamètre atteint 400µm (follicule tertiaire) et 800µm (follicule pré ovulatoire) après la mise bas. Le nombre de corps jaunes représente en général, le nombre d'ovulation et donc la taille de la portée.

Rodriguez et *al*, 1984 [1992] ont montré que la première vague de maturation folliculaire après la mise bas, débute en fin de gestation coïncidant avec une baisse du niveau de progestérone. La chute de progestérone [437 ; 207 ; 438] associée aux œstrogènes circulants [439 ; 208] est démontrée par le comportement sexuel des femelles pendant les derniers jours de gestation. Beyer et Rivaud, 1969 [301] et pour leur grande réceptivité, Moret, 1980 et Fortun et *al*, 1993 [193 ; 440] ont montré qu'à 12h *post partum*, toutes les femelles étaient réceptives et acceptent l'accouplement et 77% étaient gestantes.

Nous constatons que de 0h -8h le nombre de portée est égal au nombre de corps jaune. A 4heures un corps jaune en plus par rapport à la taille de la portée, cela est probablement dû à une mortalité embryonnaire précoce. A partir de 16 heures le nombre de corps jaunes disparaît de moitié à l'observation visuelle de l'ovaire et ce dernier est plutôt remplacé par de gros follicules.

L'involution utérine se définit comme étant, le retour de l'utérus à son poids et à sa taille normale après la parturition, c'est-à-dire à un état pré-gravidique autorisant à nouveau l'implantation de l'œuf fécondé [441; 442]. Chez certains mammifères, elle est nécessaire pour la préparation d'une nouvelle gestation. Elle inclut une diminution en taille de l'utérus, des modifications morphologiques et histologiques. Cependant, la plupart des études sur l'involution utérine chez les

animaux d'intérêt zootechnique concernent la vache [443 ; 444]. Chez la chèvre, au niveau de l'utérus et en phase puerpérale, on assiste à des changements morphologiques de l'endomètre (hypertrophie suivie d'involution utérine), Krajnicačková et al, 2002 [445] associent des processus dégénératifs (changements régressifs) à des processus régénératifs (re-épithélialisation). Le bon déroulement de l'involution utérine reste un critère décisif pour l'avenir reproducteur de l'animal.

L'observation microscopique des cornes utérines de lapine à 0h *p.p* suggère que l'utérus de lapine subit aussi un double processus de dégénérescence et de régénérescence. La dégénérescence des cellules épithéliales et leur élimination, pourrait être due, comme chez la vache [444] et la chèvre [445] à la présence de macrophages au niveau de la matrice interstitielle. En l'absence de marquage spécifique (immunohistochimie), nous n'avons pas pu identifier des macrophages dans notre expérience ce qui n'exclut nullement leur présence. Cependant, nous avons pu observer des polynucléaires neutrophiles dans la lumière des glandes utérines en zones péri-vasculaires ainsi qu'au niveau du stroma. D'après Krajnicačková et al, 2002 [445], la présence de cellules inflammatoires lymphocytes et neutrophiles au niveau de la lumière glandulaire dans la période *post partum* précoce reflète une résistance aux infections assez fréquentes en phase puerpérale. Chez la ratte, des neutrophiles et des macrophages arrivent dans les espaces intercellulaires de l'épithélium utérin, durant les quatre premiers jours suivant la mise bas [446]. Chez la vache, lors de la première semaine *post partum*, la partie nécrosée de l'endomètre est envahie par des neutrophiles, des plasmocytes et des lymphocytes. Un afflux de macrophages dès le 10^{ème} jour *post-partum* complète l'infiltration cellulaire. L'ensemble de ces cellules permet la résorption des lochies et de la partie nécrosée de l'endomètre grâce à leur activité phagocytaire. La présence de ces cellules est également indispensable afin de lutter contre la colonisation bactérienne systématique après la parturition [447]. L'omniprésence de cellules inflammatoires de type aigue (neutrophile) et indépendamment de leur localisation (stroma conjonctif et épithélium) nous renseigne sur le caractère non spécifique de la réaction inflammatoire dans la phase *post partum* ce qui corrobore aisément nos résultats

Chez les femelles d'intérêt zootechnique, la durée de l'involution utérine est principalement déterminée par la réaction inflammatoire, selon l'aspect anatomique du placenta. Chez la femelle à placenta diffus (jument et truie), l'involution utérine est rapide (2 à 3 semaines), pour un placenta cotylédonaire (brebis, chèvre, vache), la durée de l'involution utérine est de 4 à 5 semaines, alors que pour un placenta zonaire (Chien et chat), l'involution utérine se prolonge de 10 à 12 semaines [448]. La lapine présente une placentation discoïdale et l'involution utérine dure 48h [18]. La durée de l'involution utérine semble donc liée au type de placentation.

Chez la lapine, les deux phases dégénératives et régénératives, se déroulent plus rapidement que chez les autres espèces car dès la mise bas, nous observons une destruction de l'épithélium suivie d'une infiltration de cellules polynucléaires entre 4h et 8h, avec intensification des mitoses jusqu'à 16h, puis une régénération rapide de l'épithélium utérin à 48h.

Chez la lapine, l'ovulation est un réflexe neuroendocrinien induit par l'accouplement ou par l'administration de GnRH. Dans l'ovaire de femelles qui n'ont pas été mises à la reproduction ou dans la période *post partum*, les corps jaunes fonctionnels (secrétant de la progestérone) ne devraient pas être présents [19]. L'induction de la pseudogestation chez les deux femelles pourrait être expliquée par le comportement de chevauchement du fait de leur regroupement dans une même cage. A cet effet, ces femelles ont été vues, lorsque regroupées en *post partum*, se chevaucher avec d'autres femelles. On pourrait penser que le chevauchement a induit chez ces dernières une ovulation probablement 10 heures après, elles pourraient être pseudo gestantes. Cependant, on ne peut pas confirmer notre hypothèse (pseudogestation) vu qu'à aucun moment le taux de progestérone n'a été mesuré.

Par ailleurs, Bell, 1983 [449], signale que l'endomètre de la femme subit une croissance et une différenciation au moment de l'implantation du blastocyste, en réponse à certains stimuli [450]. C'est le cas de deux lapines de notre expérimentation chez lesquelles nous avons trouvé du tissu décidual, ce type de tissu n'existe que chez des lapines gestantes ou pseudogestantes. Puisque les ovocytes pondus ne pouvaient être fertilisés (absence de semence), les corps

jaunes secrètent la progestérone jusqu'au processus de lutéinisation. Sur des femelles primipares inséminées de 0 à 19 jours *post partum* ou à 2 jours post sevrage, Theau-Clément et *al*, 2000 [451] ont montré que 20% de ces femelles présentaient 2 générations de corps jaunes et de hauts niveaux de progestérone associée à une faible réceptivité (22%). Plus récemment, Boiti et *al*, 2006 [452] appelèrent ce phénomène the "high progesterone syndrome".

Le tissu décidual a été décrit il y a de cela un siècle, chez la lapine en gestation. Des taches jaunâtres sont associées à la muqueuse utérine, comprenant des cellules géantes et entourées de cellules déciduales [453 ; 454, 455]. Nos résultats sur les structures morphologiques de l'épithélium utérin et de la déciduale observés au microscope optique chez la lapine pseudogestante, sont similaires à ceux observés chez la lapine gestante de génotype Néo-Zélandais par Merad, 1988 [456]. La présence de cellules géantes dans l'endomètre et le tissu décidual suggère une pseudogestation. Les cellules géantes sont surtout trouvées sous la muqueuse épithéliale, proches des capillaires.

Conclusion

Dans le but d'atteindre nos objectifs un suivi du comportement des lapines en post *partum* a été réalisé.

Sur les huit lapines examinées sept ont eu un comportement identique à celui recueilli dans la littérature chez les autres lapines de races étrangères (épilation, creusement, excitation, refus d'alimentation). Cependant, la dernière lapine a eu un comportement différent (frayeur, non préparation du nid, l'animal est blotti dans un coin). La durée de parturition dure 20 à 30 minutes à l'exception de la dernière lapine où le travail s'est déroulé en deux temps à deux heures d'intervalle, cette même femelle a présenté un comportement de cannibalisme. Cependant une neuvième lapine qui est trop grasse est morte durant la mise-bas.

L'originalité de notre travail dans cette première partie consiste à l'étude histologique des ovaires et des uteri chez toutes les lapines étudiées.

L'étude histologique des ovaires montre la présence des follicules ovariens à différents stades évolutifs, les corps jaunes sont les structures dominantes en taille et en volume sur la surface des ovaires des lapines sacrifiées dans les premières 16h *p.p.* et leur régression a été constatée des 16 heures après mise bas tout en s'enfonçant à la profondeur de l'ovaire. Cependant de 24 heures à 48 heures, les corps jaunes sont peu visibles à la surface, mais c'est plutôt les follicules pré ovulatoires qui sont les plus dominants.

L'étude histologique des uteri nous a permis d'observer la dégénérescence de l'épithélium utérin. Juste après mise - bas, la régénérescence des cellules a été observée dès 4 heures après mise bas. L'épithélium est complètement régénéré à 48 heures, le stroma endométrial est lâche durant les premières 24 heures et devient plus compact après.

Expérience. 2. Etude de la cinétique folliculaire au cours de l'ovulation chez les lapines ayant accepté (réceptive) ou refusé l'accouplement (non réceptive) de population locale

L'objectif de ce travail est d'étudier chez la lapine d'une population locale algérienne, la croissance folliculaire entre le moment de la saillie naturelle et le moment de l'ovulation, d'une part, chez des lapines réceptives au moment de la saillie et d'autre part, chez des lapines non-réceptives qui ont subi une saillie assistée.

5.2-5-1 Matériel et Méthodes

5.2-5-1-1 Lieu de l'expérimentation et animaux

Notre expérimentation s'est déroulée au sein du clapier de la station expérimentale de l'Université de Blida.

Les femelles utilisées dans cette étude appartiennent à la population locale de la région de la Mitidja. Elles proviennent de deux origines : Chez un éleveur à El Affroun et de l'ITELV de Baba Ali. Les lapines sont des nullipares au nombre de 57 sont âgées de 4,5 à 5 mois de poids 2kg à 2Kg 500g et en bon état sanitaire. A leur arrivée au sein du clapier les lapines sont soumises à une période d'adaptation d'au moins 15 jours dans des cages individuelles (afin d'éviter les chevauchements entre elles).

Cinq mâles de population locale ont été utilisés pour les saillies. Les animaux sont de forte ardeur sexuelle (fertilité prouvée), âgés entre 7 à 10 mois, et avec un poids moyen de 3 kg. Les lapines sont alimentées *ad libitum* par un aliment industriel sous forme de granulés et sont conduites en saillie naturelle.

5.2-5-1-1-1 Conduite de la saillie naturelle

Les mâles sont utilisés pour saillir toutes les femelles avec un rythme de deux saillies par jour et un repos d'une journée entre deux saillies consécutives.

Avant chaque saillie, les femelles sont pesées et la coloration de la vulve et son état de turgescence ont été notés. Les lapines sont considérées plus réceptives lorsque la vulve est rose ou rouge et turgescence mais elles sont non réceptives lorsqu'elles présentent une vulve rose pâle ou blanche et non turgescence. Figures (5.70, 5.71).



Figure 5.70: Couleur rose pâle de la vulve d'une lapine.



Figure 5.71: Couleur rouge turgescence d'une lapine .

Les saillies sont effectuées le matin, entre 8h et 10h. La femelle est introduite pour la première fois dans la cage du premier mâle, au bout de 3 à 4 mn si elle accepte l'accouplement, elle s'immobilise rapidement, s'étend et relève légèrement l'arrière train (position de lordose). Si elle refuse l'accouplement, elle est agressive et a tendance à se blottir dans un coin de la cage. Le mâle appuie son cou sur l'arrière train de la lapine puis se porte en avant pour enserrer les lombes de cette dernière avec ses membres antérieurs. Il effectue ensuite des mouvements pelviens rapides et un mouvement copulatoire jetant ses membres postérieurs en avant en éjaculant. Déséquilibré, il tombe en arrière ou à côté en émettant un cri caractéristique. Dans le cas où certaines femelles refusent la saillie avec le premier mâle, elles ont été présentées le jour même à un deuxième mâle pendant une période allant jusqu'à 15 mn et dans ces cas si ces lapines ont

accepté l'accouplement avec le deuxième mâle elles sont réceptives. Les femelles ayant refusé le premier mâle et le deuxième mâle sont non réceptives. On procède alors à la saillie assistée le jour même avec ces femelles.

Les tentatives de chevauchement du 1^{er} et le 2^{ème} mâle avec les femelles non réceptives tendent à diminuer leur ardeur sexuelle. De plus, lorsque la lapine devient agressive vis à vis du mâle, elle le blesse au niveau des pattes, des oreilles et ceci affaiblit ses performances. Pour ces raisons, nous avons utilisé d'autres mâles pour effectuer les saillies assistées.

Pour s'assurer que la saillie est positive, il est nécessaire de contrôler visuellement, que le mâle a éjaculé à l'intérieur du vagin.

5.2-5-1-1-2 Technique de la saillie assistée

Avant son introduction dans la cage du mâle pour la saillie assistée, la femelle est préparée de la manière suivante : la queue est attachée à l'aide d'un lien puis tirée afin de découvrir le périnée figure 5.72. La tête de la femelle est immobilisée. La main de l'opérateur, est introduite sous la lapine entre les 2 membres postérieurs, le train postérieur est soulevé pour dégager le périnée et ainsi reproduire la position de lordose et permettre l'accouplement.

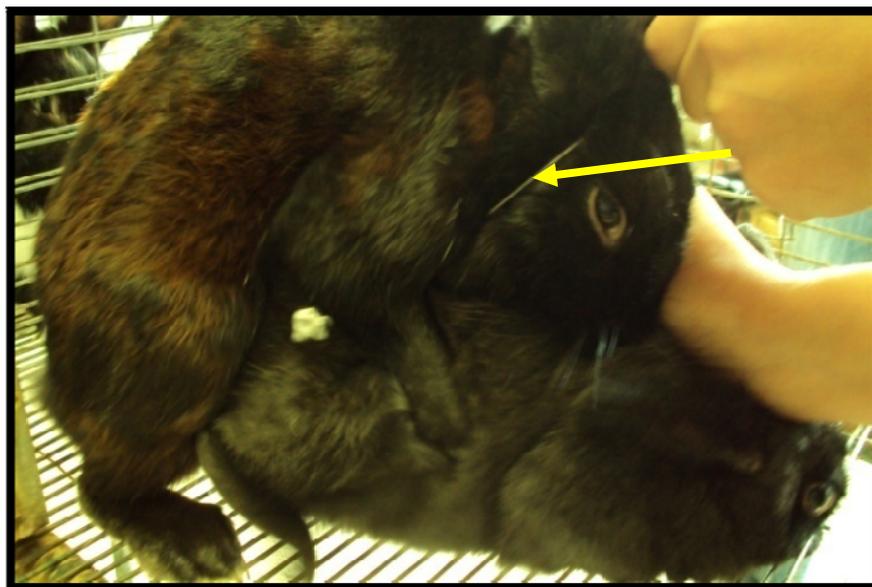


Figure 5.72: Technique de la saillie assistée : Ficelle (flèche) tirée vers l'avant pour dégager le périnée.

Sur 57 lapines, 32 ont été réceptives et 25 ont refusé l'accouplement avec deux mâles. Toutes les lapines ont été sacrifiées à différents stades *post coitum* (0, 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9, 10 et 11-12 heures *p.c.*). Pour chacun de ces stades, respectivement 2, 4, 4, 4, 4, 6, 6, et 6 lapines réceptives et 1, 2, 3, 4, 4, 2, 2 et 3 lapines non- réceptives ont été sacrifiées. Le tractus génital est prélevé. Dès leur exérèse, les ovaires sont fixés dans du formaldéhyde à 10% et déshydratés dans 3 bains successifs contenant des concentrations croissantes d'éthanol (30% ,70%, 100%), puis de xylène. Les ovaires sont ensuite inclus dans des blocs de paraffine, et des coupes longitudinales sériées de 7µm sont réalisées à l'aide d'un microtome de type Leica. Les coupes sont colorées avec l'hématoxyline et l'éosine (HE) selon la technique de Martoja et Martoja-Pierson, 1967 (488). Les observations sont réalisées à différents grossissements sur un microscope de type Motic.

5.2-5-1-2 Protocole Expérimental

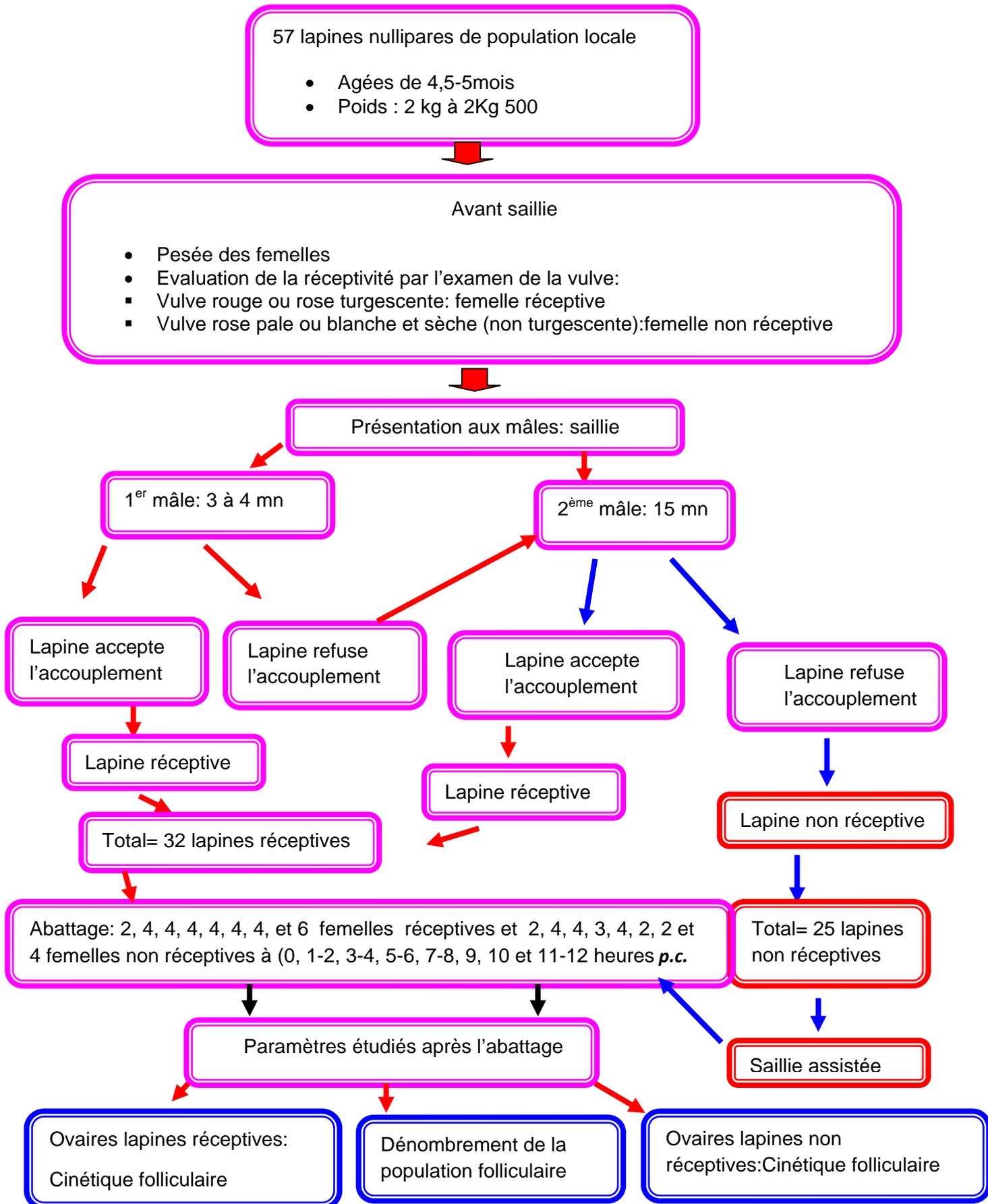


Figure 5.73: Protocole expérimental de l'expérience 2

5.2-5-2 Résultats

5.2-5-2-2 Cinétique de la croissance folliculaire

La cinétique de la croissance folliculaire jusqu'à l'ovulation est présentée sur les lapines qui ont accepté l'accouplement puis sur les lapines qui l'ont refusé et ont subi une saillie assistée.

1. Lapines réceptives

Les lapines réceptives ont subi une saillie naturelle

Stade 0h *p.c.* Sur les deux ovaires des lapines sacrifiées immédiatement après l'accouplement un nombre important de follicules primaires (I), secondaires (II) et tertiaires (III) sont observés. On note la présence d'un maximum de deux follicules cavitaires par ovaire (figure. 5.74). L'ovocyte central est entouré de la *corona radiata* reliée aux cellules de la *granulosa* par le *cumulus oophorus*. Au grossissement 40, la membrane basale paraît intacte, la lumière des capillaires sous la membrane basale étroite. Les cellules de la *granulosa* sont très denses sauf au niveau du *cumulus*.

Stades 1-2h *p.c.* Une à deux heures après la saillie on note surtout une augmentation de la taille de l'*antrum* des follicules III. De plus ceux-ci se rapprochent de la paroi ovarienne (figure. 5.75).

Stades 3-4h *p.c.* Ce stade se caractérise par l'augmentation de la taille et du nombre des follicules cavitaires (figure. 5.76), il n'est pas rare d'en observer de 5 à 6 par ovaire. A ce moment les cellules du *cumulus oophorus* sont étroitement liées aux cellules de la *granulosa* et de la *corona radiata*. A l'intérieur des follicules cavitaires, l'ovocyte toujours en position centrale est entouré par la zone pellucide et les cellules de la *corona radiata* dont les prolongements cytoplasmiques commencent à s'affaiblir (figure. 5.77). Trois heures après l'accouplement, les capillaires péri folliculaires au dessus de la membrane basale commencent à se

dilater. Un léger œdème apparaît dès 4h *p.c* au niveau de la thèque interne (figure.5.78). De plus, des corps de Call et Exner apparaissent dans la *granulosa* des follicules antraux. Ils ont l'aspect d'une vésicule remplie de liquide folliculaire entouré de cellules de *granulosa* (figure. 5.79).

Stades 5-6h *p.c*. De 5 à 6 heures après saillie, le nombre de follicules tertiaires tend à diminuer alors que le nombre de follicules pré ovulatoires augmente. Ces derniers se caractérisent par une position excentrée de l'ovocyte et une cavité folliculaire très large (figure. 5.80). Des changements morphologiques des cellules murales de la *granulosa* apparaissent. En effet, des prolongements cytoplasmiques sont mis en évidence, vraisemblablement au niveau du point de rupture du follicule. Les prolongements cytoplasmiques des cellules de la *corona radiata* observés 3-4 h *p.c* se poursuivent (figure. 5.81). La thèque interne se peuple d'une multitude d'œdèmes (figure.5.82).

Stades 7-8h *p.c*. Sept à huit heures après l'accouplement, on note la présence d'un grand nombre de follicules pré ovulatoires et la quasi absence des follicules tertiaires. A ce stade les ovocytes sont généralement libres dans le liquide folliculaire (figure. 5.83). Les cellules de la *corona radiata* apparaissent filiformes. De plus, la surface externe de la zone pellucide présente des irrégularités en forme d'épines, placées entre les prolongements cytoplasmiques des cellules de la *corona radiata* (figure.5.84). Certains follicules présentent un apex à la surface de l'ovaire (figure.5.85). Au niveau de l'apex du follicule la membrane basale est parfois altérée, préalable de sa rupture.

Stades 9-9h30 *p.c*. La croissance des follicules pré ovulatoires se poursuit (figure 5.86). Entre l'ovocyte et la zone pellucide, il apparaît un espace pouvant être la fente péri vitelline qui hébergera le premier globule polaire (figures. 5.87, 5.88). Dans la *thèque interne*, les œdèmes sont de plus en plus marqués (figure. 5.89). A ce stade sur 6 lapines, aucune ovulation n'a été observée. La lumière des capillaires est très dilatée et leur paroi paraît perméable laissant apparaître les érythrocytes et la membrane basale est détruite en de nombreux points laissant passer les érythrocytes vers la *granulosa* (figure. 5.90).

Stades 10-10h30 *p.c*. Les follicules I, II et III sont présents alors que les follicules pré ovulatoires sont minoritaires. En effet, ceux-ci sont en cours de

rupture mais de manière asynchrone. Après l'ovulation, une hémorragie est visible au niveau du stigma (figures, 5.91, 5.92, 5.93), laissant apparaître des granulocytes et des érythrocytes.

Stades 11-12h *p.c.* Douze heures après l'accouplement les 6 lapines ont toutes ovulé. La plupart des follicules rompus observés à 11h *p.c* sont caractérisés par une invasion d'érythrocytes venant des capillaires de la *thèque interne*, alors que les cellules de la *granulosa* et celles de la *thèque interne* ne sont pas encore luteïnisées. La membrane basale, séparant la *granulosa* de *thèque interne* est fine à certains endroits, ou détruite dans d'autres.

Sur un ovaire, un follicule rompu laisse apparaître un stigma en début de cicatrisation, comme en témoigne la présence des granulocytes (figure. 5.94). Sur le même ovaire on observe un follicule rompu et l'ovocyte en voie d'expulsion (figure. 5.95). A ce stade aucun follicule pré ovulatoire n'est observé.



Figure 5.74: Follicule cavitaire d'une lapine réceptive. Stade 0h *p.c.* Ovocyte (O), *granulosa*(g), *cumulus oophorus* (co), *thèque interne* (thi), *thèque externe* (the) membrane basale, follicule primaire (FP). H.E GX100

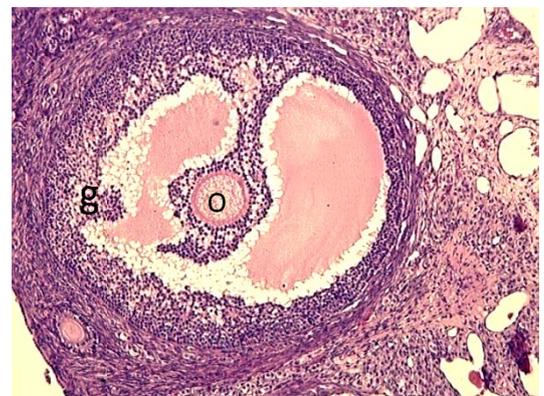


Figure 5.75: Follicule cavitaire à large antrum (a) d'une lapine réceptive. Stade 1 h *p.c.* Ovocyte(O) ; *granulosa* (g). H.E GX100

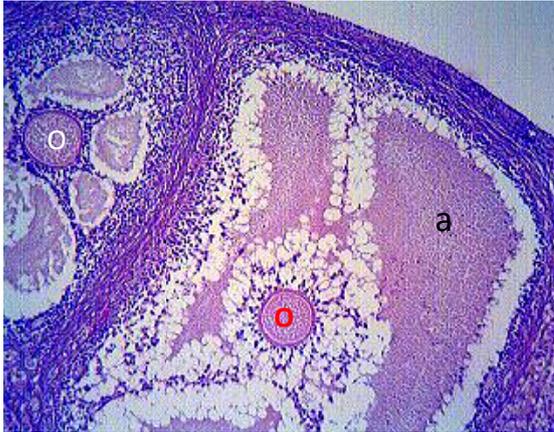


Figure 5.76: Ovaire lapine réceptive stade 3h *p.c.* gros follicules matures. Ovocyte central (O) entouré du cumulus ; antrum (a). H.E GX100

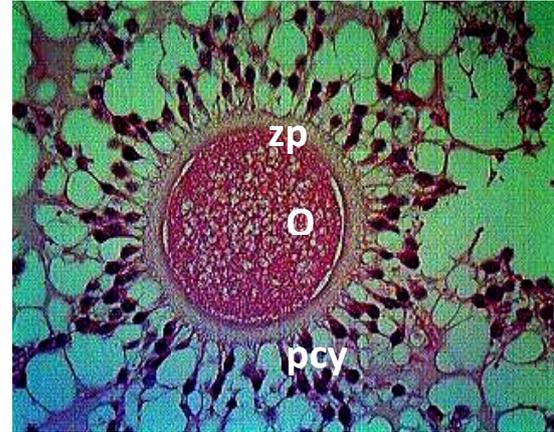


Figure 5.77: Ovaire lapine réceptive stade 3h *p.c.* Ovocyte central (O) entouré de la zone pellucide (zp) et de longs prolongements cytoplasmiques des cellules du cumulus (pcy), H.E GX400



Figure 5.78: Ovaire lapine réceptive 4h *p.c.* Capillaire dilatée (ca). Erythrocytes (E), *Thèque interne* (thi) ; Membrane basale (mb) ; Cellules murales de la *granulosa* (cmg). H.E. GX400

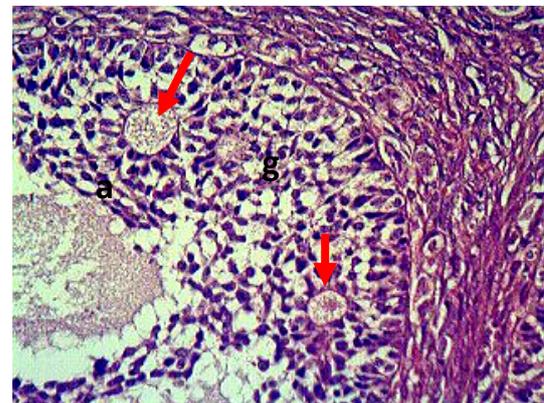


Figure 5.79: Ovaire lapine réceptive 4h *p.c.* Antrum (a), *granulosa* (g) ; Corps de Call Exner (CEx fêches), H.E.GX100.

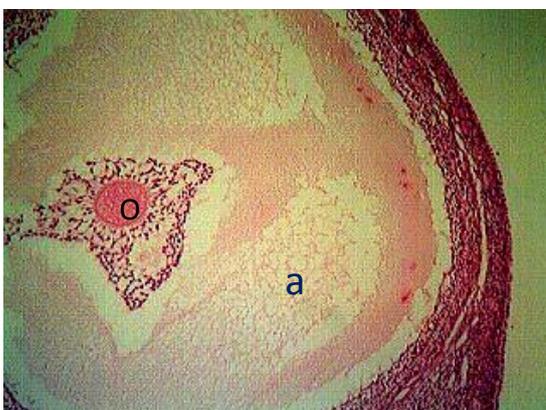


Figure 5.80: Ovaire lapine réceptive 6h *p.c.* Antrum (a) ; Ovocyte en position excentrée (O), H.E. GX100

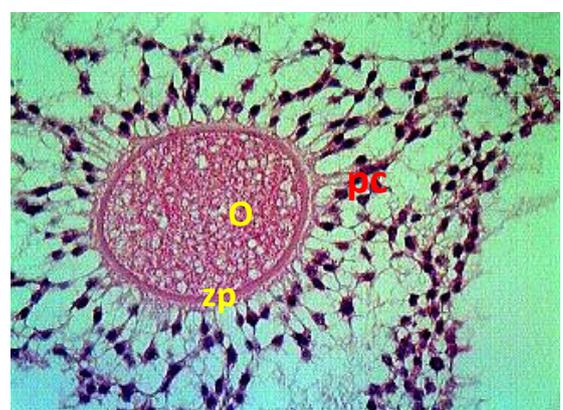


Figure 5.81: Ovaire lapine réceptive 6 h *p.c.* Antrum (a) ; Ovocyte (O) ; Zone pellucide (zp) ; longs prolongements cytoplasmiques (pc) .H.E.GX400.

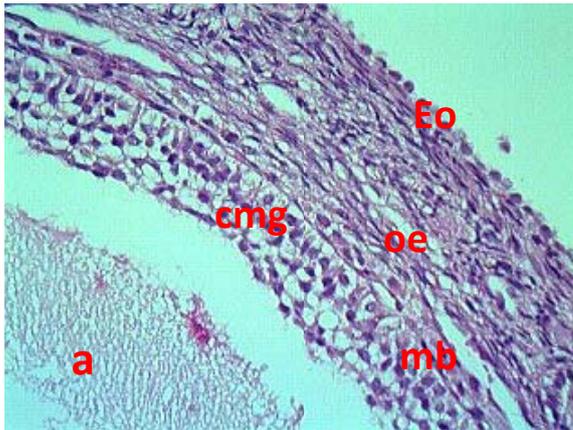


Figure 5.82: Ovaire lapine réceptive 6h p.c. Antrum (a) ; Cellules murales de la *granulosa* (Cmg) ; Membrane basale (mb) ; Oedème dans la *thèque interne* (oe) ; Epithélium ovarien (Eo).H.E.GX100.

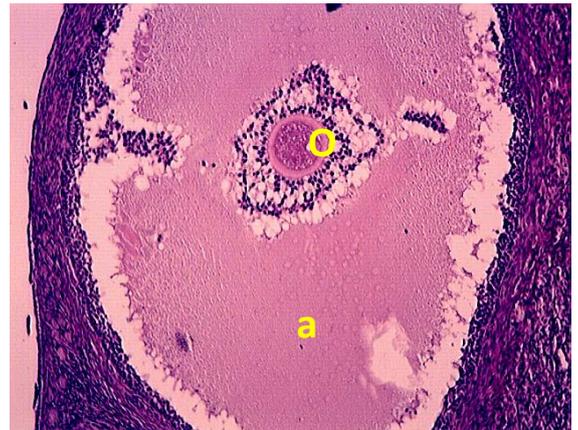


Figure 5.83: Ovaire lapine réceptive 8h p.c .Antrum (a) ; Ovocyte libre dans le liquide folliculaire (O).H.E.GX100.

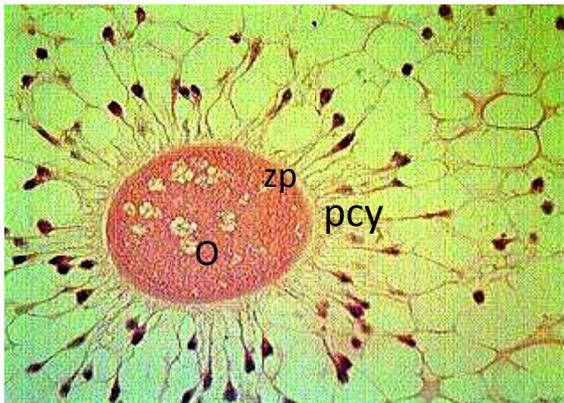


Figure 5.84: Ovocyte (O) libre d'un follicule pré ovulatoire d'une lapine réceptive. 8 h p.c zone pellucide (zp) ; Prolongements cytoplasmiques (pcy), H.E GX400.

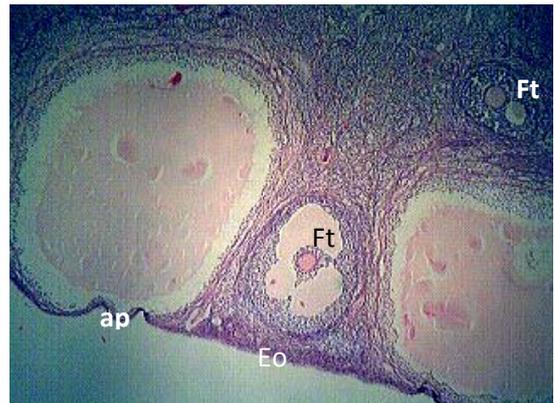


Figure 5.85: Ovaire de lapine 8hp.c. Deux gros follicules proches de l'épithélium ovarien (Eo), avec apex (ap) à la surface probablement point de rupture), follicule tertiaire (Ft). H.E. GX100.

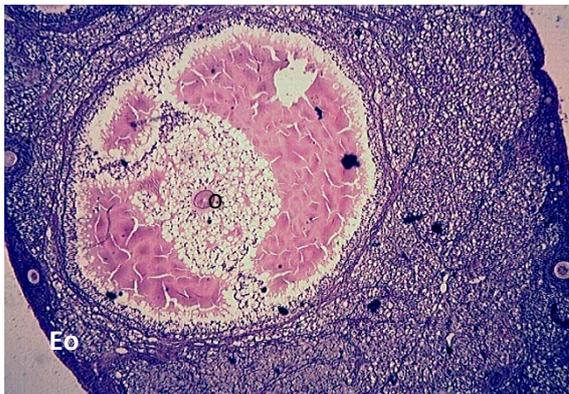


Figure 5.86: Ovaire de lapine 9h30 p.c. Follicule pré ovulatoire avec sommet tourné vers l'épithélium ovarien (Eo) ; l'ovocyte est libre (O) H.E. GX100.



Figure 5.87: Ovaire de lapine 9h30 p.c. Ovocyte (O), (agrandissement de photo 5.86) ; Fente péri vitelline (flèche), zone pellucide (zp).H.E GX 400

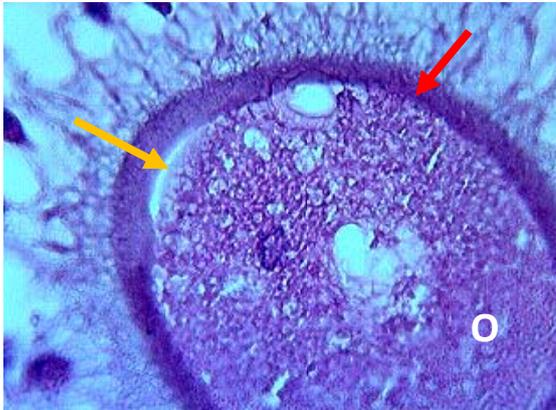


Figure 5.88: Ovaire de lapine 9h30 *p.c.* Ovocyte (O), d'un follicule pré ovulatoire (agrandissement de photo 5.87), Fente périvitelline (flèche orange); Zone pellucide (flèche rouge).H.E GX 1000.

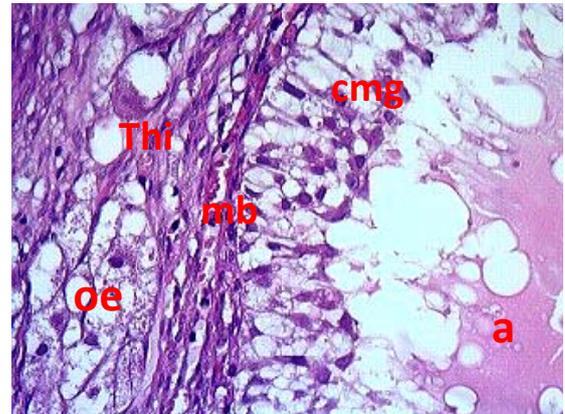


Figure 5.89: Ovaire de lapine 9h30 *p.c.* Antrum (a) ; Cellules murales de la *granulosa* (cmg) ; Membrane basale (mb) ; Oedème (oe) très accentué dans la *thèque interne* (thi).H.E. GX400.

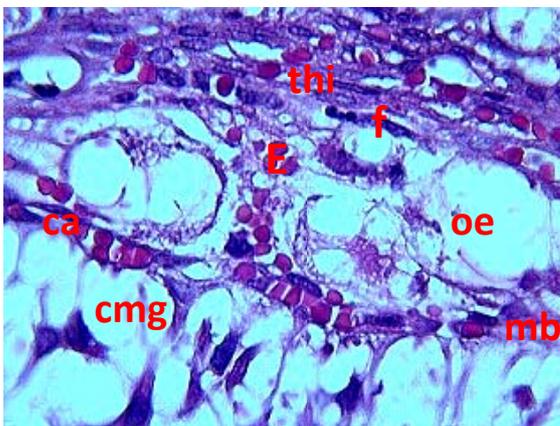


Figure 5.90: Ovaire de lapine 9h30 *p.c.* Noyaux des cellules murales de la *granulosa* (cmg), membrane basale (mb) partiellement détruite ; Odème (oe) très marqué dans la *thèque interne* (thi), lumière du capillaire (ca) très dilatée laissant passer les érythrocytes (E) vers la *thèque interne* (hyperémie). Fibroblastes(f) ; H.E. GX1000.

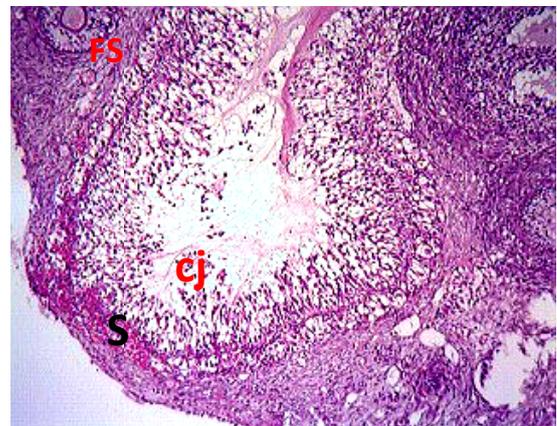


Figure 5.91: Ovaire de lapine 10h30 *p.c.* follicule après rupture et début de lutéinisation et formation d'un jeune corps jaune (cj). Au contact de l'épithélium, on note la présence du stigma (S). Follicule secondaire (FS). H.E. GX400.

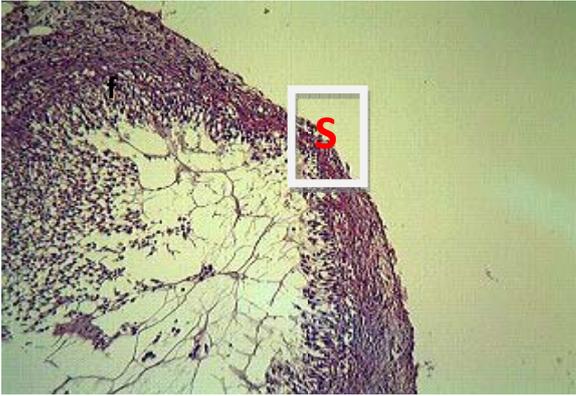


Figure 5.92: Ovaire de lapine réceptive 10h30 *p.c.* Follicule post ovulatoire et début de lutéinisation. Stigma en encadré (S) H.E. GX400.

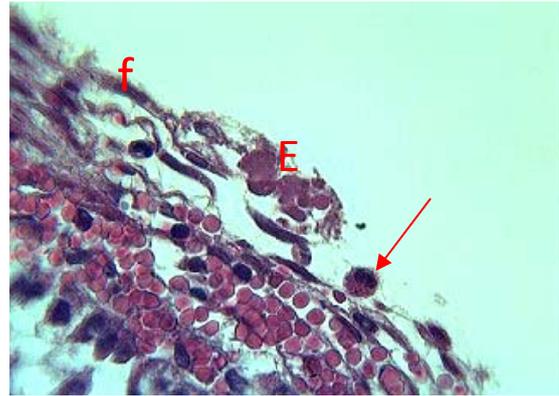


Figure 5.93: Région du stigma en cours de cicatrisation; Fibroblaste (f), Erythrocytes (E), Granulocytes (gr flèche). H.E GX1000.

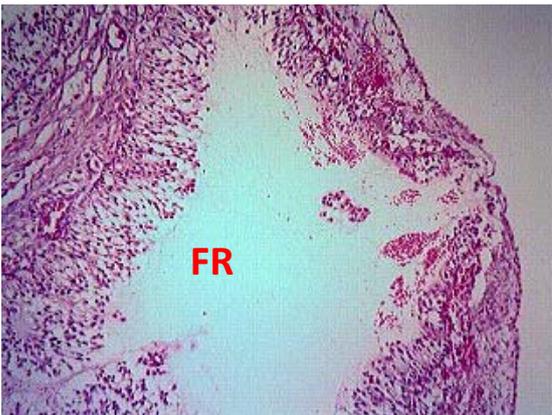


Figure 5.94: Ovaire lapine réceptive 11h *p.c.* Follicule rompu (FR) et lutéinisation. H.E.GX 400.

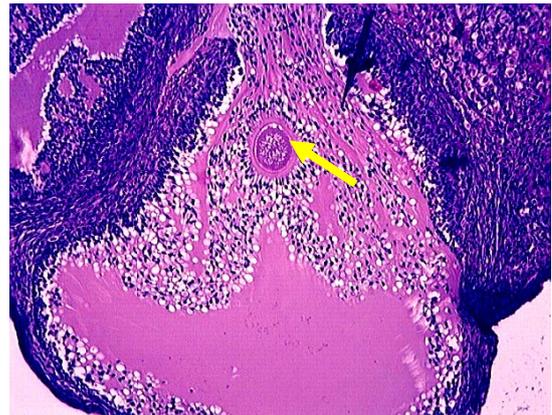


Figure 5.95: Ovaire lapine réceptive 11h *p.c.* Ovocyte (flèche) en voie d'expulsion H.E.GX 400.

2. Lapines non réceptives

Les lapines non-réceptives ont subi une saillie assistée.

Stade 0h *p.c.* A la périphérie de l'ovaire, les follicules primaires, secondaires et tertiaires sont nombreux. Sur la seule lapine sacrifiée immédiatement après la saillie assistée, un seul follicule cavitaire est observé.

L'ovocyte est sphérique (figures 5.96, 5.97). Les capillaires au dessus de la membrane basale sont étroits et contiennent peu d'érythrocytes. Aucun œdème n'est visible au niveau de l'albuginée et des thèques (figure 5.98), par contre on note la présence de corps de Call et Exner dans la *granulosa* des follicules tertiaires (figure 5.99).

Stade 1-2h *p.c.* Sur les deux lapines sacrifiées une à deux heures après la saillie assistée, on observe des follicules primaires, secondaires et tertiaires. Quelques follicules cavitaires ayant un ovocyte central sont proches de la périphérie de l'ovaire, on note la présence de plusieurs follicules atrétiques, ces follicules contiennent plusieurs corps de Call et Exner (figures 5.100, 5.101).

Stade 3-4h *p.c.* Trois lapines ont été observées 3 à 4 heures après la saillie assistée. Elles présentent beaucoup de follicules atrétiques dans le stroma ovarien, et un faible nombre de follicules cavitaires (figure 5.102) dans le cortex ovarien. L'ovocyte arrondi est en position excentrée, les cellules de la *corona radiata* entourent la zone pellucide (figure 5.103). Les cellules murales de la *granulosa* sont intimement liées à la membrane basale qui est intacte à ce stade. La lumière des capillaires au dessus de la membrane basale, est étroite et ne révèle pas d'érythrocytes. On note une absence totale d'œdème dans la thèque interne ou externe et dans l'albuginée (figure 5.104). Cependant, certains follicules cavitaires contiennent un ovocyte de forme irrégulière (figures 5.105, 5.106).

Stade 5-6h *p.c.* Sur les 4 lapines observées, les follicules atrétiques sont les plus nombreux, cependant, toutes présentent des follicules tertiaires et quelques follicules cavitaires. L'ovocyte est central, les cellules du *cumulus oophorus* sont toujours liées à celles de la *granulosa* et de la *corona radiata*. Sur un follicule d'une seule lapine, un œdème apparaît à ce stade au niveau de la thèque interne (figure 5.107).

Stade 7-8h *p.c.* Sur les ovaires des 4 lapines, on observe plusieurs follicules secondaires quelques follicules tertiaires à la périphérie de l'ovaire et de 3 à 4 follicules cavitaires éloignés de la paroi ovarienne. Dans ces derniers, l'ovocyte a parfois perdu sa forme sphérique (figure 5.108), toujours en position centrale, il est vraisemblablement en cours de dégénérescence. A 8 heures *p.c.*, nous ne retrouvons pas chez les lapines non-réceptives, les prolongements

cytoplasmiques des cellules de la *corona radiata* mis en évidence à ce même stade chez les lapines réceptives (Figure 5.77). On note un début de dissociation entre les cellules du *cumulus oophorus* et celles de la *granulosa*. La zone pellucide semble très compacte. La lumière des capillaires autour de la membrane basale est légèrement dilatée. Contrairement aux lapines réceptives, la membrane basale du follicule est à ce stade toujours intacte. Quelques œdèmes sont observés dans la thèque interne de ces follicules cavitaires, ils sont absents de l'albuginée qui est compacte (figure 5.109).

Stade 9-10 h *p.c.* Sur les 4 lapines sacrifiées de 9 à 10 heures après la saillie assistée, les follicules pré ovulatoires sont généralement plus nombreux et plus proches de la paroi ovarienne, l'ovocyte est légèrement en position légèrement excentrée (figure 5.110), la membrane basale toujours intacte. La lumière des capillaires est légèrement plus dilatée, révélant quelques érythrocytes. Des œdèmes sont présents seulement dans la *thèque interne*. A 10 heures *p.c.* aucun corps jaune n'est encore observé.

Stade 11-12 h *p.c.* Douze heures après la saillie assistée, aucune des 3 lapines n'a ovulé. Sur chaque ovaire, une dizaine de follicules secondaires sont à la périphérie de l'ovaire, 2 à 3 follicules tertiaires dans le stroma ovarien et seuls 1 à 2 follicules pré ovulatoires, éloignés de la paroi ovarienne, sont visibles (figures 5.111, 5.112, 5.113). Dans le cas d'une seule lapine, la lumière des capillaires de l'un des follicules cavitaires est plus dilatée et présente un œdème dans la *thèque interne*, (figure 5.114). De nombreux follicules présentent des signes d'atrésie.

Quelle que soit la réceptivité des lapines, l'épithélium ovarien est composé de cellules cylindriques qui se transforment par endroits en cellules arrondies, si elles sont placées près d'un follicule immature pré antral ou pré ovulatoire prêt à se rompre. A l'intérieur des cellules de l'épithélium ovarien on note la présence de granules (figures 5.115, 5.116).



Figure 5.96: Ovaire lapine non réceptive 0h *p.c.* Follicule cavitaire avec ovocyte central arrondi (O).H.E. GX100



Figure 5.97: Ovaire lapine non réceptive 0h *p.c.* Ovocyte (O) ; Chromatine (flèche); entouré de la zone pellucide (zp). H.E.GX1000

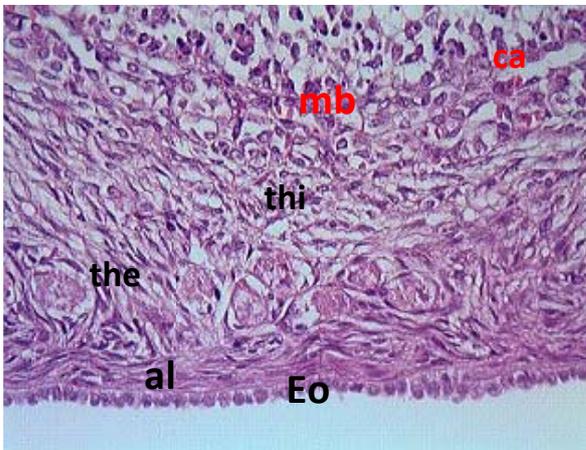


Figure 5.98: Ovaire lapine non réceptive 0 h *p.c.* Epithélium ovarien (Eo) ; Albuginée (al) ; *Thèque externe* (the) ; *Thèque interne* et absence d'œdème (thi) ; Membrane basale (mb), et (ca).H.E.GX400.

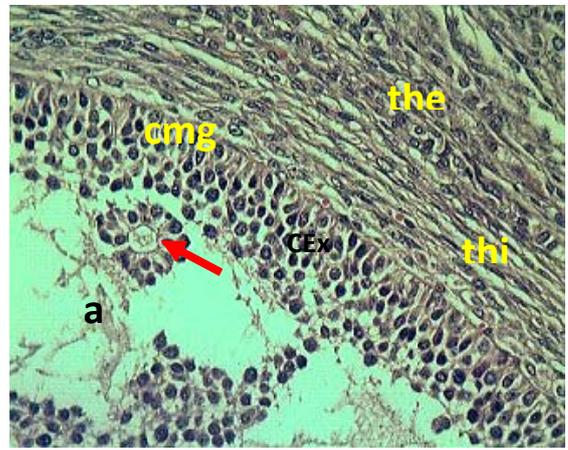


Figure 5.99: Ovaire lapine non réceptive 0 h *p.c.* Antrum (a) ; Cellules murales de la granulosa (cmg) ; Corps de Call et Exner (CEx flèche) ; *Thèques interne* et *externe*. (thi,e).H.E.GX100.

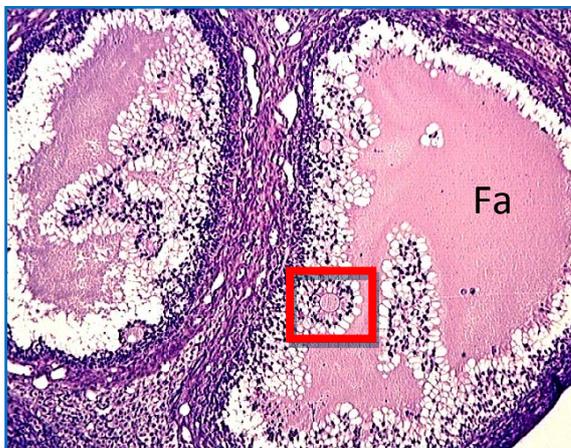


Figure 5.100: Ovaire lapine non réceptive 2 h *p.c.* follicule atrétique (Fa). Corps de Call et Exner (encadré) H.E.GX400.

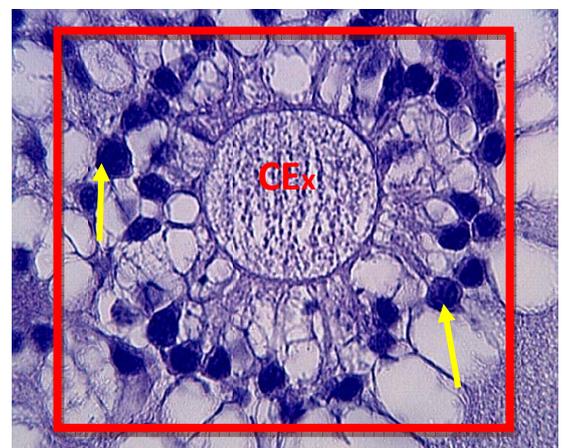


Figure 5.101:Ovaire lapine non réceptive 2 h *p.c.* Corps de Call et Exner (CEx) (encadré) ; Noyaux des cellules de la *granulosa* (flèches) H.E.GX400.

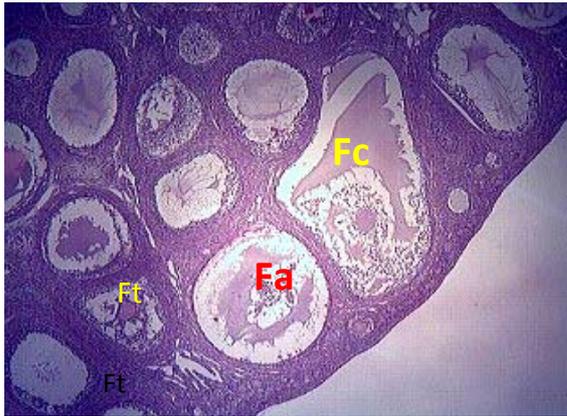


Figure 5.102 : Ovaire lapine non réceptive 4h *p.c.* Follicule cavitaire (Fc); Follicule atretique (Fa); follicule tertiaire (Ft).H.E. GX400



Figure 5.103: Ovaire lapine non réceptive 4 h *p.c.* Ovocyte (O).Sur la zone pellucide (zp) repositent de longs prolongements cytoplasmiques .H.E.GX400

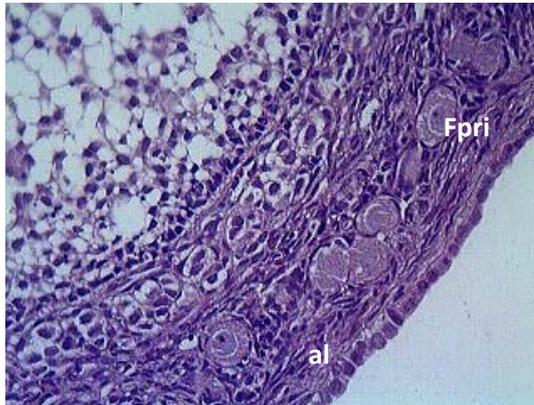


Figure 5.104: Ovaire lapine non réceptive 4h *p.c.* Follicules primordiaux (Fpri) en dessous de l'albuginée (al) H.E.GX 100.



Figure 5.105: Ovaire lapine non réceptive 3h *p.c.* Follicule cavitaire avec ovocyte encadré (O) de forme irrégulière.2 follicules atretiques (Fa) H.E.GX400

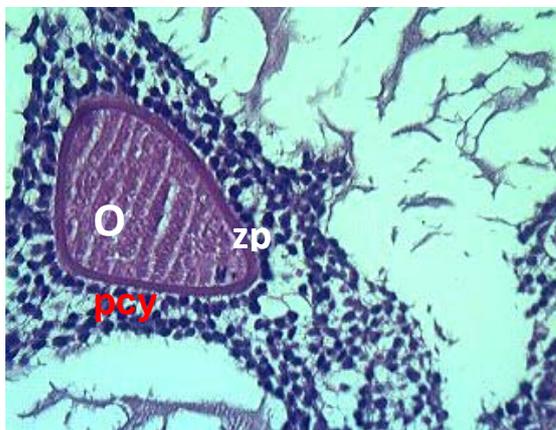


Figure 5.106: Ovaire lapine non réceptive 3h *p.c.* Ovocyte O de forme irrégulière, la zone pellucide paraît épaisse (zp), les prolongements cytoplasmiques des cellules du cumulus (pcy) H.E.GX400

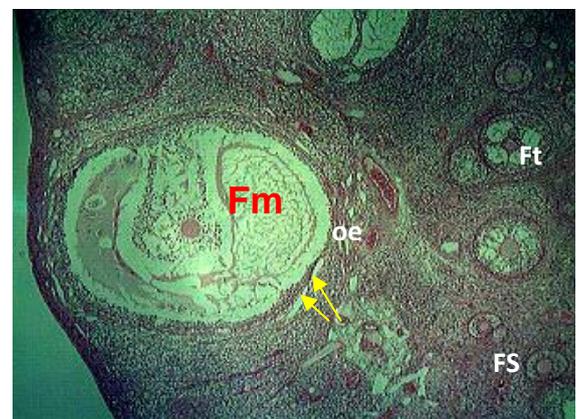


Figure 5.107: Ovaire lapine 6h *p.c.* secondaire (FS) et tertiaire (Ft), gros follicule mature (Fm), ovocyte toujours central à ce stade, léger œdème (oe : flèches). H.E.GX400



Figure 5.108: Ovaire lapine non réceptive 8h *p.c.* Follicules primaires (FP) ; Follicule secondaire (FS) ; Follicule tertiaire (Ft). Ovocyte de forme irrégulière (flèches), H.E.GX400

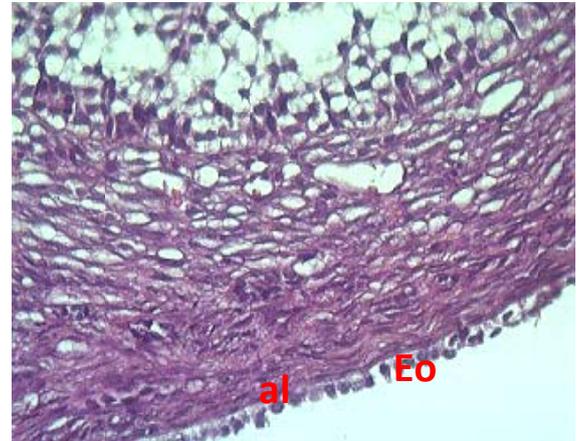


Figure 5.109: Ovaire lapine non réceptive 8h *p.c.* Epithélium ovarien (Eo); Albuginée (al); H.E GX400

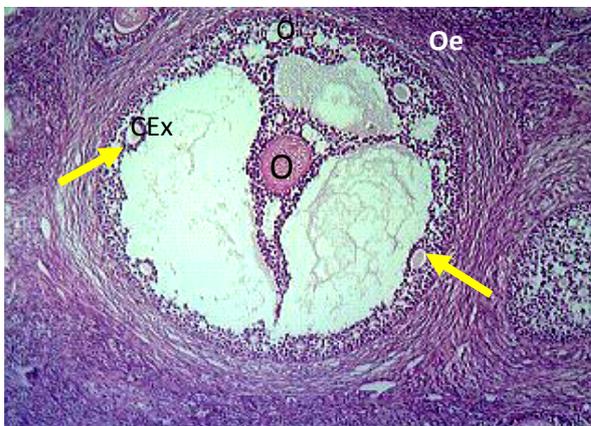


Figure 5.110: Ovaire lapine non réceptive 10h *p.c.* Ovocyte de forme irrégulière (O), excentrée associée aux cellules du cumulus, œdème (Oe) dans la thèque interne ;(Corps de Call et Exner (CEX flèches).H.E.GX400

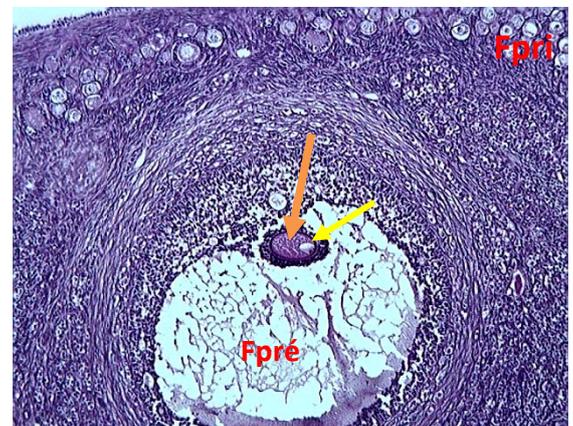


Figure 5.111: Ovaire lapine non réceptive 11h *p.c.* Follicule pré ovulatoire (Fpré) éloigné de la paroi ovarienne ; Ovocyte (flèche orange) et noyau en position excentrée (flèche jaune); Follicules primordiaux(Fpri).H.E.GX400

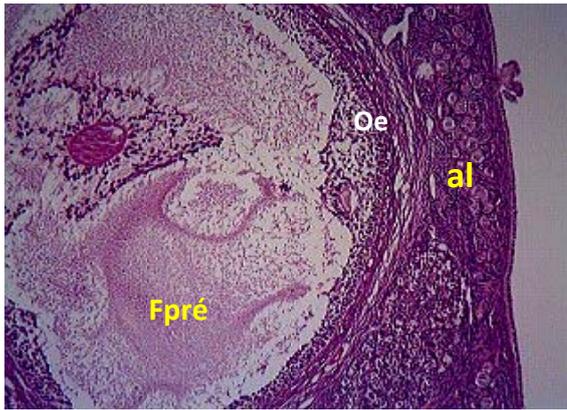


Figure 5.112: Ovaire lapine non réceptive 11h *p.c.* Oedème (Oe) dans la *thèque interne*. Follicule pré ovulatoire (Fpré) proche de l'albuginée (al). H.E.GX400

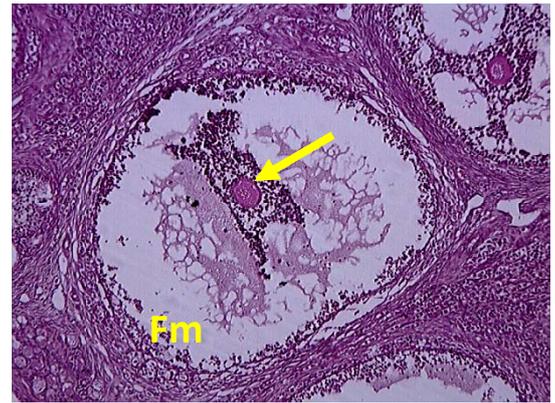


Figure 5.113: Ovaire lapine non réceptive 11h *p.c.* Follicule mature (Fm) ; Ovocyte (flèche) H.E.GX100

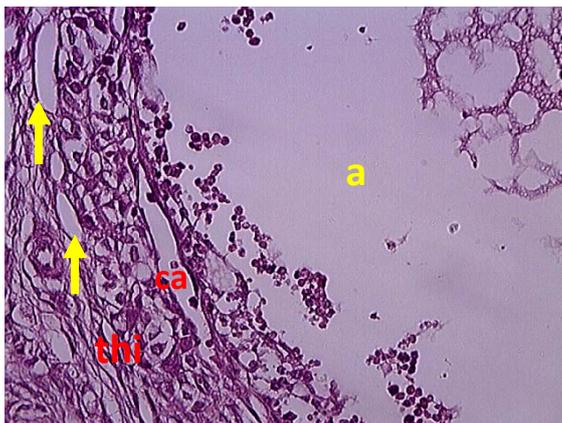


Figure 5.114: Ovaire lapine non réceptive 11h *p.c.* Antrum (a) ; Oedèmes (flèches) ; Lumière de capillaire (ca) ; *Thèque interne* (thi) .H.E.GX100

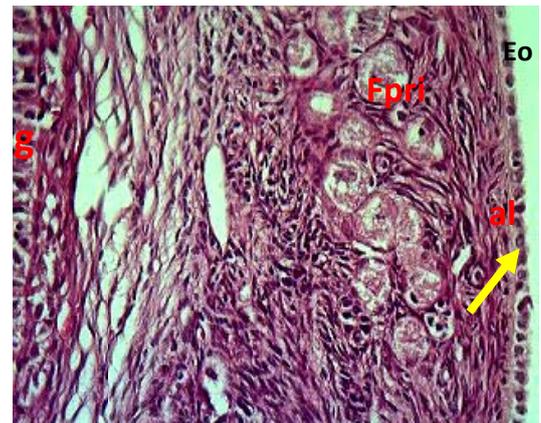


Figure 5.115: Ovaire lapine non réceptive 11h *p.c.* *Granulosa* (g) ; Follicules primordiaux (Fpri) ; albuginée (al) ; Epithélium ovarien (Eo) cellules arrondies avec granules (flèche). H.E.GX100

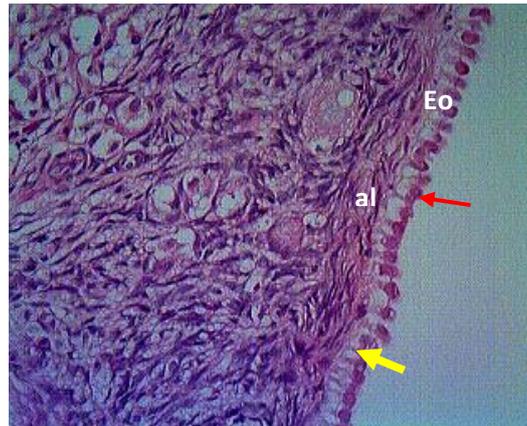


Figure 5.116: Ovaire lapine non réceptive 11h *p.c.* Epithélium ovarien (Eo) cellules de forme cylindrique (flèche jaune); granules (flèche rouge) albuginée (al); H.E.GX100

5.2-5-2-3 Dénombrement de la population folliculaire après la saillie:

Les différentes populations folliculaires dans les ovaires des lapines réceptives et non réceptives de 0 à 12 heures *post coïtum* sont présentées dans les figures (5.117 et 5.118).

5.2-5-2-3-1 Femelles réceptives

Chez les lapines réceptives, les follicules primaires et secondaires sont nombreux (> 6) jusqu'à 3 à 4 heures *p.c.*, mais on note une chute drastique de leur nombre de 7 à 8 heures jusqu'à 10 heures *p.c.* (2,5 et 4,3 respectivement, figure 5.117) et ensuite il augmente fortement jusqu'à 11 à 12 heures *p.c.* (14,0 et 15,5 respectivement).

Deux heures après l'accouplement, le nombre de follicules tertiaires et pré ovulatoires est faible (1,9 et 3,0, respectivement). A partir de 4h *p.c.* le nombre de follicules tertiaires diminue progressivement jusqu'à 10h alors que le nombre de follicules pré ovulatoires reste tout à fait constant. A partir de 10H *p.c.* nous assistons à la première ovulation et une heure plus tard le nombre de follicule tertiaire augmente à nouveau de 0, 5 à 4,3.

5.2-5-2-3-2 : Femelles non réceptives

Chez les lapines non réceptives, le nombre de follicules primaires augmente de 0 à 5 jusqu'à 6 h *p.c.* (10,3 et 16,2 respectivement, figure 5.118). A la saillie, le nombre de follicules secondaires diminue puis augmente graduellement de 1 à 2 heures jusqu'à 7 et 8 heures *p.c.* (8,9 et 15,4, respectivement). Ensuite, le nombre de follicules de ces deux populations décroît jusqu'à 10 heures *p.c.* (9, 8 et 10, 8 respectivement). Alors que le nombre de follicules tertiaires est faiblement variable, le nombre de follicules pré ovulatoires croît jusqu'à 3 à 4 heures *p.c.* (10,8). Il demeure plus ou moins stable jusqu'à 7 à 8 heures *p.c.* puis diminue jusqu'à 12 heures *p.c.* (4,8). On a noté l'absence de corps jaune avec stigma. Chez les femelles non réceptives, le manque d'ovulation résulte dans un manque de croissance des follicules secondaires et tertiaires par contraste avec les femelles réceptives.

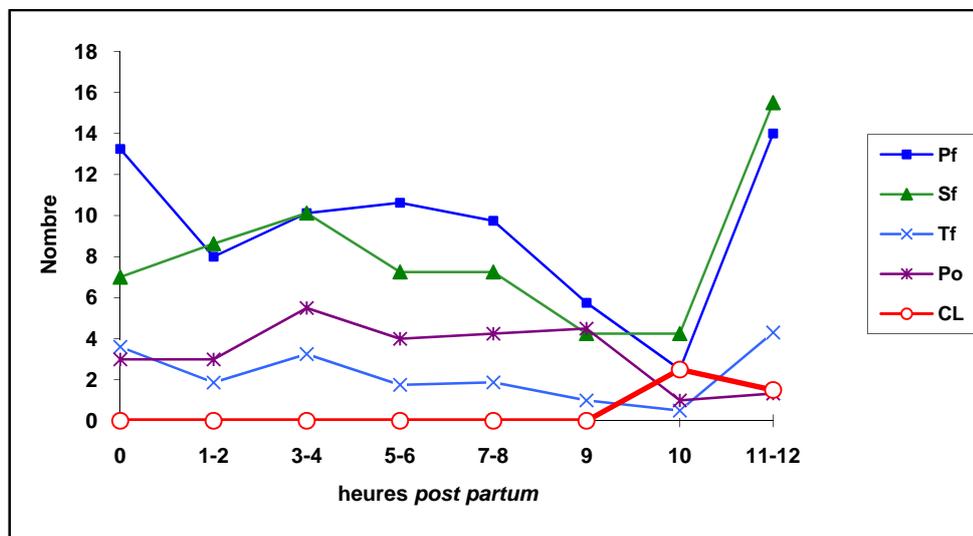


Figure 5.117: Dénombrement des différentes populations folliculaires dans les heures suivant l'accouplement chez les lapines réceptives (n=32).

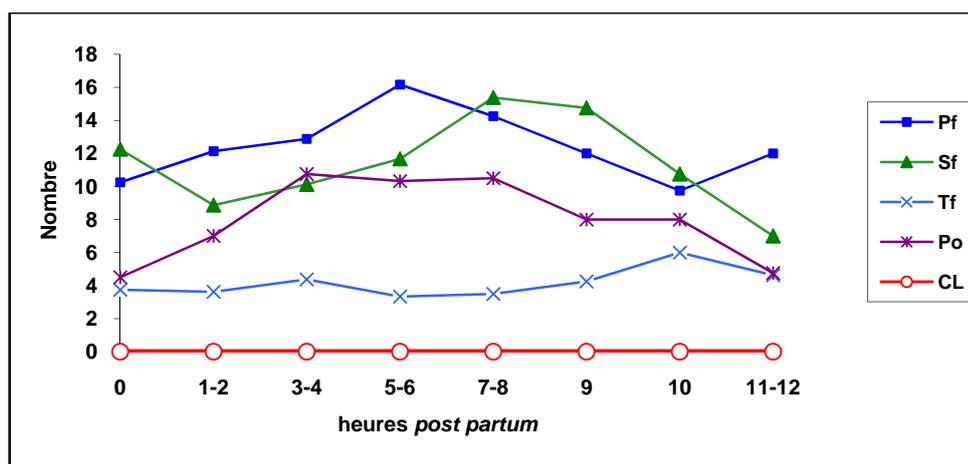


Figure 5.118: Dénombrement des différentes populations folliculaires dans les heures suivant l'accouplement chez les lapines non réceptives (n=25).

5.2-5-3 Discussion

Lapine réceptive. Au moment de l'accouplement, les lapines réceptives ont de nombreux follicules primaires, secondaires et tertiaires, mais peu de follicules cavitaires. L'ovocyte central est entouré de la zone pellucide et de la *corona radiata*, reliée aux cellules de la *granulosa* par le *cumulus oophorus*. La membrane basale des follicules cavitaires paraît intacte et la lumière des capillaires sub-jacents, étroite. Trois à quatre heures après, la taille et le nombre des follicules cavitaires augmentent, les cellules de la *corona radiata* commencent à émettre des prolongements cytoplasmiques. De plus, on assiste, ainsi que l'ont observé Okuda et al, 1983 [370] à un début de dilatation des capillaires périfolliculaires et sub-jacents à la membrane basale, suivi de l'apparition d'un œdème au niveau de la *thèque interne* et qui coïncide avec un pic d'œstrogènes à 3h *post coïtum* produit au niveau des cellules thécales tel que décrit par Cherney et al, 1975 [25]. Cet exsudat est probablement dû à l'augmentation de la perméabilité vasculaire suite à l'effet vasodilatateur des œstrogènes [25]. Cinq à six heures après l'accouplement, l'*antrum* est très important repoussant l'ovocyte en position excentrée et les œdèmes s'intensifient dans la *thèque interne*. A la sixième heure, la dissociation des cellules de la *granulosa* est plus importante, la plupart des cellules restent attachées à la membrane basale par de longs processus cytoplasmiques. Cherney et al, 1975 [25] ont reporté les mêmes

observations. Huit heures après la saillie, l'ovulation se prépare. En effet, les ovocytes entourés de quelques cellules filiformes de la *corona radiata*, sont généralement libres dans le liquide folliculaire, à ce stade, la membrane basale s'amincit et un ou plusieurs apex apparaissent à la périphérie de l'ovaire. La compression à 8 heures des vaisseaux sanguins, coïncide avec le pic de croissance du follicule juste avant sa rupture et intervient dans le développement d'une zone pâle avasculaire (stigma) [22]. Une augmentation de l'accumulation de fluide a été notée à ce stade. L'épithélium de surface semble poussé comme une boursouffure en raison de l'accumulation du fluide sub épithélial. Les espaces remplis de liquide entre les éléments du tissu conjonctif de l'albuginée et de la *thèque externe*, semblent avoir augmenté [25]. Une heure après, l'extrême dilatation des capillaires autorise le passage des érythrocytes. En effet, Chez la ratte, Palotie et al, 1984 [457] ont reporté qu'après la décharge en LH, la membrane basale subit en phase précoce pré ovulatoire, une dissolution rapide facilitant ainsi la perforation de la portion apicale du follicule et le passage du complexe ovocytaire ainsi que l'infiltration basale de la thèque et des éléments vasculaires durant la formation du corps jaune.

Chez la ratte, Tanaka et al, 1989 [458], ont montré que la décharge en LH pré ovulatoire cause des changements marqués autour du réseau capillaire périfolliculaire de la *thèque interne*, comme un flux sanguin accru, augmentation de la lumière vasculaire, de la perméabilité de la paroi des capillaires et exsudation de sang vers le stroma péricapillaire. Le saignement et l'accumulation considérable de granulocytes ont été observés à proximité du point de rupture du follicule fraîchement rompu [459]. Seulement deux femelles observées ont ovulé douze heures après l'accouplement et seulement un follicule rompu a été observé pour chacune. Par conséquent, il semble qu'à 12 heures *post coïtum*, l'ovulation n'est pas encore achevée chez les lapines réceptives.

La première ovulation est observée à dix heures 30 mn *p.c.*, Elle ne se fait pas simultanément pour tous les follicules. Cherney et al, 1975 [25], ont pu identifier différents stades folliculaires allant d'une demi-heure avant rupture d'un follicule mûr (ovulation) à une demi-heure après l'ovulation. Au sommet des jeunes corps jaunes on a noté une hémorragie visible au niveau du stigma du follicule rompu. C'est un afflux important d'érythrocytes accompagnés de

polynucléaires neutrophiles. Peu après la décharge ovulante, se produisent une augmentation du flux sanguin ovarien, associée à une hyperémie dues à une vasodilatation, et une augmentation de la perméabilité vasculaire. Peu avant l'ovulation se produit une vaso-constriction principalement localisée à l'apex du follicule où l'ischémie est totale. Dans l'ensemble de la thèque, ont lieu des ruptures des vaisseaux et des microthromboses puis une angiogénèse, prémices de la formation du corps jaune [25 ; 460].

Tout au long de nos observations, il nous a pas été possible comme certains auteurs [25] d'observer un follicule rompu depuis peu, cependant on a pu observer à 11 heures uniquement un follicule post ovulatoire. Les vaisseaux sanguins péri folliculaires sont très dilatés, un nombre important d'érythrocytes s'échappent depuis la lumière et traversent la *granulosa*, on note aussi la présence de polynucléaires neutrophiles qu'on voit même au sommet au contact de l'épithélium dégénéré phénomène initialement décrit par d'autres auteurs chez différentes espèces.

Cette agrégation granulocytaire permet la dégradation au niveau de l'apex de la matrice extra cellulaire par l'intermédiaire de MMP spécifique comme la MMP-8 (Neutrophile elastase) déjà décrite par Vaday et al, 2001 [461], au niveau d'ovaires en ovulation, facilitant ainsi la ponte ovulaire. Cependant, leur présence a été signalée par d'autres auteurs à différents niveaux du follicule plus précisément dans les couches cellulaires de la *granulosa* rejoignant ainsi le liquide folliculaire. Ces derniers étaient surtout présents du côté latéral et basal du follicule, observation déjà décrite par Bjersing et Cajander, 1974a [24].

L'invasion des thèques périfolliculaires de polynucléaires neutrophiles après la décharge en LH a été démontrée chez la femme [462], chez le rat [463], le mouton [464], particulièrement proches de l'apex folliculaire. Toutes les lapines observées douze heures après l'accouplement ont ovulé.

Lapine non réceptive. Les premières heures après la saillie assistée, les lapines non réceptives se caractérisent par un nombre très faible de follicules cavitaires et beaucoup de follicules atrésiques. Dès trois heures après

l'accouplement, quelques ovocytes présentent une forme irrégulière et à ce stade, contrairement aux lapines réceptives, notre résultat sur la possibilité que l'ovocyte subit une dégénérescence en perdant sa forme sphérique normale comme observé dans les follicules atrésiques est en conformité avec ceux de Kobayashi et al, 1981 [465], qui ont noté que les ovocytes étaient considérés comme dégénérés si une perte de la forme normale de l'ovocyte était observée et il est aussi évident que les ovocytes ayant été retenus dans le follicule ont commencé à dégénérer. En plus, Mariana et al, 1991 [466], ont reporté que parmi les changements se produisant pendant l'atrésie, l'activité pycnotique au sein de la *granulosa* et / ou la distorsion ou la fragmentation de l'ovocyte sont considérés comme critères spécifiques.

Walton et Hammond, 1928 [22], ont rapporté les mêmes observations que ceci pouvait représenter une étape dans le processus d'expulsion mais l'ovocyte apparut anormal mais il paraît plus probable que les follicules étaient en processus de devenir atrésiques et il est possible que le processus de dégénérescence de l'ovocyte peut contribuer à un défaut d'ovulation [465]. En effet, Testart et al, 1983 [467], ont rapporté que lorsque les follicules ont ovulé, les masses cellulaires de la *granulosa* étaient vues être bien préservées et lorsque certains follicules n'ayant pas ovulé, à peu près 50% de ces follicules souvent de taille plus large leur membrana granulosa est en atrésie. Chez la ratte, Devine et al, 2000 [468], ont montré que les follicules atrésiques étaient identifiés par les cellules pycnotiques de la *granulosa* et par l'altération de la forme de l'ovocyte à partir d'une forme uniformément d'apparence arrondie. Les premiers signes d'atrésie de larges follicules incluent les caractéristiques bien établis de l'apoptose des cellules de la *granulosa* et la perte de contact entre l'ovocyte et les cellules de la *granulosa* qui l'entoure. Comme l'atrésie progresse il existe une perte substantielle de cellules de la *granulosa* avant que l'ovocyte soit grossièrement affecté. Des études sur l'atrésie de larges follicules ovariens chez la ratte, Tabarowski et al, 2005 [469] ont rapporté que le processus d'atrésie était clairement visible sur les follicules où les ovocytes sont déformés, et le processus de fragmentation devient visible et les cellules du cumulus exhibent des changements dégénératifs.

On n'observe pas de prolongements cytoplasmiques des cellules de la *granulosa*, la lumière des capillaires reste étroite et aucun œdème de la *thèque*

interne n'est encore mis en évidence. Cinq heures après l'accouplement, les quelques follicules cavitaires observés, ont un ovocyte en position centrale et une seule lapine présente un début d'œdème au niveau de la *thèque interne*. Huit heures après l'accouplement, les lapines non réceptives présentent seulement quelques follicules cavitaires éloignées de la paroi ovarienne, les ovocytes ont une forme irrégulière et semblent dégénérés, la zone pellucide est très compacte, les prolongements cytoplasmiques des cellules de la *corona radiata* sont absentes, la membrane basale est toujours intacte et le début de dilatation des capillaires démarre chez une seule lapine, seuls quelques œdèmes sont observés dans la *thèque interne*. De même, la position excentrée de l'ovocyte mise en évidence dès cinq heures chez les lapines réceptives, n'apparaît qu'à neuf heures chez les lapines non réceptives. Douze heures après la saillie assistée, aucune ovulation n'est constatée sur trois lapines. Ce résultat est en accord avec ceux de Templeton, 1940 ; Hammond et Asdell, 1926 ; Staples, 1967 [311 ; 312 ; 23], qui ont montré la chute drastique de la fréquence d'ovulation des lapines saillies non réceptives. Templeton, 1940 [311], a constaté que la saillie assistée des femelles non réceptives fait ovuler seulement deux de cinq femelles et seulement cinq de vingt maintiennent une gestation à terme. Une faible incidence d'ovulation après une saillie assistée ceci pourrait expliquer la faible réceptivité de nos lapines considérant la spécificité de race qui pourrait être un paramètre non négligeable.

Sachant que nos femelles ont été présentées au premier mâle seulement 3 à 4 min et au second 15 min, il est difficile de les comparer aux travaux de Staples, 1967 [23], qui étudia ce phénomène plus de 15 jours en utilisant 3 mâles à la seconde tentative. Cependant des travaux récents ont démontré que cette dernière approche n'est plus praticable car peu révélatrice. De plus, même en insémination artificielle, malgré l'induction de l'ovulation par une injection de GnRH, la fréquence d'ovulation est généralement déprimée chez les lapines non réceptives [19 ; 212].

Par ailleurs, Kermabon et al, 1994 [202] ont indiqué que les femelles réceptives au moment de l'insémination artificielle, ont des mRNA plus importants codant pour les récepteurs ovariens à LH significativement supérieurs que ceux des femelles non réceptives.

Quel que soit le stade, un grand nombre de follicules atrésiques est systématiquement observé. Dans la littérature, pas de travaux sur ce thème des lapines non-réceptives, à l'exception de défauts d'ovulation [382 ; 20].

Quel que soit l'état physiologique des lapines, les corps de Call et Exner sont présents dans la *granulosa* des petits follicules *antraux* et en grand nombre entre les cellules murales de la *granulosa* des gros follicules matures au nombre de 5 à 8. Un corps de Call et Exner apparaît comme une rosette composée d'une cavité sphérique (2-4 μ m) entourée de cellules hautes de *granulosa*, [470 ; 124]. Dans notre cas ils étaient absents dans les follicules pré antraux. Van Wezel et al, 1999 [471], sur des coupes d'ovaires de bovins ont montré que 30% des follicules pré antraux ayant plus d'une couche de cellules de la *granulosa* et 45% de petits follicules *antraux* possèdent au moins un corps de Call et Exner, composés d'une région éosinophile sphérique entourée d'une rosette de cellules de *granulosa*. De leur côté, Bjersing et Cajander, 1974a [24], ont décrit seulement leur localisation dans la membrana *granulosa* sans préciser le stade folliculaire. En effet, ils ont été décrits par Motta, 1965 et Nicosia et al, 1975 [472 ; 208], chez la lapine, constitués, sous leur aspect le plus typique, par une couronne de cellules de la *granulosa* disposées autour d'une cavité pleine d'un liquide semblable au liquide folliculaire. Dans la cavité on voit un fin réseau à mailles tandis que sa surface montre une mince zone de condensation. L'aspect des cellules est caractérisé par des cellules en élaboration, ce qui laisse penser qu'une partie de cette élaboration peut être versée à l'intérieur du corps, en contribuant ainsi à l'augmentation de son volume. Leur fonction est inconnue.

Les granules observés dans les cellules de l'épithélium ovarien pourraient correspondre aux observations en microscopie électronique de Cajander, 1976 et Bjersing et Cajander, 1974b [26 ; 361]. En effet, ces auteurs montrent que la présence de ces granules importante dès 4heures *p.c*, augmente jusqu'à un maximum d'accumulation entre 8-9 heures. Environ deux heures avant la rupture folliculaire, ces derniers se videraient et leur contenu serait expulsé dans l'albuginée sous-jacente, engendrant la dégénérescence des fibroblastes, ainsi que la désintégration des fibres de collagène. Ces observations supportent l'idée que du matériel lysosomal, contenu dans les granules, contribue à la rupture de la surface épithéliale. Espey et Lipner, 1965 [473], suggèrent que ces granules intra

cytoplasmiques sont des enzymes protéolytiques, comme la collagénase, qui participerait à la rupture folliculaire. Cependant, il est possible que d'autres cellules de la paroi folliculaire contribuent au processus de dégradation enzymatique tels que, les fibroblastes de l'albuginée [474], les cellules de la *thèque externe* [475], ou alors les cellules de la *granulosa* [25]. Cependant, Rawson et Espey, 1977 [374], observent une diminution du nombre de granules après l'ovulation, indiquant que les cellules épithéliales ne participent pas à la rupture folliculaire. Cependant, les travaux récents de Murdoch et Mc Donnel, 2002 et Gaytan et al, 2003 [476 ; 477], s'opposent ardemment à cette théorie, en démontrant le rôle protéolytique des cellules de l'épithélium ovarien.

Sur les coupes histologiques d'ovaires de lapines sacrifiées on a pu observer que l'épithélium ovarien est composé de cellules cylindriques qui se transforment par endroits en cellules arrondies selon qu'on soit au voisinage d'un follicule immature pré antral ou pré ovulatoire prêt à se rompre. Les changements ultra structuraux au niveau des cellules de l'épithélium ovarien (inclusion intra cytoplasmiques) ainsi que ceux du follicule de De Graaf en phase pré ovulatoire sont accessibles seulement à la microscopie électronique cependant il est difficile de les mettre en évidence en microscopie optique [478 ; 479].

Deux heures avant l'ovulation, Espey, 1998 [480] décrivait au niveau de l'apex folliculaire, un amincissement des couches cellulaires, ainsi que de la matrice extracellulaire suivis de leur dissociation, suite à l'effet protéolytique des enzymes de la matrice interstitielle, matrice metallo proteinase (MMP), et de la mort par apoptose des fibroblastes thécaux ainsi que des cellules épithéliales [481], contribuant ainsi à la genèse du stigma. L'activité de la collagénase fibrillaire est nécessaire à la dégradation des fibres de collagènes présentes dans la *thèque externe*, et la tunique albuginée [482 ; 483 ; 484], Chez le lapin la pro-MMP-1 (interstitial type-I collagenase) a été identifiée en grande concentration à l'apex folliculaire au moment de l'ovulation [485].

En comparant les fréquences d'ovulation entre les lapines multipares inséminées ou saillies naturellement, Theau-Clément et al, 1990 [216], ont indiqué un important manque d'ovulation pour les lapines saillies (91 vs 66%, respectivement), particulièrement lorsqu'elles étaient simultanément allaitantes et

non réceptives. Dans notre expérience, les femelles étaient des nullipares (non allaitantes), ainsi un antagonisme partiel hormonal entre la prolactine les sécrétions de gonadotrophin indiqué par plusieurs auteurs [212; 17; 486], peut ne pas être pris en considération dans notre étude. Puisque, quelques rares follicules pré ovulatoires ont été observés sur les ovaires des femelles non réceptives, il est difficile de conclure si après 12 heures *p.c.* aucun d'eux ne pourrait ovuler.

Conclusion

L'objectif de ce travail était de décrire la croissance folliculaire dans les 12 heures suivant la saillie de lapines nullipares d'une race locale algérienne. A notre connaissance, c'est la première étude qui analyse de manière comparative, la croissance folliculaire de lapines qui acceptent (réceptives) ou qui refusent (non-réceptives) l'accouplement.

Toutes les lapines réceptives ont ovulé douze heures après. A l'opposé, aucune ovulation n'est observée chez les lapines non-réceptives. De nombreux follicules atrésiques ainsi que des ovocytes dégénérés sont observés. Il est vraisemblable que chez ces lapines, qui possèdent au moment de la saillie une même distribution des différents types folliculaires, une maturation finale déficiente des follicules soit liée à un pic pré ovulatoire de LH faible, conséquence d'un taux œstrogénique faible en raison des atrésies folliculaires observées. En effet, la stéroïdogénèse folliculaire, majoritairement œstrogénique, est probablement responsable de l'augmentation de la perméabilité des capillaires et de l'apparition de l'œdème.

Afin de mieux comprendre les mécanismes physiologiques sous-jacents, cette étude comparative doit être poursuivie en étudiant en parallèle de la croissance folliculaire, l'évolution des profils hormonaux tels que les œstrogènes, la progestérone, FSH et LH, entre le moment de la saillie et celui de l'éventuelle ovulation.

Expérience 3. Etude des caractéristiques morphométriques des ovaires et des cornes utérines, des populations folliculaires et des hormones ovariennes de 0 à 14h *post coïtum*.

L'objectif de ce travail est une étude comparative des résultats d'ovulation, des caractéristiques macroscopiques des ovaires et des cornes utérines. Au sein des ovaires, un dénombrement des populations folliculaires, des caractéristiques morphométriques des follicules antraux a été réalisé. Pour ce qui est des hormones, le dosage du 17β -œstradiol et de la progestérone plasmatique, ont été mesurés. Tous ces paramètres ont été étudiés dans trois lots de lapines de population locale algérienne : réceptive (acceptation de l'accouplement, R^+), non réceptive (refus de l'accouplement mais avec saillie assistée) ($R^- + SA$) et non réceptive (suivie d'une injection de GnRH) ($R^- + SA + GnRH$), dans les 14 heures suivant l'accouplement.

5.2-6-1 Matériel et méthodes

5.2-6-1-1 : Lieu de l'expérimentation et animaux

L'expérimentation s'est déroulée au sein du clapier de la station expérimentale de l'Université de Blida. Les animaux sont de population locale et proviennent des régions d'Ain defla et El Affroun. Un total de 100 femelles nullipares âgées de 4,5 à 5 mois de poids homogène ($1,800 \text{ kg} \pm 300\text{g}$) et 5 mâles âgés de 7 mois ont été utilisés. Les animaux (mâles et femelles) étaient nourris *ad libitum*. L'alimentation comprenait un granulé spécial pour les lapins provenant de l'unité de fabrication de l'aliment de bétail de Bouzaréah (Alger). Il était composé de maïs, de tourteau de soja, de luzerne, de son, de calcaire, de phosphate bicalcique et de CMV spécial lapin.

5.2-6-1-2 Protocole expérimental

5.2-6-1-2-1 Principe de conduite des saillies

La femelle est introduite pour la première fois dans la cage d'un premier mâle pendant une durée de 3 min. Si elle accepte l'accouplement, elle adopte une position de lordose, (train arrière relevé et périnée dégagé), elle est donc considérée réceptive (R^+). Si elle refuse l'accouplement avec le premier mâle, elle

est présentée le même jour à un deuxième mâle et si elle accepte alors l'accouplement, elle est considérée réceptive. Il faut absolument surveiller *in visu* le déroulement de la saillie pour s'assurer que la saillie est positive car elle se fait de manière très rapide 30 à 40s. Après la saillie, le mâle se laisse tomber sur le côté émettant un cri caractéristique. Si la femelle refuse l'accouplement avec les deux mâles le même jour, elle est présentée le lendemain. Si elle persiste dans son refus elle est considérée comme non réceptive (R⁻). On procède alors à la saillie assistée. Dans notre expérimentation les lapines non réceptives ayant refusé les deux mâles pendant deux jours successifs sont au nombre de 40.

❖ Avant chaque présentation des femelles aux mâles on note :

- Le poids des femelles (kg).
- L'observation de la couleur et l'état de turgescence de la vulve

❖ Au moment de la présentation au mâle :

Observation du comportement de la femelle pendant un maximum de 3 minutes.

- La réceptivité : acceptation rapide (R⁺), intermédiaire (R^{+/+}), ou refus (R⁻).
- L'agressivité vis-à-vis du mâle (oui ou non).
- Chevauchement du mâle (oui ou non)
- Vocalisation de la femelle. (oui ou non).

Toutes les lapines non réceptives ont subi une saillie assistée. Elles sont alors réparties en 2 lots :

- La moitié a reçu une injection de 0,2 ml de GnRH (Gonadoréline), par voie intramusculaire au niveau du râble.
- L'autre moitié ne reçoit pas d'injection (lot témoin). Toutes ces observations nous ont permis de sélectionner 60 lapines réparties en fonction du résultat du test de présentation au mâle :

- **Lot 1** (n=20) : Lapines réceptives (R^+ après un seul jour de test).
- **Lot 2** (n=20) : Lapines non réceptives (R^- après deux jours de test) ayant subi une saillie assistée.
- **Lot 3** (n=20) : Lapines non réceptives (R^- après deux jours de test) ayant subi une saillie assistée suivie d'une injection de 0,2 ml de GnRH.

5.2-6-1-2-2 Prélèvement sanguin

Sur les lapines des 3 lots, des prélèvements sanguins (Figure 5.119) ont été effectués au niveau de la veine marginale de l'oreille, à des intervalles de temps *post coïtum* bien définis (0h, 2h, 6h, 8h, 10h, 10h30, 11h, 12h, 13h et 14h).

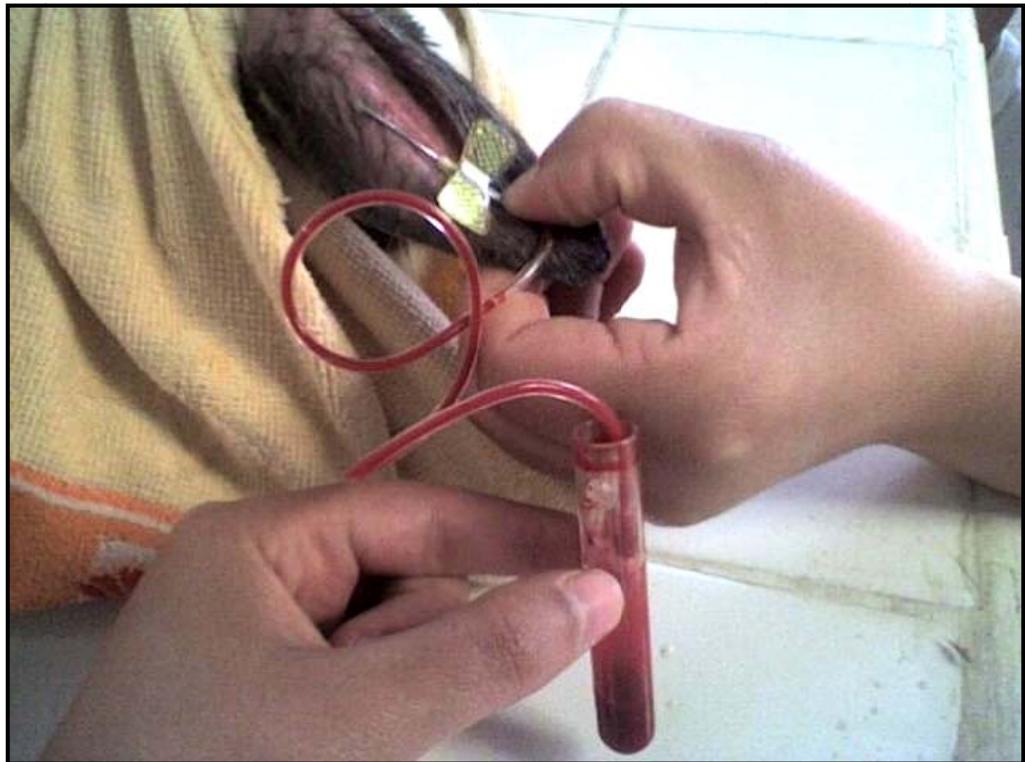


Figure 5.119: Méthode de prélèvement sanguin au niveau de la veine marginale chez la lapine.

Pour chaque intervalle de temps *post coïtum*, le sang a été prélevé dans des tubes héparinés sur 2 lapines. Après centrifugation (3000 tours pendant 10 minutes), le plasma est aliquoté dans des tubes Ependorff et stocké à une

température de – 20°C. Immédiatement après les prélèvements, les lapines ont été sacrifiées. Les ovaires (n=120) sont alors prélevés ainsi que l'ensemble des cornes utérines (n=60). A l'aide d'une loupe binoculaire et d'un appareil photo numérique, nous avons réalisé :

- Une étude macroscopique des ovaires et des cornes utérines des 3 lots aux différents stades *post coitum*.
- Une étude microscopique des ovaires des 3 lots à différents stades *post coitum*.

5.2-6-1-3 Etude macroscopique des ovaires et des cornes utérines

5.2-6-1-3-1 Paramètres mesurés sur les ovaires (gauche et droit)

Dès leur exérèse, les ovaires ont été placés dans des boîtes à pétri selon la technique décrite par Lorenzo et al, (1996) [487]. Ils sont placés dans une solution tampon phosphate de PBS (*Phosphate Buffered Saline*), et maintenus à 38°C, c'est-à-dire dans des conditions d'osmolarité et de température proches de celles *in vivo*. La figure 5.120, présente l'aspect macroscopique des ovaires de lapines présentant de nombreux grands follicules pré ovulatoires et hémorragiques (de diamètre > 1mm) et des corps jaunes jeunes avec stigma turgescent (3). Pour chaque femelle, des mesures sur les ovaires droits et gauches ont été effectuées :

- Poids (g), Longueur (cm) et diamètre (mm) des ovaires.
- Dénombrement de tous les follicules existants à l'aide d'une loupe binoculaire :
 - Follicules pré ovulatoires ($\varnothing > 1\text{mm}$).
 - Corps jaunes jeunes avec stigma turgescent.
 - Follicules hémorragiques ($\varnothing > 1\text{mm}$).

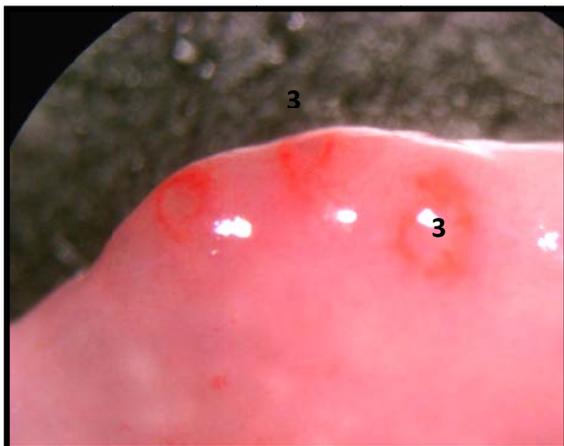


Figure 5.120: Aspects macroscopiques des ovaires de lapines dès leur exérèse : Follicule pré ovulatoire (1) et Follicule hémorragique (2) ($\text{Ø} > 1\text{mm}$). Corps jaune jeune avec stigma turgescents (3).

5.2-6-1-3-2 Paramètres mesurés sur les cornes utérines (gauche et droite) :

- Poids (g) de l'ensemble des cornes utérines après les avoir débarrassé de leur graisse. Les 2 cornes sont ensuite séparées au niveau des cervix puis pesées.
- La longueur (cm) des cornes à l'aide d'un pied à coulisse.
- Le diamètre (cm) des cornes. A l'aide d'un fil qui entoure la corne, la longueur du fil donne le diamètre de la corne.

5.2-6-1-4 Etude microscopique

Tous les ovaires et les cornes utérines sont fixés dans une solution de formaldéhyde à 10% pour la réalisation ultérieure des coupes histologiques.

5.2-6-1-4-1 Quantification des populations folliculaires

De manière comparative entre les lapines réceptives et les non-réceptives ayant reçu ou non un traitement hormonal à 0h, 2h, 6h, 8h, 10h, 10h30, 11h, 12h, 13h et 14h *post coïtum* :

Ont été mesurés les :

- Follicules primaires.
- Follicules secondaires.
- Follicules tertiaires (jeunes antraux).
- Folliculaires pré ovulatoires.
- Follicules atrésiques.
- Follicules rompus.

5.2-6-1-4-2 Analyse morphométrique

Sur les coupes d'ovaires, le diamètre des follicules antraux, le diamètre ovocytaire et l'épaisseur de la zone pellucide, ont été mesurés au moyen d'un micromètre oculaire. Le diamètre des follicules et des ovocytes a été déterminé par deux mesures perpendiculaires en prenant comme limites : pour le follicule, la

membrane basale et pour l'ovocyte, la zone pellucide d'une part, et la membrane cytoplasmique d'autre part. La différence entre les deux types de mesures a permis de calculer l'épaisseur de la zone pellucide. Chaque mesure a été réalisée au grossissement le plus élevé possible, c'est-à-dire x400 pour les follicules inférieurs à 300 μm , x100 pour les follicules de 300 à 1000 μm et x40 pour les follicules de plus de 1000 μm . Après avoir effectué les mesures du diamètre folliculaire, ovocytaire et épaisseur de la zone pellucide des follicules antraux, sur ces mêmes follicules les corps de Call et Exner ont été dénombrés au sein de la *granulosa*.

5.2-6-1-5 Dosages hormonaux du 17β -œstradiol et de la progestérone plasmatique.

5.2-6-1-5-1: Dosages hormonaux : Principe de la technique

Le dosage des hormones a été effectué par la technique radio-immunologique (Radioimmunoassay : RIA). C'est une technique pour laquelle des antigènes (hormone) marqués par un radioisotope (Ag^*), et non marqués (Ag), d'une même espèce entrent en compétition vis-à-vis d'un nombre limité de sites de liaison appartenant à un réactif spécifique qui est l'anticorps (Ac). Il se forme des complexes radioactifs (Ag^*-Ac) et des complexes froids ($\text{Ag}-\text{Ac}$). Une fois l'équilibre réactionnel atteint, la radioactivité de la fraction liée (Ag^*-Ac) est mesurée. Elle est inversement proportionnelle à la concentration en antigène froid (hormone à doser).

Les trousse radioimmunologiques utilisées pour le dosage de l'œstradiol et de la progestérone sont celles commercialisées par IMMUNOTECH à BECKMAN COULTER COMPANY. Les dosages ont été effectués au sein du laboratoire de radioimmunologie du Département des Applications Nucléaires du Centre de Recherche Nucléaire de Draria (DAN/CRND).

5.2-6-1-5-2 Dosage du 17 β -œstradiol

➤ Réactifs de la trousse

Les réactifs de la trousse conservés à 2-8 °C, sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse (voir appendice F).

- Tubes revêtus d'anticorps anti-œstradiol : 2X50 tubes (prêts à l'emploi).
- Traceur œstradiol marqué à l'iode 125 (55X) : 1 flacon de 1ml représentant 142kBq d'œstradiol marqué à l'iode 125 dans un tampon éthanol. Cette solution concentrée doit, avant utilisation, être diluée avec le tampon traceur fourni dans la trousse.
- Tampon traceur : 1 flacon de 54ml additionné d'azide de sodium (<0,1%) comme agent conservateur.
- Calibrateurs ou standards: Les 7 flacons de 1ml (prêts à l'emploi) contiennent des concentrations d'œstradiol permettant d'établir une courbe d'étalonnage : 0, 10, 37, 147, 554, 1534, 5365pg/ml. Les standards sont reconstitués par addition d'eau distillée 30mn avant leur utilisation.
- Un sérum de contrôle : 1 flacon de 1ml (prêt à l'emploi). Il contient de l'œstradiol dans du sérum humain. Les valeurs attendues sont comprises entre 59-109pg/ml.

➤ Mode opératoire :

- Reconstitution du traceur concentré (55X) : verser délicatement le contenu du flacon traceur dans le flacon de tampon traceur et homogénéiser.
- Placer préalablement les différents composants de la trousse à température ambiante.
- Suivre scrupuleusement les différentes étapes du schéma opératoire du dosage (Tableau 5.10).

Tableau 5.10: Différentes étapes opératoires du dosage du 17 β -œstradiol

Etape 1 Répartition*	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
<p>Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 100 μl de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon à doser - 500 μl de traceur <p>Agiter au vortex</p>	<p>Incuber 3 heures à 18-25°C avec agitation (350rpm)</p> <p>(1 heure pour les échantillons de sujets sous induction d'ovulation)</p>	<p>Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les deux tubes « cpm totaux »).</p> <p>Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1mn.</p>

* Ajouter 500 μ l de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux et réaliser les dosages en double.

➤ Résultats

Après le traçage de la courbe d'étalonnage (voir appendice G), pour chaque contrôle et échantillons à mesurer, repérer le rapport B/T ou B/B₀ sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et déduire par lecture sur l'axe horizontal de la concentration en œstradiol de l'échantillon.

5.2-6-1-5-3 Dosage de la progestérone

➤ Réactifs de la trousse

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse (voir appendice H)

- Tubes revêtus d'anticorps anti- progestérone : 2X50 tubes (prêts à l'emploi).
- Traceur progestérone marquée à l'iode 125 : 1 flacon de 55ml (prêt à l'emploi). Le flacon de 55ml, contient 185 kBq de progestérone marquée

sou forme liquide en tampon avec des protéines additionnée d'azide de sodium.

- 6 flacons de 0,5ml de standards (prêts à l'emploi) : Les flacons contiennent des concentrations de progestérone permettant d'établir une gamme d'étalonnage de 0 à 50 ng/ml. La concentration exacte de la progestérone froide est indiquée sur chaque flacon. Les concentrations sont les suivantes : 0, 0.12, 0.55, 2, 8.7, 49 ng/ml.
- Sérum de contrôle : 1 flacon de 0.5ml (prêt à l'emploi) : Le sérum de contrôle contient de la progestérone dans du sérum humain et de l'azide de sodium (< 0.1%). La fourchette de concentration attendue est de 91-1.63 ng/ ml)
- Compteur gamma calibré.

➤ Mode opératoire

- Placer préalablement les différents composants de la trousse à température ambiante.
- Suivre scrupuleusement les différentes étapes du schéma opératoire du dosage (Tableau 5.11).

Tableau 5.11: Différentes étapes opératoires du dosage de la progestérone

Étape 1 Répartition*	Étape 2 Incubation	Étape 3 Comptage
<p>Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 50 µl de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon à doser - 500 µl de traceur <p>Agiter au vortex</p>	<p>Incuber 1 heures à 18-25°C avec agitation (350rpm)</p>	<p>Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les deux tubes « cpm totaux »).</p> <p>Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1mn.</p>

* Ajouter 500 µl de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux et réaliser les dosages en double.

➤ Résultats

Après le traçage de la courbe d'étalonnage (voir appendice I), pour chaque contrôle et échantillons à mesurer, repérer le rapport B/T ou B/B₀ sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et déduire par lecture sur l'axe horizontal de la concentration en progestérone de l'échantillon.

5.2-6-1-5-4 Contrôle de qualité du dosage

Les paramètres qui permettent au technicien de contrôler la qualité du dosage radioimmunologique réalisé sont :

- La valeur du compte total (TC). Celle-ci doit être supérieure à 20 000 cpm.
- La valeur de la liaison maximum (B_{max}) elle doit être supérieure à 20-25%.
- Les valeurs en progestérone extrapolées sur la courbe correspondant aux taux de liaisons 20%, 50% et 80%.
- Les valeurs en œstradiol ou en progestérone correspondant aux échantillons de contrôle ajoutés à la trousse par le fournisseur.

5.2-6-1-5-5 Analyse statistique

Le poids des lapines au moment de la présentation a été analysé au moyen d'une analyse de variance en prenant l'effet fixé du lot (3 niveaux : lots 1, 2 et 3). L'étude morphométrique des ovaires, le dénombrement des différentes populations folliculaires, le nombre de corps jaunes, le poids, la longueur et le périmètre des cornes utérines, le nombre de follicules des différentes populations folliculaires, la taille des follicules antraux et ses composants, le dénombrement des corps de Call et Exner, et la concentration plasmatique de 17β-œstradiol et de progestérone ont été étudiés au moyen d'une analyse de variance prenant en compte l'effet fixé du lot (3 niveaux : lots 1, 2 et 3), du stade *post coïtum* (10 niveaux : 0h, 2h, 6h, 8h, 10h, 10h30, 11h, 12h, 13h, et 14h) ainsi que l'interaction lot x stade. La fréquence d'ovulation a

été analysée selon le même modèle d'analyse en considérant que l'ovulation suit une loi de Bernoulli (variable 0-1).

5.2-6-2 : Résultats

5.2-6-2-1 : Etude macroscopique

5.2-6-2-1-1 : Poids des lapines au moment de la présentation en Fonction du lot

Au moment de la présentation, les lapines pesaient en moyenne $2,028 \pm 0,125$ kg. Leur poids varie de 1,979 à 2,094 kg. Les lapines du lot 1 (R+) (tableau 5.12) sont significativement plus lourdes que celles des lots 2 (R⁻) (+4%, P< 0,05) et lot 3 (R⁻ +GnRH) (5% ; P< 0,05).

Tableau 5.12: Poids des lapines au moment de la présentation

	Effectif	Poids lapine (kg)
Moyenne générale	60	2.028
<hr/>		
Lot		
R ⁺	20	2.094 ^a
R ⁻	20	2.010 ^b
R ⁻ +GnRH	20	1.979 ^b

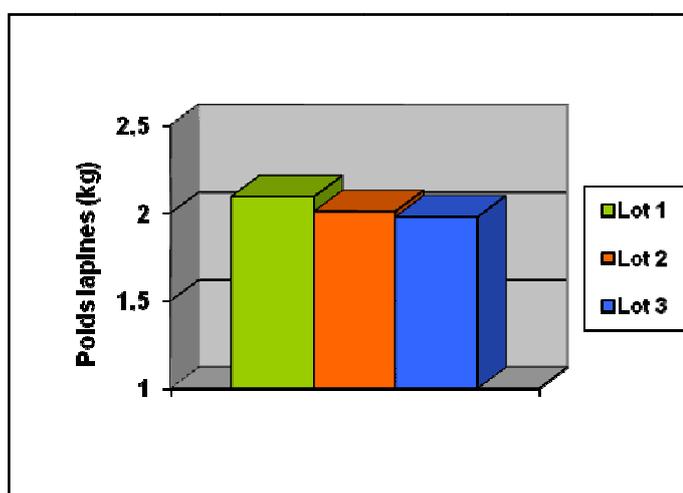


Figure 5.121: Poids des lapines des 3 lots au moment de la présentation.

5.2-6-2-1-2 Etude morphométrique des ovaires dénombrement des différentes populations folliculaires, fréquence et intensité de l'ovulation dans la phase *post coïtum*

5.2-6-2-1-2-1 : Poids et taille des ovaires

L'étude morphométrique a été réalisée sur 60 lapines (20 pour chaque lot). Les résultats sont indiqués dans le tableau 5.13.

Le poids des ovaires ne varie pas significativement en fonction du lot (figure 5.122) et des stades *p.c.* (figure 5.123) et n'interagit pas avec la réceptivité des lapines. De 0 à 10 h *p.c.*, le poids des ovaires des lapines des 3 lots est proche. On peut cependant remarquer entre 10 et 12h *post coïtum*, que le poids des ovaires des lapines non-réceptives et traitées avec la GnRH est plus élevé, mais la différence n'est pas significative.

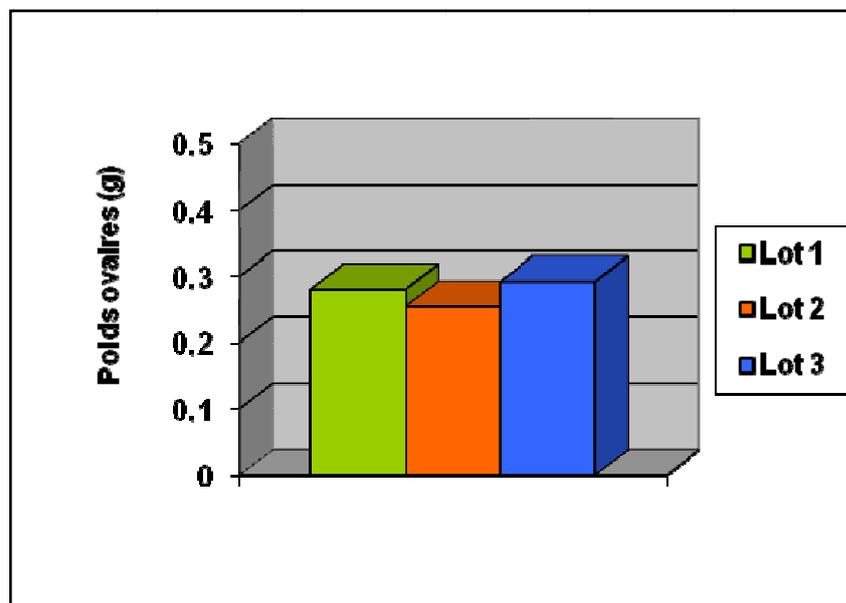


Figure 5. 122: Poids des ovaires des lapines des 3 lots.

ICI TABLEAU 5.13

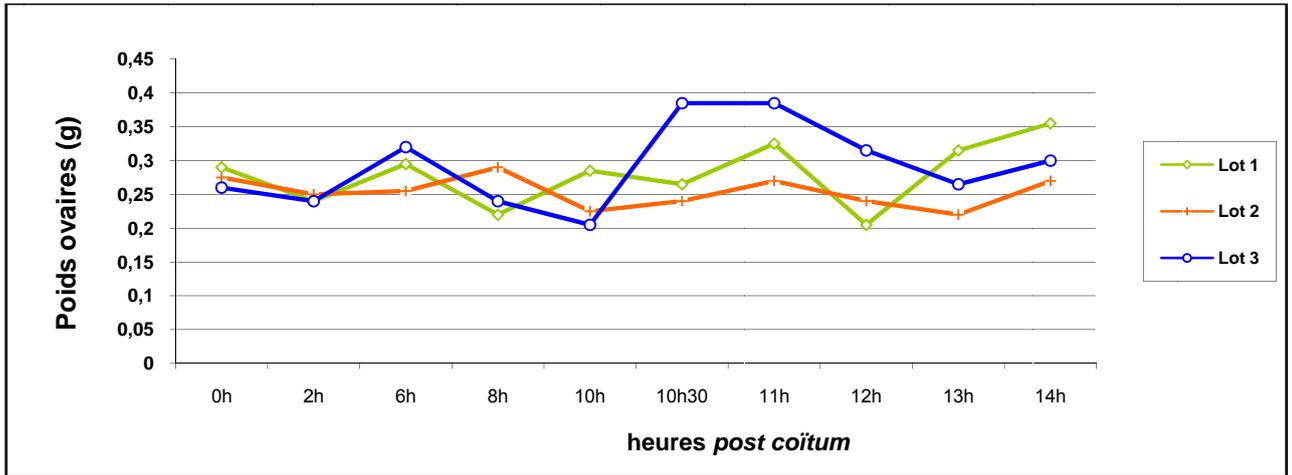


Figure 5.123: Poids des ovaires des lapines dans la phase *post coïtum*

La longueur des ovaires (figures 5.124, 5.125), ne varie pas en fonction de la réceptivité et des stades *post coïtum*.

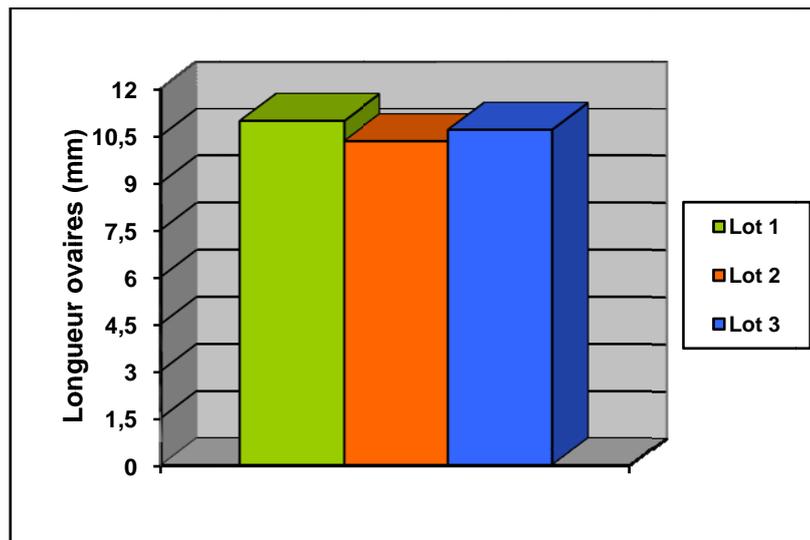


Figure 5.124: Longueur moyenne des ovaires des lapines des 3 lots

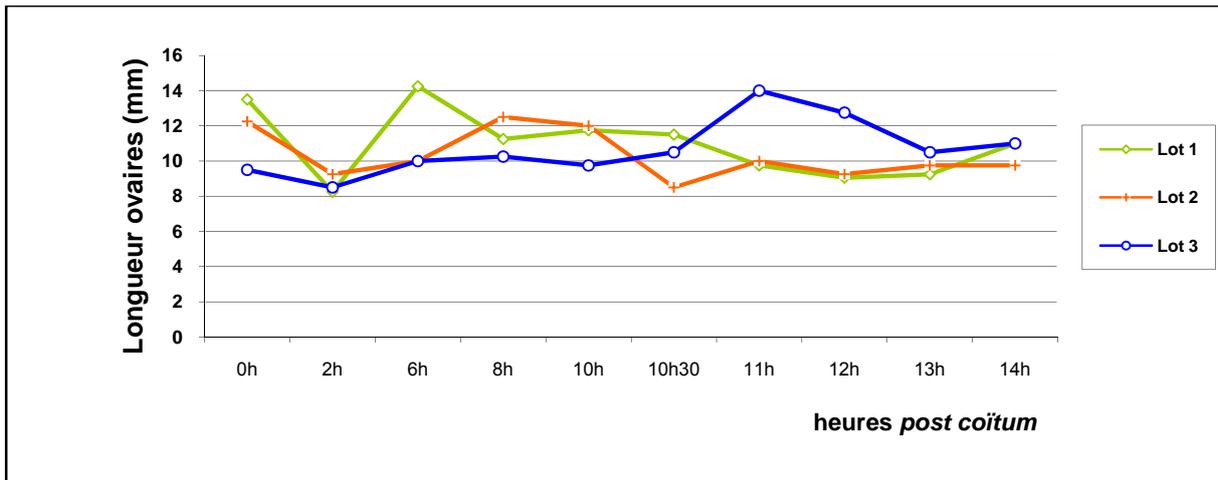


Figure 5.125: Longueur des ovaires des lapines dans la phase *post coïtum*

La réceptivité sexuelle de la lapine n'influence pas significativement la largeur des ovaires (figure 5.126). Par contre, elle varie significativement en fonction des stades *post coïtum*. En effet, les ovaires à 0h *p.c* étaient plus larges comparés à ceux des femelles sacrifiées à 12h *p.c* (+50%; $P < 0,05$) d'une part, et à ceux des femelles sacrifiées à 13h *p.c* (48%; $P < 0,05$) d'autre part. L'analyse de variance a mis en évidence une interaction significative entre le lot et le stade sur la largeur des ovaires. En effet, la largeur des ovaires des lapines R⁻ GnRH augmente à partir de 10h *p.c*. (figure 5.127).

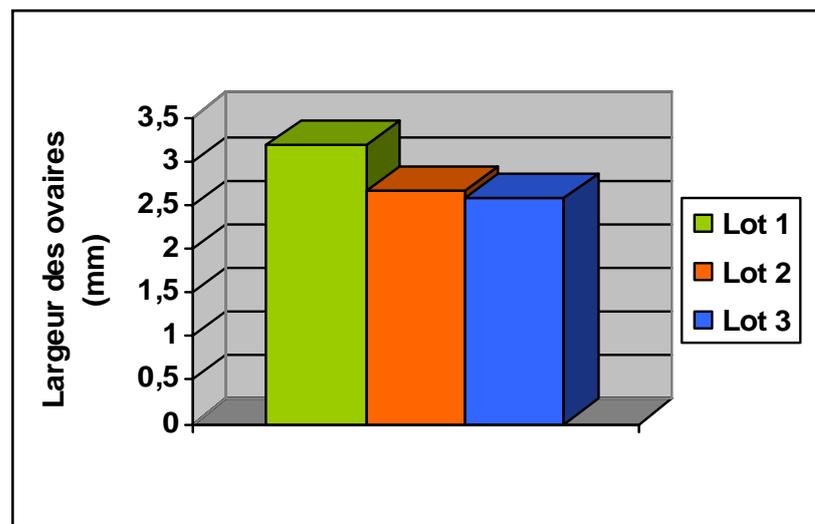


Figure 5.126: Largeur moyenne des ovaires des lapines des 3 lots

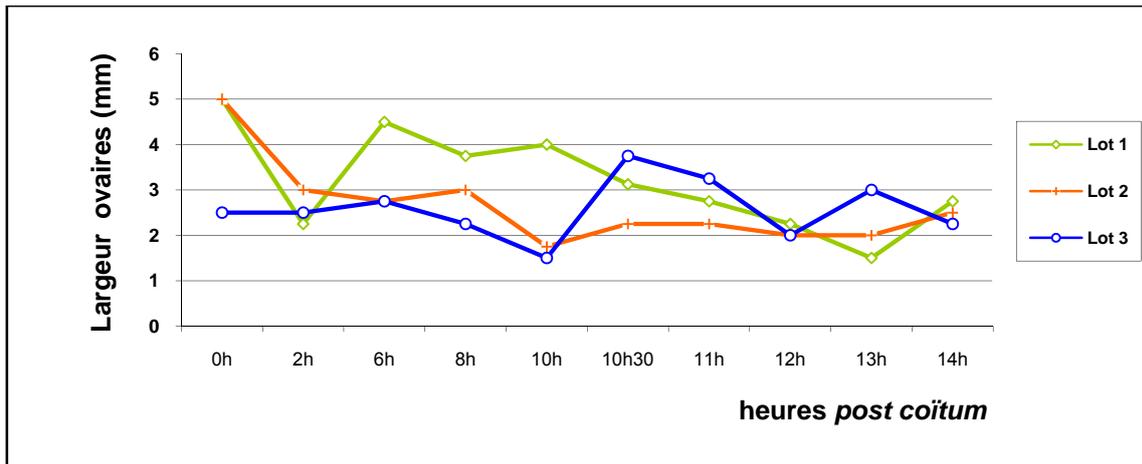


Figure 5.127: Largeur des ovaires des lapines dans la phase *post coitum*.

5.2-6-2-1-2-2 Dénombrement des follicules et corps jaunes

Le nombre de follicules pré ovulatoires varie significativement en fonction de la réceptivité sexuelle ($P < 0,05$, figure 5.128). Les lapines réceptives et non réceptives ayant subi une saillie assistée ont un nombre de follicules pré ovulatoires plus élevé que les lapines non réceptives ayant subi une saillie assistée suivie d'une injection de GnRH (respectivement +68% et +27%, $P < 0,05$).

Le nombre de follicules pré ovulatoires varie significativement en fonction du stade ($P < 0,05$, figure 5.129). A partir de 12 h *p.c*, le nombre de follicules pré ovulatoires diminue généralement et à 14h *p.c*, il chute de manière drastique. Le lot et le stade *post coitum* interagissent sur le nombre des follicules pré ovulatoires ($P = 0,020$, figure 5.129).

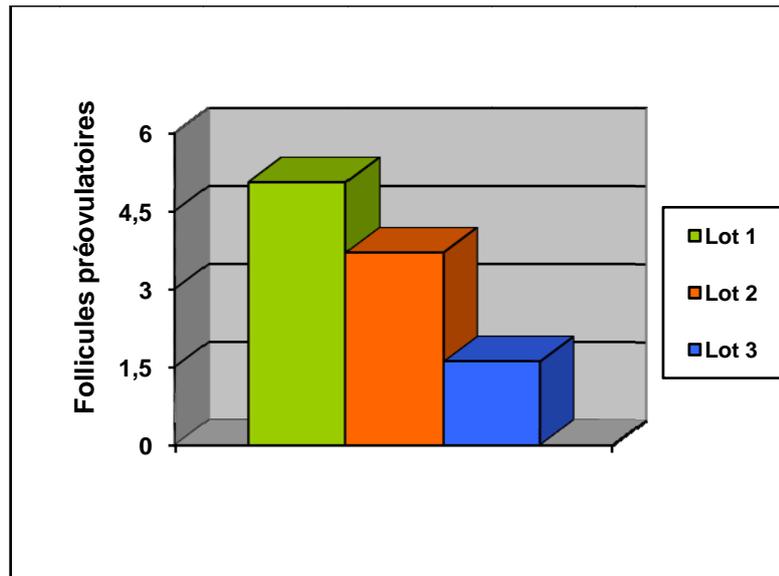


Figure 5.128: Nombre de follicules pré ovulatoires des lapines des 3 lots.

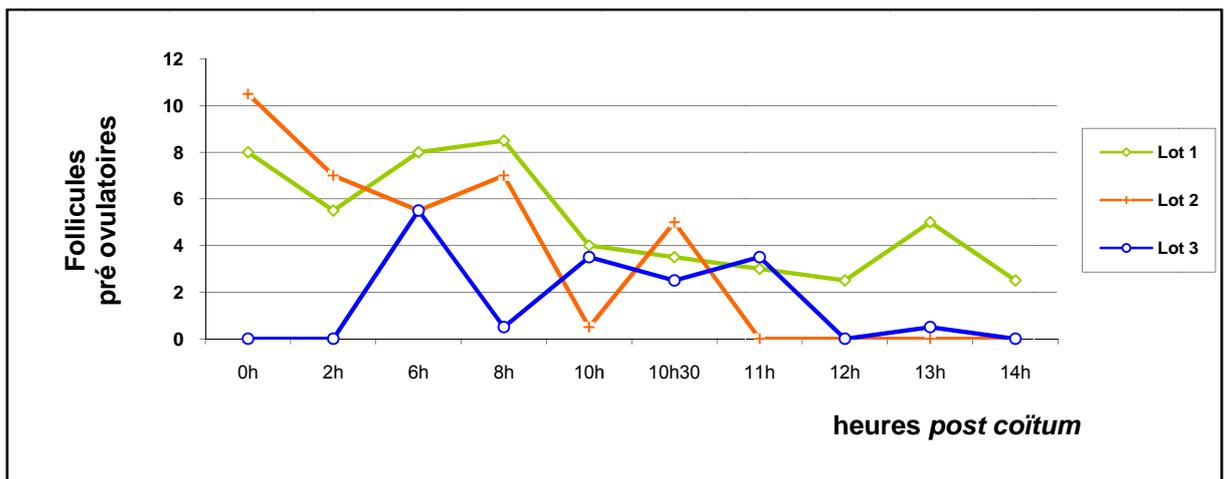


Figure 5.129: Nombre de follicules pré ovulatoires des lapines dans la phase *post coïtum*.

Le nombre de follicules hémorragiques est supérieur dans le lot (R+), intermédiaire dans le lot R⁻ et proche de 0 dans le lot R⁻ + GnRH. Néanmoins, la différence est non significative. Le nombre de follicules hémorragiques n'est influencé ni par la réceptivité (figure 5.130) ni par le stade physiologique des lapines (figure 5.131) dans la phase *post coïtum*.

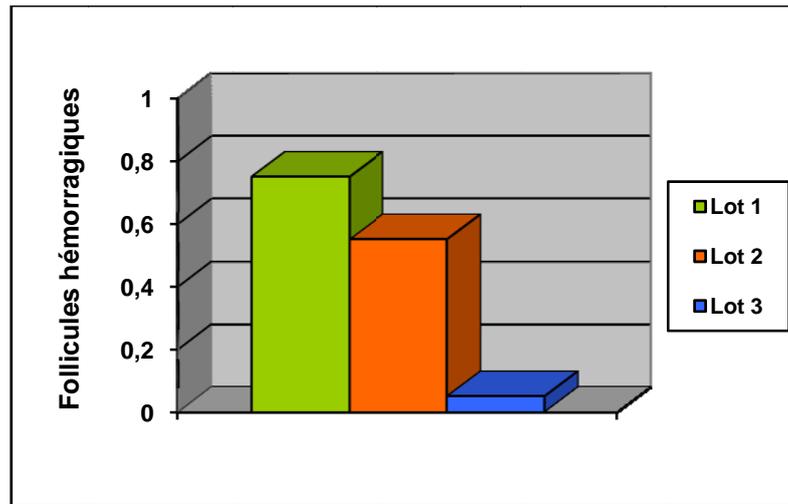


Figure 5.130: Nombre de follicules hémorragiques des lapines des 3 lots.

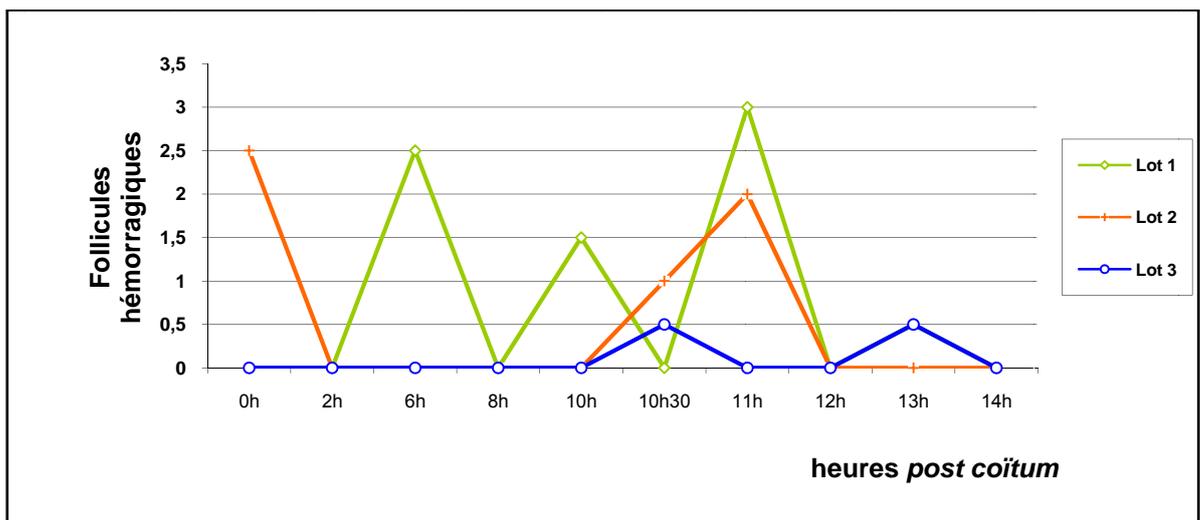


Figure 5.131: Nombre de follicules hémorragiques des lapines dans la phase *post coïtum*.

Le nombre de corps jaunes avec stigma rouge et turgescent correspondant à des ovulations récentes, n'a pas été influencé par la réceptivité sexuelle des lapines (figure 5.132). En revanche, il diffère significativement avec le stade *post coïtum* (figure 5.133). En effet, la première ovulation n'a été observée qu'à partir de 10h *p.c.* A 12h et 14h *p.c.*, le nombre de corps jaunes est significativement plus élevé qu'aux autres stades.

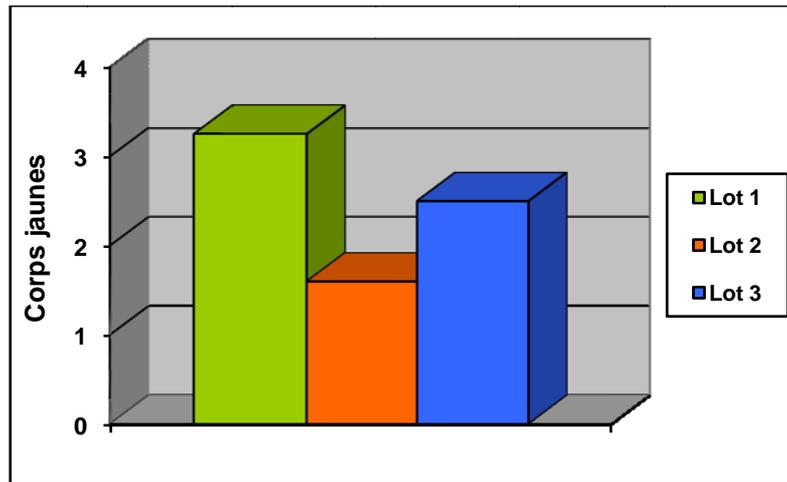


Figure 5.132: Nombre de corps jaunes des lapines des 3 lots

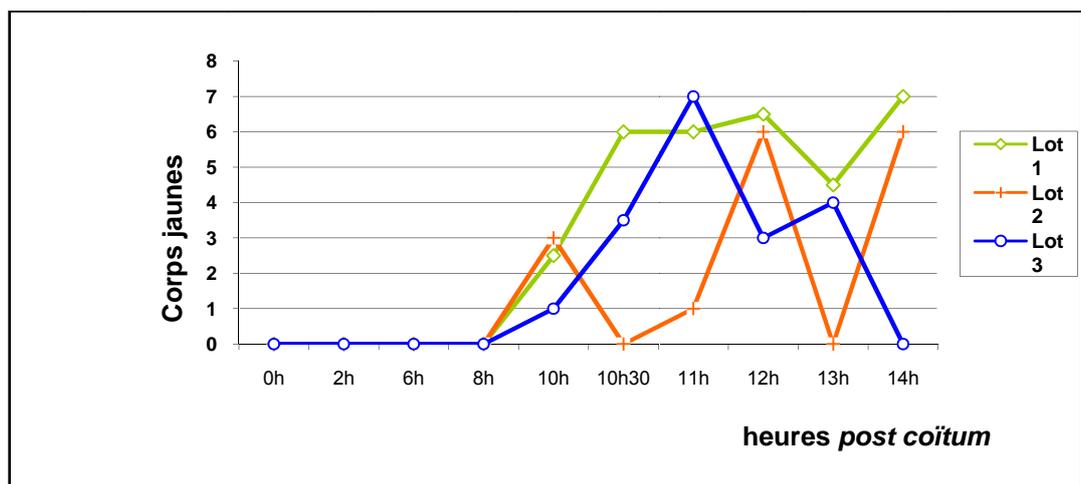


Figure 5.133: Nombre de corps jaunes des lapines dans la phase *post coïtum*.

5.2-6-2-1-2-3 Fréquence et intensité d'ovulation

La fréquence d'ovulation a été significativement influencée par la réceptivité des lapines (figure 5.134) et le stade *p.c.* (figure 5.135). Les lapines réceptives ovulent plus fréquemment que les non réceptives, le traitement GnRH permettant une fréquence d'ovulation intermédiaire chez les non réceptives (+50%, $P < 0,05$). En effet, toutes les lapines réceptives ont ovulé à partir de 10h, alors que dans cette

phase, 6 lapines R⁻ SA sur 12 étudiées, n'ont pas ovulé. Le traitement de GnRH a permis d'augmenter la fréquence d'ovulation des R⁻, cependant, la différence n'est pas significative.

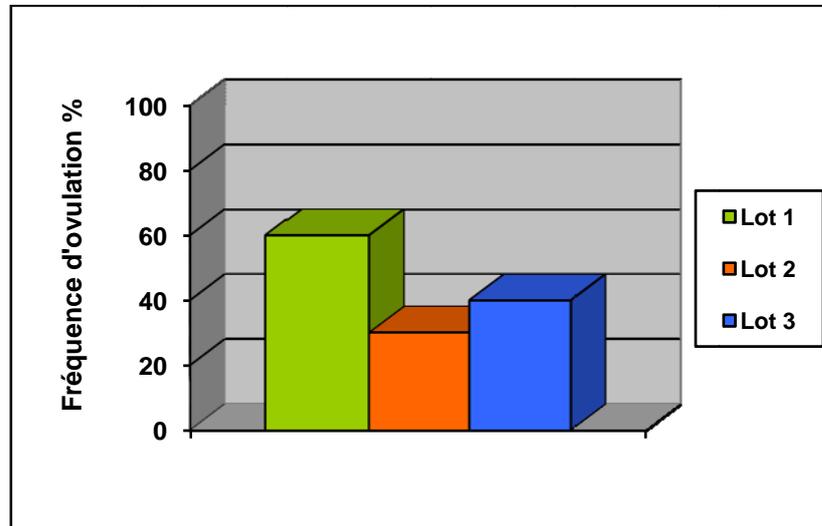


Figure 5.134: Fréquence d'ovulation des lapines des 3 lots

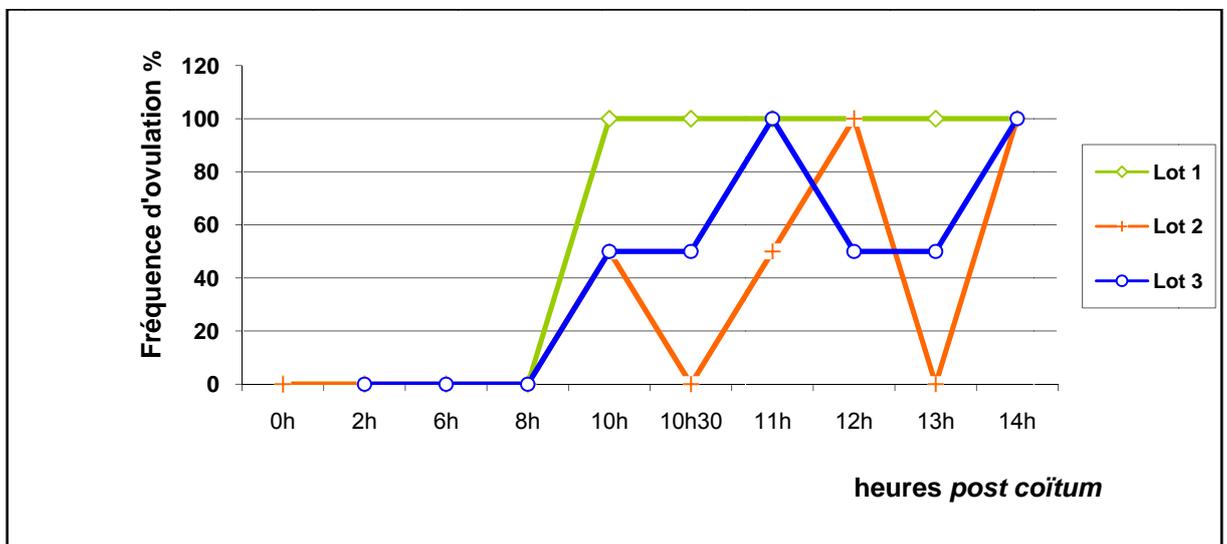


Figure 5.135: Fréquence d'ovulation des lapines dans la phase *post coïtum*.

Sur les lapines ayant ovulé, l'intensité d'ovulation ne varie pas significativement en fonction de la réceptivité des lapines (figure 5.136), du stade physiologique des lapines dans la phase *p.c.* (figure 5.137).

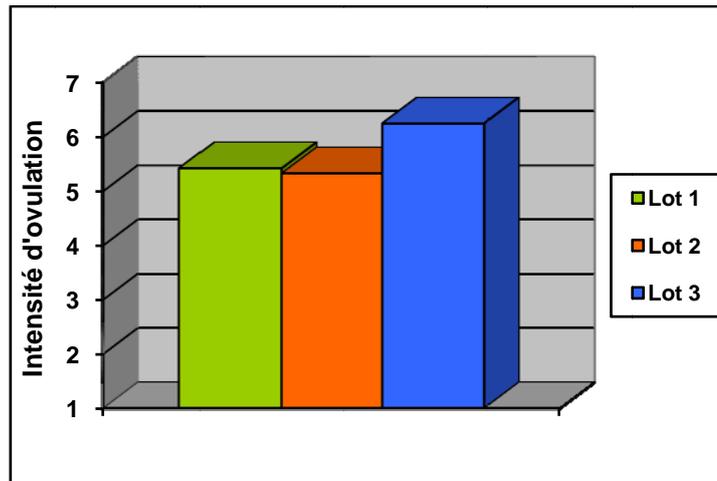


Figure 5.136: Intensité d'ovulation des lapines des 3 lots ayant ovulé.

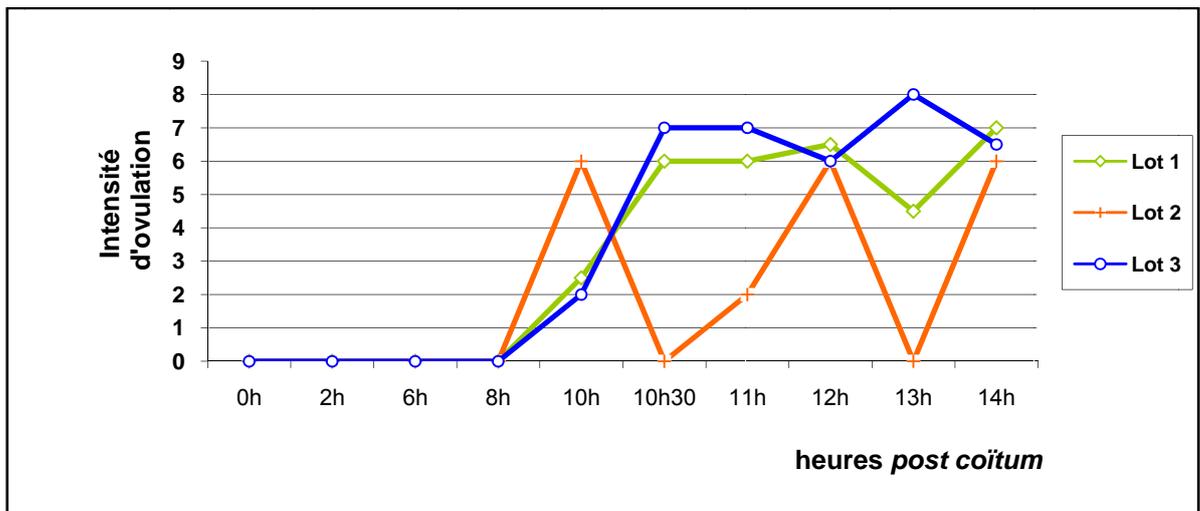


Figure 5.137: Intensité d'ovulation des lapines dans la phase *post coïtum*.

5.2-6-2-1-3 Etude morphométrique des cornes utérines

Le poids, la longueur et le périmètre des cornes utérines ont été étudiés sur les 60 lapines (tableau 5.14)

Tableau 5.14 : Etude morphométrique des cornes utérines au cours des 14 heures *post coïtum*. Moyennes arithmétiques et résultats du test de Bonferonni.

	<i>Effectif</i>	Poids (g)	Longueur (mm)	Périmètre (mm)
<i>Moyenne générale</i>	60	3.28	7.20	1.34
Lot		P<0.05	NS	NS
R ⁺	20	4.01 ^a	7.53	1.40
R ⁻	20	2.75 ^b	6.71	1.33
R ⁻ + GnRH	20	3.08 ^b	7.35	1.30
Stade p.c.		NS	NS	NS
0h	6	3.54	8.18	1.36
2h	6	2.51	7.70	1.03
6h	6	3.20	8.34	1.24
8h	6	3.26	6.89	1.32
10h	6	2.57	6.93	1.23
10h30	6	4.56	6.07	1.68
11h	6	3.40	6.16	1.62
12h	6	3.47	7.58	1.23
13h	6	2.71	6.72	1.22
14h	6	3.58	7.40	1.47
Lot*stade⁽¹⁾		NS	NS	NS

(1) Interaction lot * stade

Le poids des cornes utérines varie significativement en fonction de la réceptivité des lapines (figure 5.138). En effet, il est plus élevé chez les lapines R+

comparé aux deux autres lots (27%; $P < 0,05$). Le poids des cornes utérines n'est pas influencé par le stade *p.c* (figure 5.139).

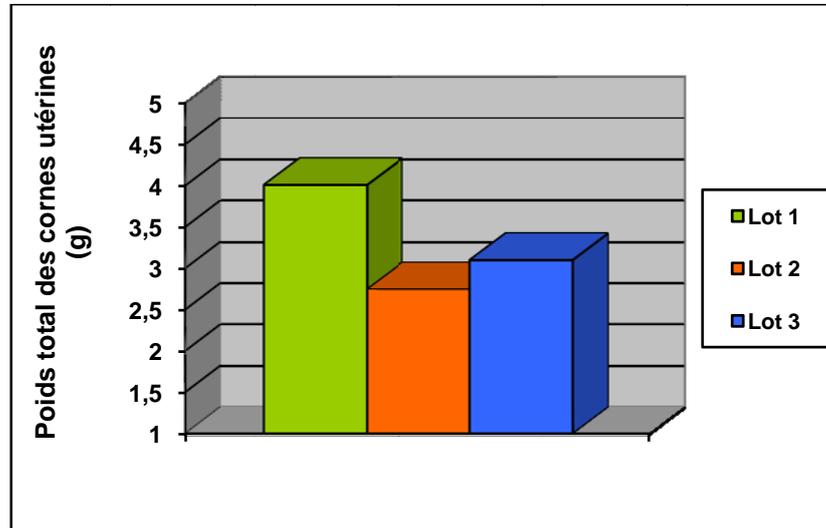


Figure 5.138: Poids total des cornes utérines des lapines des 3 lots

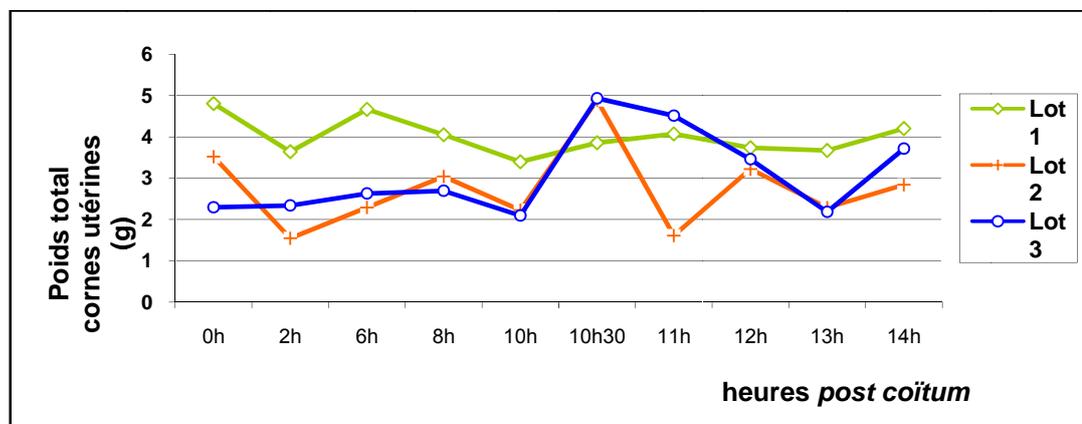


Figure 5.139: Poids total des cornes utérines des lapines dans la phase *post coïtum*.

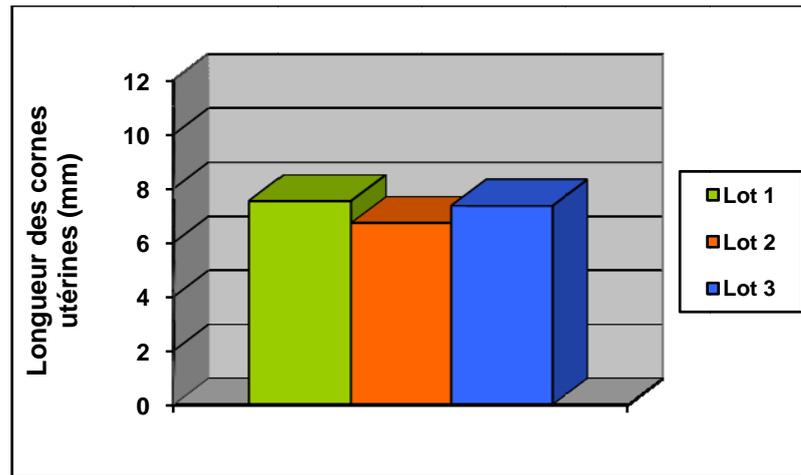


Figure 5.140: Longueur moyenne des cornes utérines des lapines des 3 lots

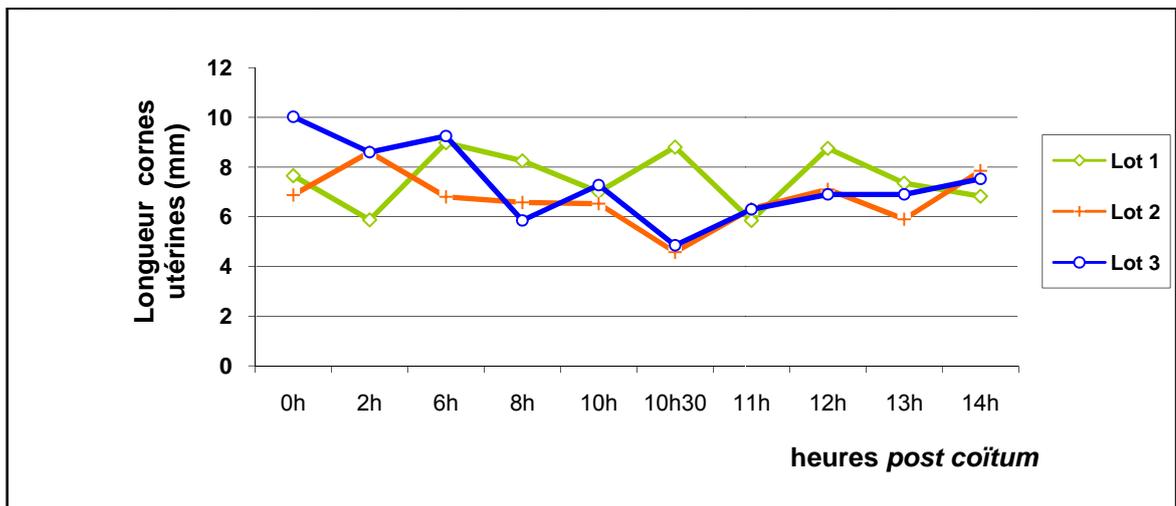


Figure 5.141: Longueur totale des cornes utérines des lapines dans la phase *post coïtum*.

Ni la longueur des cornes (figures 5.140 et 5.141), ni leur périmètre (figures 5.142 et 5.143) ne sont influencés par la réceptivité ou le stade physiologique des lapines dans les 14h suivant l'accouplement.

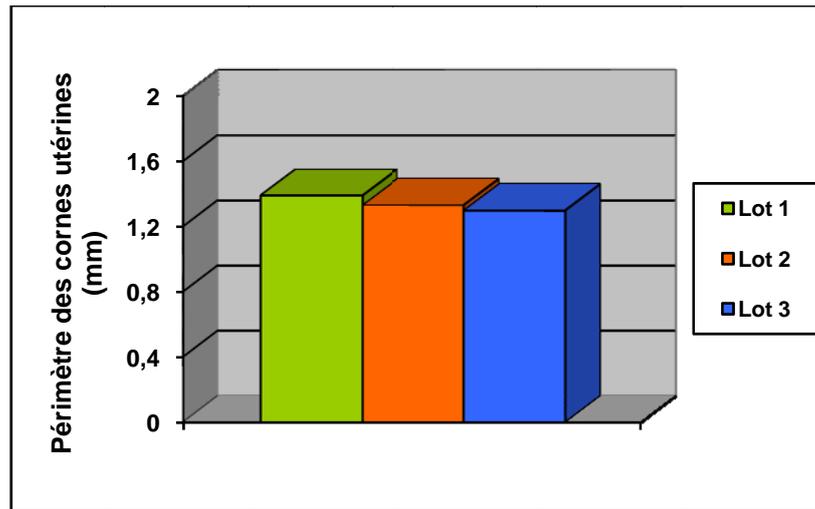


Figure 5.142: Périmètre moyen des cornes utérines des lapines des 3 lots.

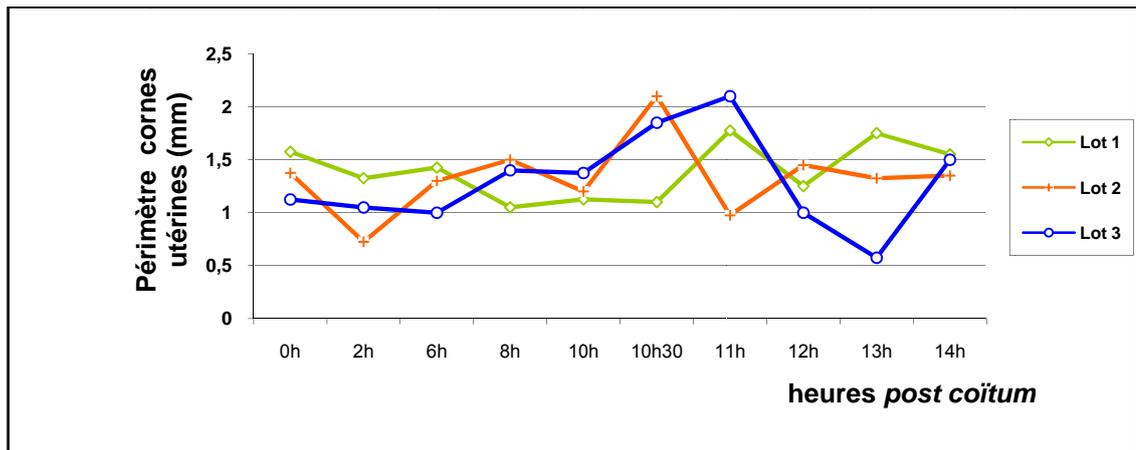


Figure 5.143: Périmètre des cornes utérines des lapines dans la phase *post coïtum*

5.2-6-2-2 Etude microscopique

5.2-6-2-2-1. Dénombrement des différentes populations folliculaires dans la phase *post coïtum* (Tableau 5.15).

Tableau 5.15: Dénombrement des différentes populations folliculaires dans la phase *post coïtum*. Moyennes arithmétiques et résultats du test de Bonferroni.

Follicules							
	<i>Effectif</i>	primaires	secondaires	tertiaires	préovulatoires	atrésiques	rompus
<i>Moyenne générale</i>	60	21.4	22.5	8.7	1.7	1.3	1.8
Lot		P<0.05	P<0.05	NS	NS	NS	NS
1 R+	20	18.1 ^a	19.1 ^a	9.3	1.8	0.8	2.5
2 R ⁻	20	22.2 ^b	26.2 ^b	8.8	2.0	1.9	1.1
3 R ⁻ + GnRH	20	24.0 ^b	22.3 ^{ab}	8.2	1.4	1.3	1.9
Stade p.c.	NS	P<0.05	NS	NS	P<0.05	NS	P<0.05
0h	6	18.3 ^{bc}	22.3	11.2	1.8 ^{ab}	1.3	0.0 ^a
2h	6	21.7 ^{abc}	24.3	8.0	2.5 ^{ab}	1.3	0.0 ^a
6h	6	20.8 ^{bc}	24.0	7.7	3.0 ^a	0.7	0.0 ^a
8h	6	19.5 ^{bc}	20.2	6.7	1.8 ^{ab}	1.7	0.0 ^a
10h	6	17.0 ^c	23.7	9.5	1.5 ^{ab}	2.2	1.5 ^{ab}
10h30	6	22.7 ^{abc}	19.0	7.7	1.7 ^{ab}	0.8	2.5 ^{ab}
11h	6	18.0 ^c	18.0	7.0	2.0 ^{ab}	1.7	3.0 ^{ab}
12h	6	21.5 ^{abc}	18.3	9.2	1.5 ^{ab}	1.0	3.5 ^{ab}
13h	6	25.8 ^a	27.8	11.0	1.2 ^{ab}	1.8	2.3 ^{ab}
14h	6	28.8 ^a	27.5	9.5	0.2 ^b	0.3	5.2 ^b
Lot*stade⁽¹⁾		P<0.001	NS	NS	NS	NS	NS

Le nombre de follicules primaires est significativement plus faible chez les femelles réceptives que chez les non réceptives traitées ou pas avec du GnRH (respectivement 18,1 vs 24,0 et 22,2) figure 5.144. Le stade *post coïtum* influence significativement leur nombre. En effet, à 13h et 14h *p.c.* il est généralement plus élevé qu'à des stades plus précoces. Cependant, le lot interagit avec le stade. En effet, la figure 5.145, montre que ce sont surtout les lapines R⁻ non traitées avec de la GnRH qui ont une augmentation importante du nombre de follicules primaires à 13h *p.c.*

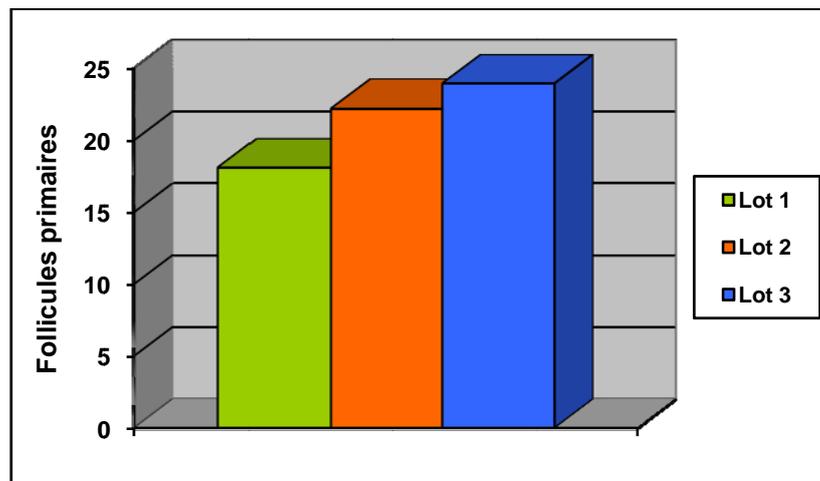


Figure 5.144: Nombre moyen des follicules primaires des lapines des 3 lots

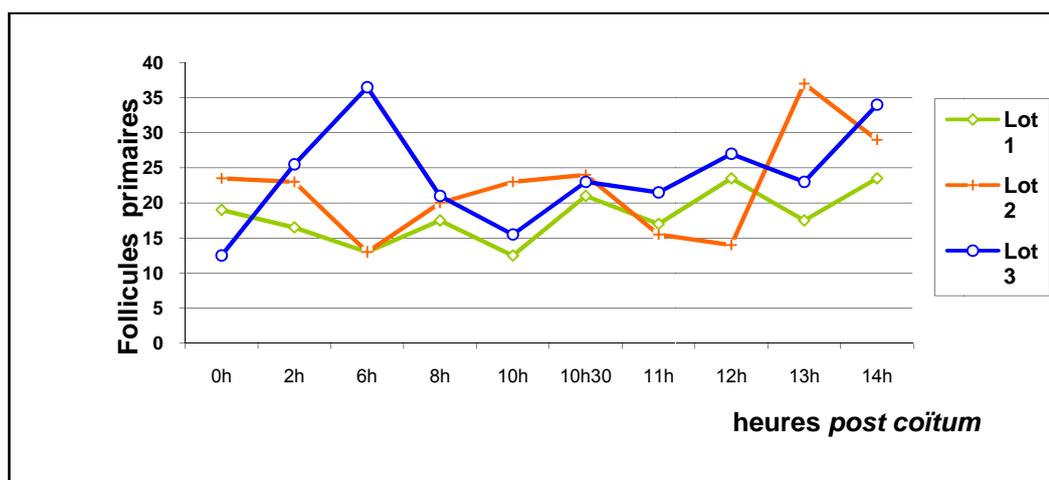


Figure 5.145: Nombre moyen de follicules primaires des lapines dans la phase *post coïtum*.

Le nombre de follicules secondaires est significativement plus élevé chez les lapines (R⁻) que chez les femelles (R⁺) (respectivement 26,2 vs 19,1), il est intermédiaire chez les lapines R⁻ traitées avec du GnRH (22,3) figure 5.146. Le stade *post coïtum* n'influence pas le nombre de follicules secondaires, figure 5.147.

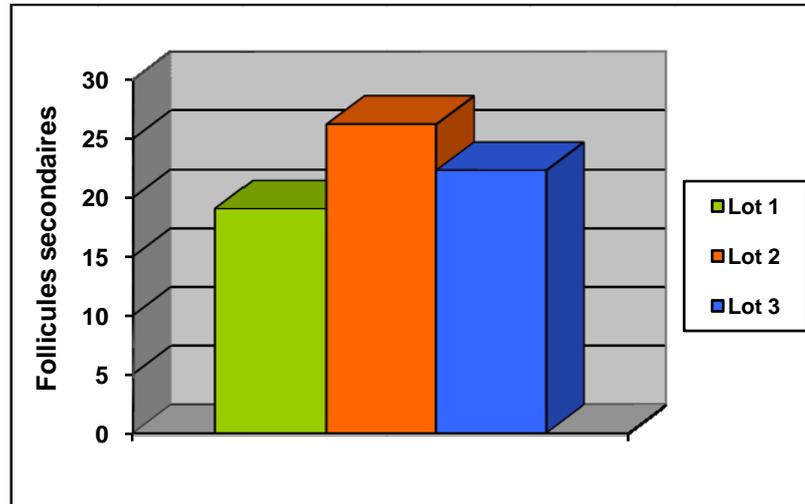


Figure 5.146: Nombre moyen des follicules secondaires des lapines des 3 lots.

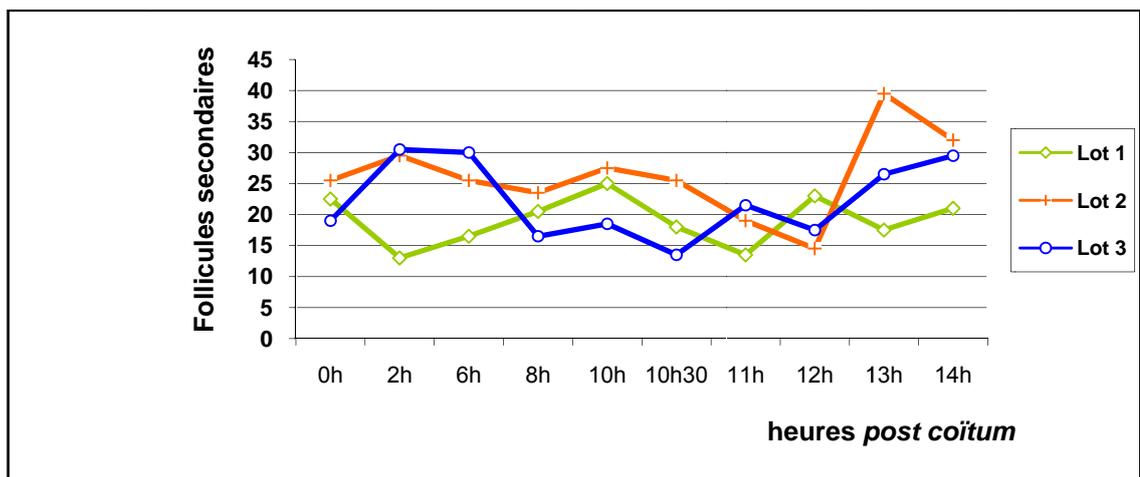


Figure 5.147: Nombre moyen de follicules secondaires des lapines dans la phase *post coïtum*

Le nombre de follicules tertiaires ne varie pas significativement ni en fonction de l'expression de la réceptivité des lapines (traitées ou non) figure 5.148, ni en fonction du stade physiologique *p.c.* (figure 5.149).

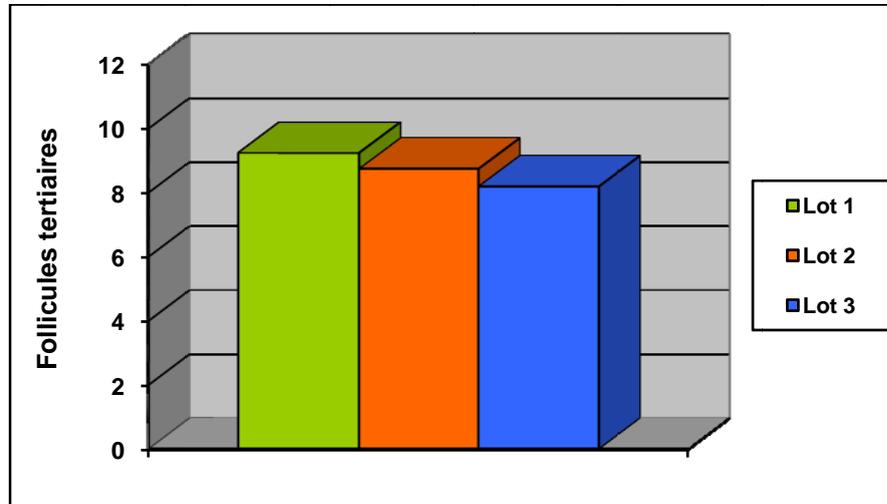


Figure 5.148: Nombre moyen des follicules tertiaires des lapines des 3 lots.

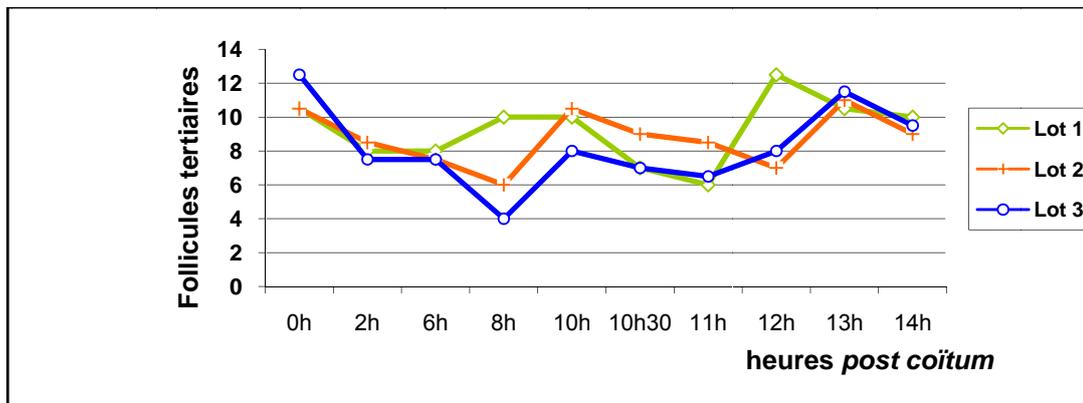


Figure 5.149: Nombre moyen de follicules tertiaires des lapines dans la phase *post coïtum*.

Le nombre moyen de follicules pré ovulatoires est plus important chez les lapines R non traitées, cependant la différence n'est pas significative (figure 5.150). Cependant, le nombre de follicules pré ovulatoires, varie significativement en fonction du stade *p.c.*, et semble décroître à partir de 10h. En effet, le nombre de follicules pré ovulatoires est significativement plus élevé à 6h *p.c.* qu'à 14h *p.c.* (respectivement 3,0 vs 0,2, $P < 0,05$) (figure 5.151).

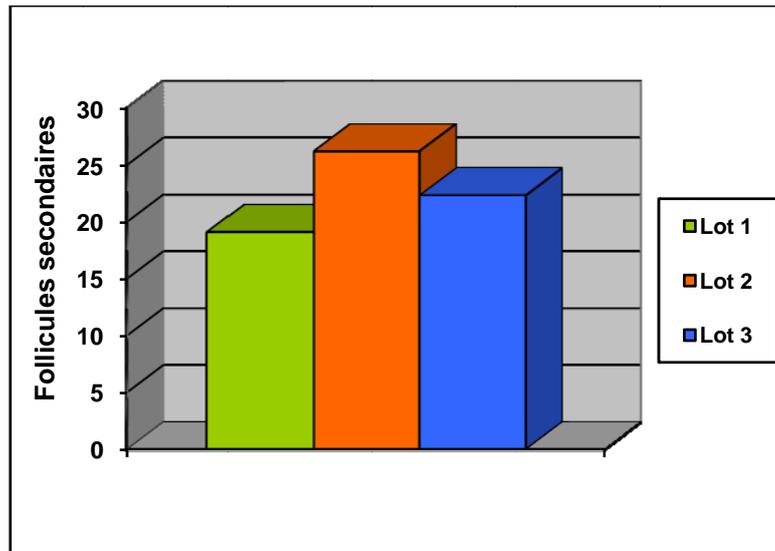


Figure 5.150: Nombre moyen des follicules pré ovulatoires des lapines des 3 lots.

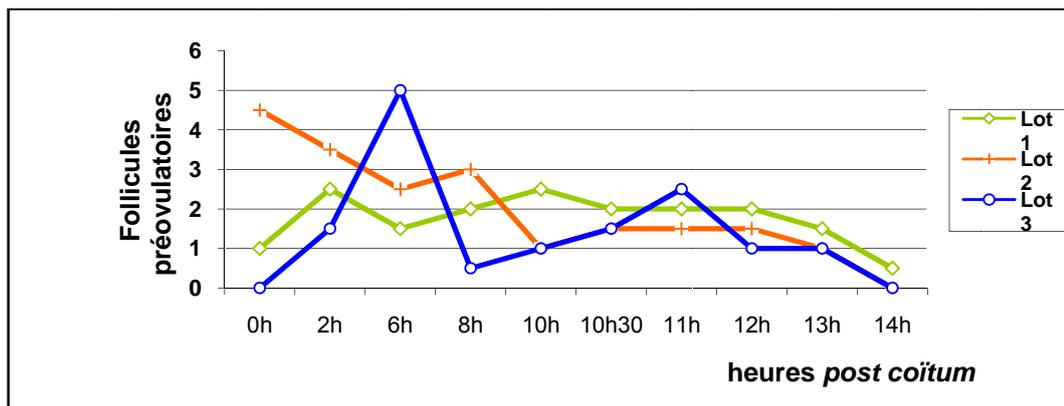


Figure 5.151: Nombre moyen de follicules pré ovulatoires des lapines dans la phase *post coïtum*.

Le nombre de follicules atresiques des lapines est plus important chez les lapines R⁻ (respectivement 0,8, 1,9 et 1,3). Néanmoins, cette différence n'est pas significative (figure 5.152).

Dans la phase *post coïtum*, le nombre de follicules atresiques ne varie pas significativement (figure 5.153). Chez les lapines R⁺, le nombre moyen de follicules atresiques est peu variable (entre 0 et 2,5), alors qu'il est beaucoup plus variable chez les non réceptives traitées ou non au GnRH (R⁻ + GnRH) ou R⁻.

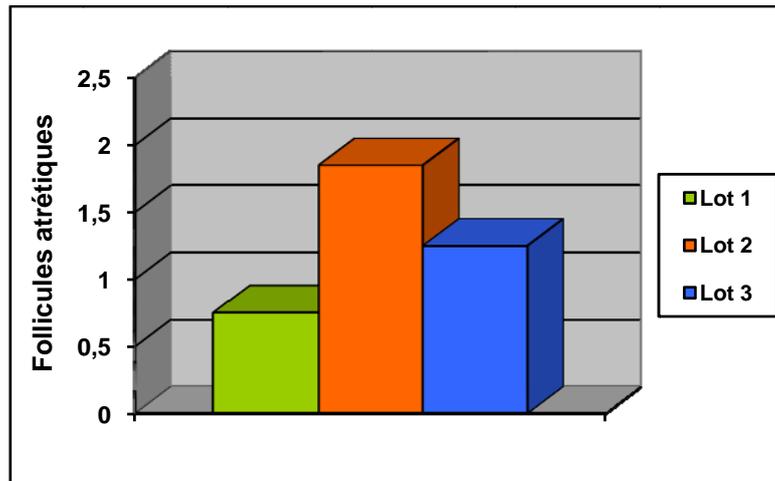


Figure 5.152: Nombre moyen des follicules atrétiq. des lapines des 3 lots.

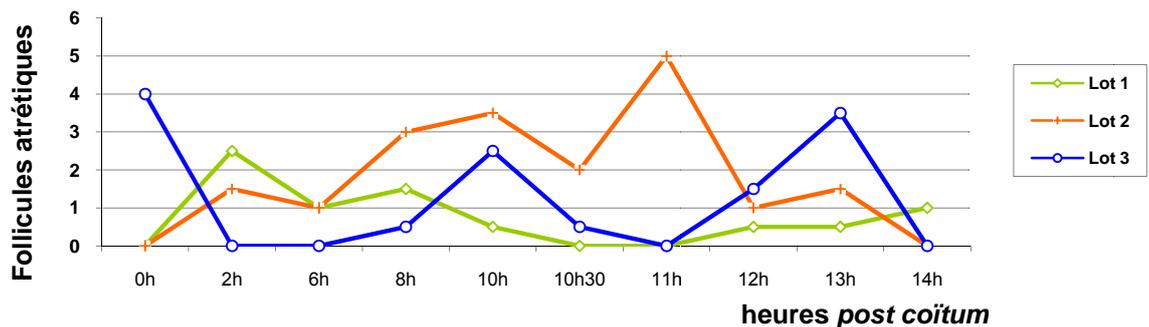


Figure 5.153: Nombre moyen de follicules atrétiq. des lapines dans la phase *post coïtum*

Enfin, le nombre de follicules rompus est plus élevé chez les R+, cependant, la différence n'est pas significative (figure 5.154). Par contre, le nombre de follicules rompus diffère significativement en fonction du stade *p.c.* En effet, aucune ovulation n'est constatée dans les 8 premières heures, les premières sont observées à 10h *p.c.*, le nombre de follicules rompus, augmente généralement pour atteindre un maximum à 14h *p.c.* (5,2), on peut noter sur la figure (5.155), que l'augmentation du nombre de follicules rompus, est beaucoup plus régulière sur les lapines R+.

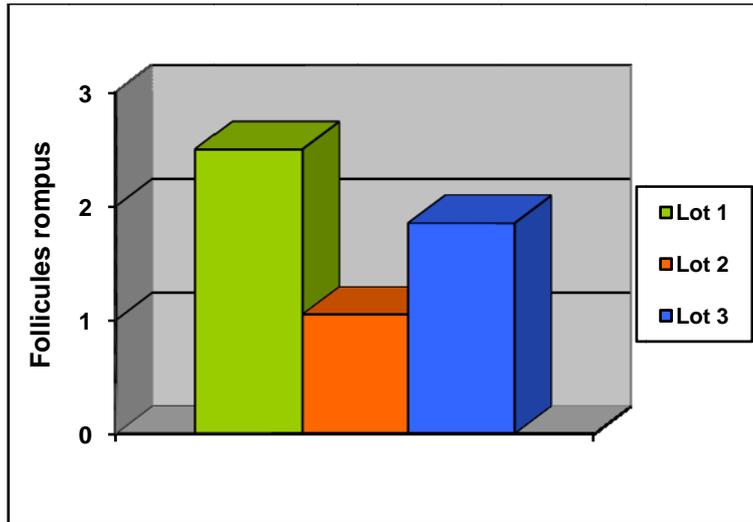


Figure 5.154: Nombre moyen des follicules rompus des lapines des 3 lots

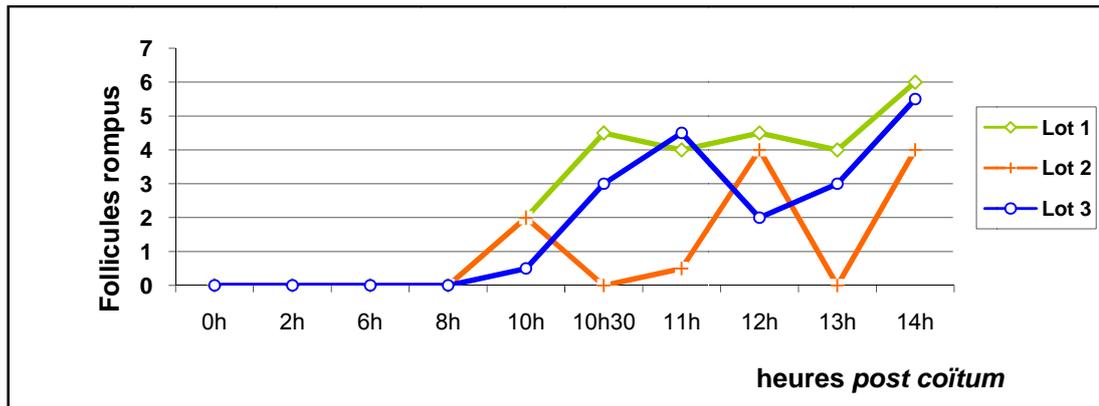


Figure 5.155: Nombre moyen de follicules rompus des lapines dans la phase *post coitum*.

5.2-6-2-2-2 Etude morphométrique des follicules antraux dans la phase *post coitum*.

Tableau 5.16: Taille des follicules antraux et ses composants, dénombrement des corps de Call et Exner. Résultats de l'analyse de variance. Moyennes estimées.

	<i>Effectif</i>	Diamètre Follicules (μm)	Diamètre ovocyte (μm)	Epaisseur zone pellucide (μm)	Nombre corps Call Exner
<i>Moyenne générale</i>	422	640	99	17	3.32
R^2		0.142	0.054	0.088	0.208
Lot		P<0.001	NS	NS	P<0.001
1 R+	156	567 ^a	99	17	2.81 ^a
2 R ⁻	123	604 ^a	97	17	3.20 ^a
3 R ⁻ + GnRH	143	722 ^b	99	18	3.99 ^b
Stade p.c.		P=0.092	NS	P=0.098	P<0.001
0h	50	532 ^a	101	15 ^a	4.03 ^a
2h	45	714 ^b	101	18 ^{ac}	3.64 ^a
6h	43	608 ^{ab}	103	17 ^{ac}	2.64 ^{bc}
8h	43	718 ^b	101	15 ^a	3.51 ^{ac}
10h	38	595 ^{ab}	96	13 ^b	2.68 ^c
10h30	34	630 ^{ab}	92	20 ^c	3.70 ^a
11h	29	606 ^{ab}	94	16 ^{abc}	2.72 ^c
12h	57	669 ^b	101	19 ^{ac}	3.74 ^a
13h	42	542 ^a	97	18 ^{ac}	3.95 ^a
14h	41	700 ^b	99	19 ^{ac}	2.67 ^c
Lot*stade⁽¹⁾		P=0.052	NS	NS	P<0.001

(1) Interaction significative pour l'analyse de variance incluant l'effet fixé du lot, du stade et de l'interaction lot* stade.

Le diamètre des follicules antraux diffère significativement en fonction du lot (figure 5.156) et du stade physiologique des lapines (figure 5.157). En effet, le diamètre des follicules antraux des femelles ayant subi une saillie assistée et traitées avec la GnRH est significativement plus élevé comparé (respectivement 567, 604 vs 722 μm) aux lots 1 et 2 (+19% ; $p < 0,001$). Le diamètre des follicules antraux des ovaires à 2h, 8h, 12h et 14h *p.c* est significativement supérieur comparé à celui de 0h *p.c* (+24%) et à celui de 13h *p.c* (+ 23%). Cependant ces différences ne sont pas significatives.

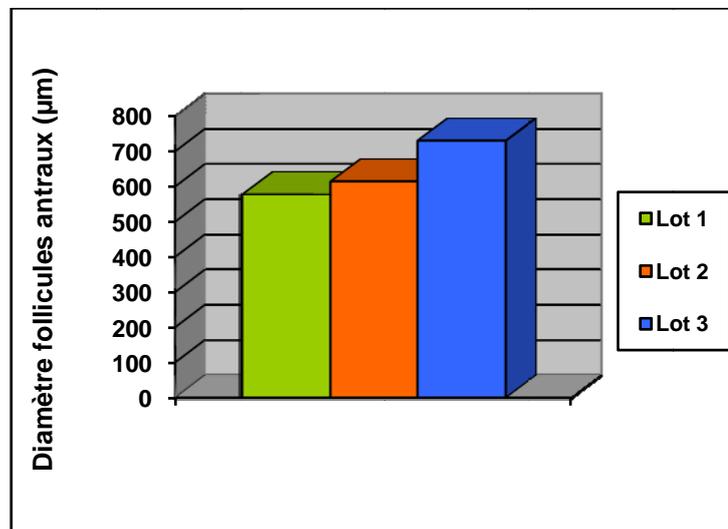


Figure 5.156: Diamètre des follicules antraux des lapines des 3 lots

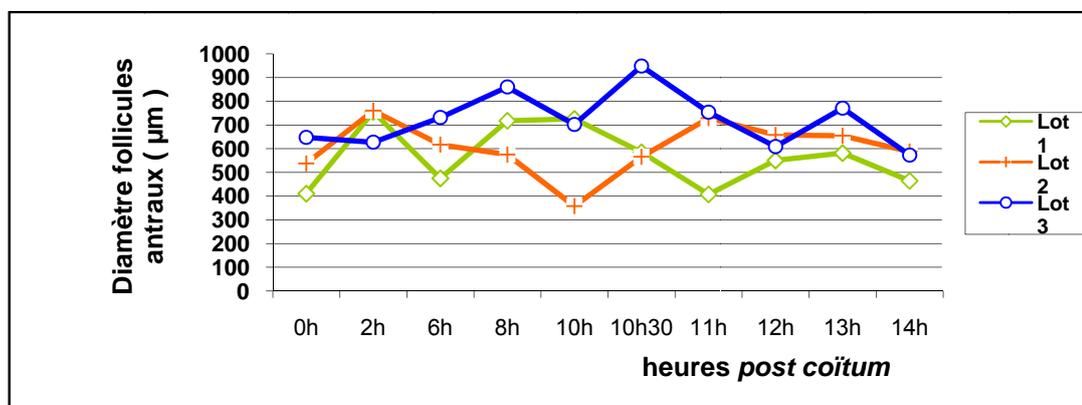


Figure 5.157: Diamètre des follicules antraux des lapines dans la phase *post coïtum*.

Le diamètre des ovocytes ne diffère significativement ni en fonction du lot (figure 5.158) ni en fonction du stade *p.c* (figure 5.159). En effet, le diamètre des ovocytes des lapines des 3 lots, dans la phase *p.c.* est très proche, il ne varie que de 92 μm à 103 μm d'épaisseur.

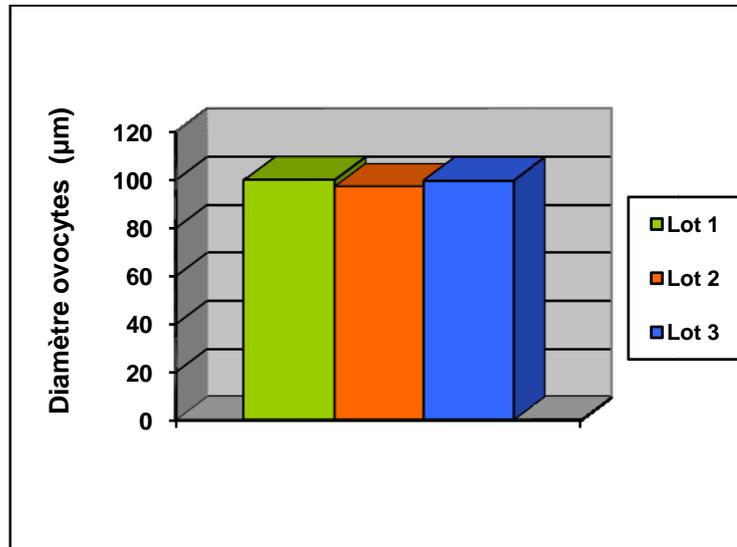


Figure 5.158: Diamètre des ovocytes des lapines des 3 lots.

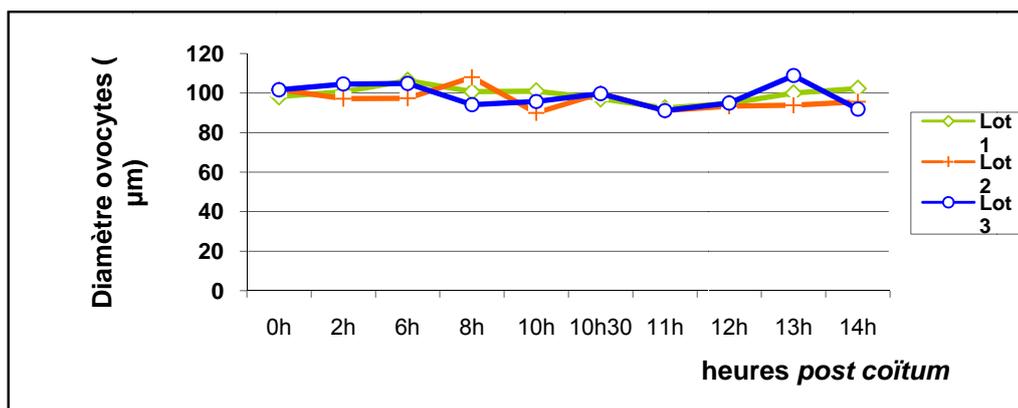


Figure 5.159: Diamètre des ovocytes dans la phase *post coitum*

De même, l'épaisseur de la zone pellucide autour des ovocytes ne varie pas en fonction du lot (figure 5.160). Cependant, l'épaisseur de la zone pellucide

est faible en particulier à 0h et 8h *p.c.* (15 μm) augmente en particulier à partir de 10h30 *p.c* et ne diffère plus significativement par la suite (figure 5.161).

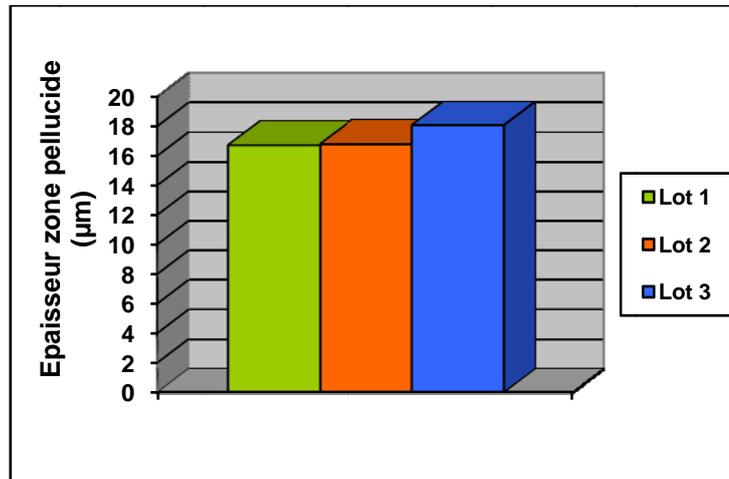


Figure 5.160: Epaisseur de la zone pellucide des lapines des 3 lots

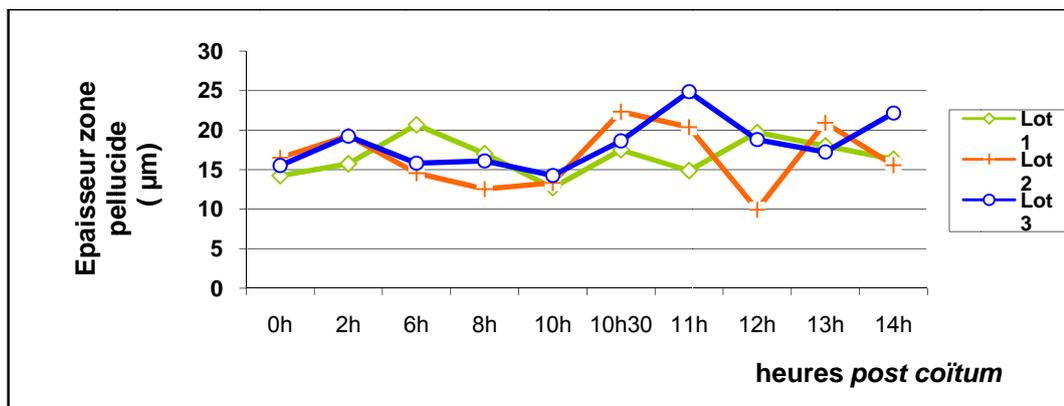


Figure 5.161: Epaisseur de la zone pellucide des ovocytes dans la phase *post coïtum*

Le nombre de corps de Call et Exner est significativement influencé par le lot (figure 5.162) et le stade *post coïtum* (figure 5.163). En effet, le nombre de corps de Call et Exner ne varie pas significativement en fonction de la réceptivité, cependant, il est important chez les lapines R⁻ traitées au GnRH (respectivement 2,81, 3,20 vs 3,99, + 30%, $P < 0,001$). Le lot et le stade *p.c.* interagissent sur le nombre de corps de Call et Exner $P < 0,001$. En effet, on remarque chez les seules

lapines R⁻ traitées au GnRH que le nombre de Call et Exner est supérieur dans les heures qui suivent l'accouplement (de 0 à 2h *p.c.*).

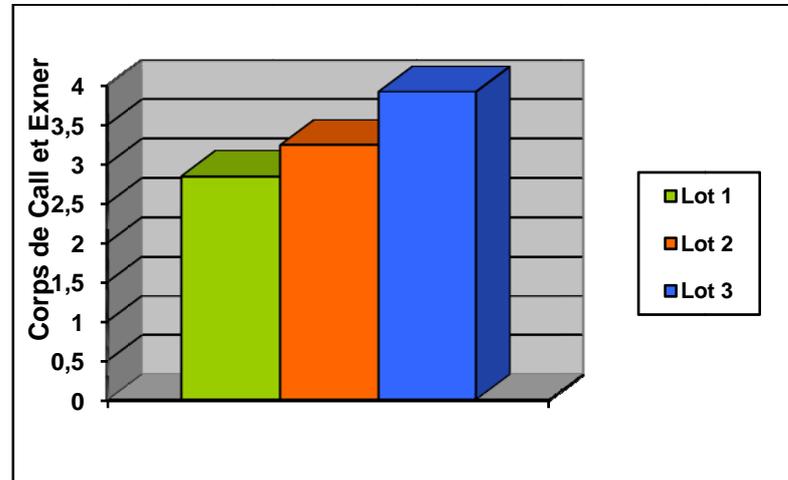


Figure 5.162: Nombre des corps de Call et Exner des lapines des 3 lots.

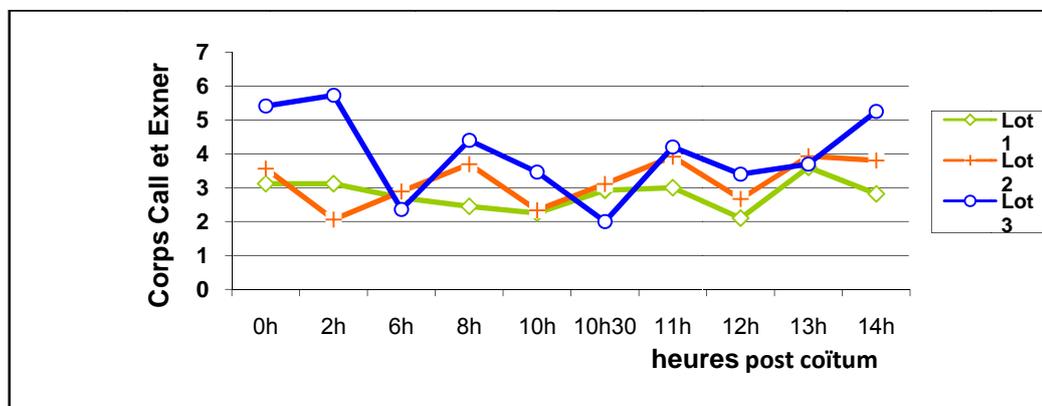


Figure 5.163: Nombre de Call et Exner dans les follicules des lapines dans la phase *post coïtum*

5.2-6-2-3 Dosages hormonaux

Les résultats des dosages de 17β -œstradiol et de progestérone en fonction du lot et du stade *p.c.* sont indiqués dans le tableau 5.17.

Tableau 5.17: Concentrations plasmatiques de 17 β -œstradiol et de progestérone dans la phase 0 – 14 h *post coïtum*.

	<i>Effectif</i>	17 β -œstradiol (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)
<i>Moyenne générale</i>	60	221	1.25
Lot		P<0.05	NS
(R ⁺)	20	163 ^a	1.14
(R ⁻)	20	188 ^{ab}	1.23
(R ⁻ + GnRH)	20	311 ^b	1.36
Stade p.c.		NS	P<0.005
0h	6	244	2.10 ^{ab}
2h	6	229	2.02 ^{abc}
6h	6	228	2.79 ^a
8h	6	205	1.57 ^{abcd}
10h	6	210	0.69 ^d
10h30	6	256	0.96 ^{bcd}
11h	6	199	0.74 ^{cd}
12h	6	200	0.59 ^d
13h	6	233	0.38 ^d
14h	6	203	0.63 ^d
Lot*stade⁽¹⁾		NS	NS

La concentration plasmatique de 17 β -œstradiol est en moyenne de 221pg/ml, elle est significativement influencée par le lot (figure 5.164). En effet, les lapines non réceptives traitées au GnRH présentent une concentration plasmatique en 17 β -

œstradiol plus élevée en particulier pour les lapines réceptives (+48% ; $p < 0,05$) et ceci pratiquement tout au long de la période observée (0h à 14h *p.c*), figure 5.165.

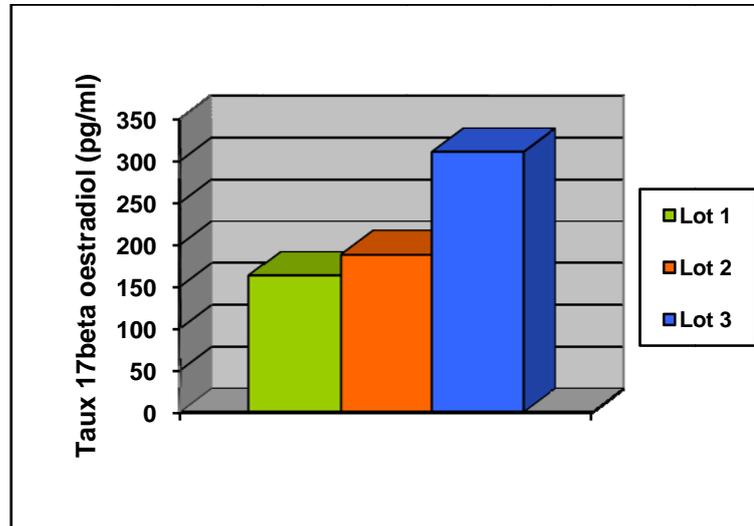


Figure 5.164: Taux moyen de 17β-œstradiol (pg/ml) des lapines des 3 lots.

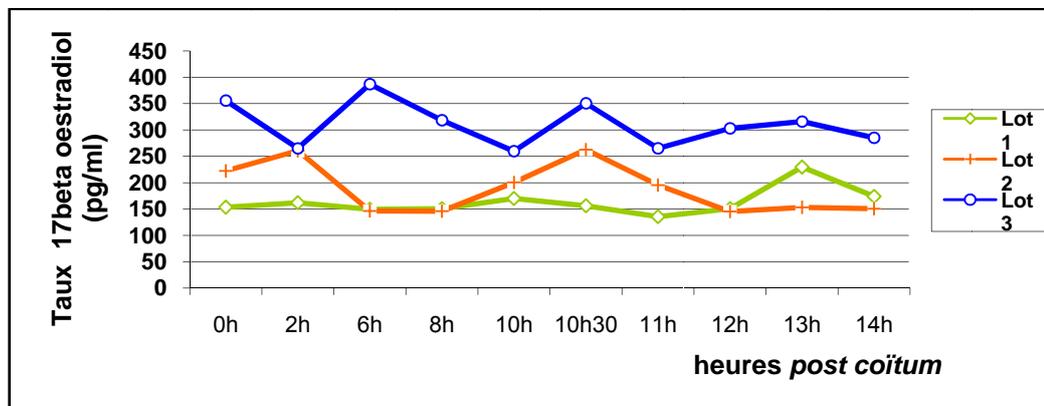


Figure 5.165: Taux de 17β-œstradiol (pg/ml) des lapines dans la phase *post coitum*

La concentration plasmatique en progestérone (moyenne : 1,25 ng/ml), ne varie pas significativement en fonction de la réceptivité et / ou du traitement de GnRH (figure 5.164). Nous remarquons qu'entre 0h et 8h *p.c*, son taux moyen était de 2,12 ng/ml. Il subit une chute drastique au moment de l'ovulation (10h *p.c*) : 0,69 ng/ml (figure 5.165).

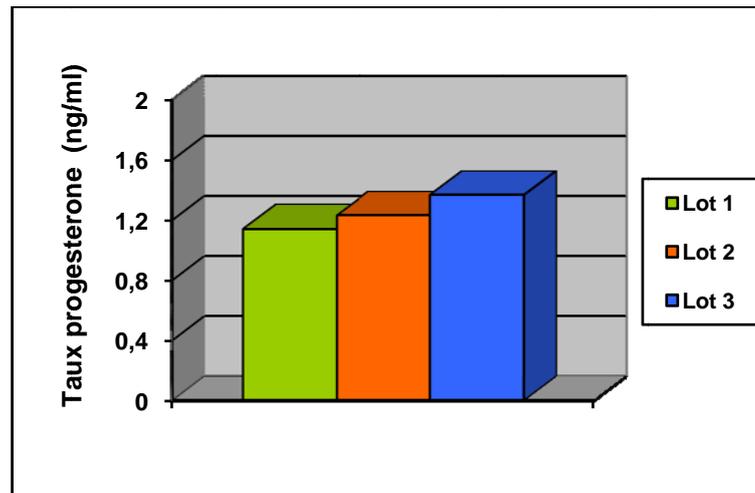


Figure 5.166: Taux moyen de progestérone (ng/ml) des lapines des 3 lots

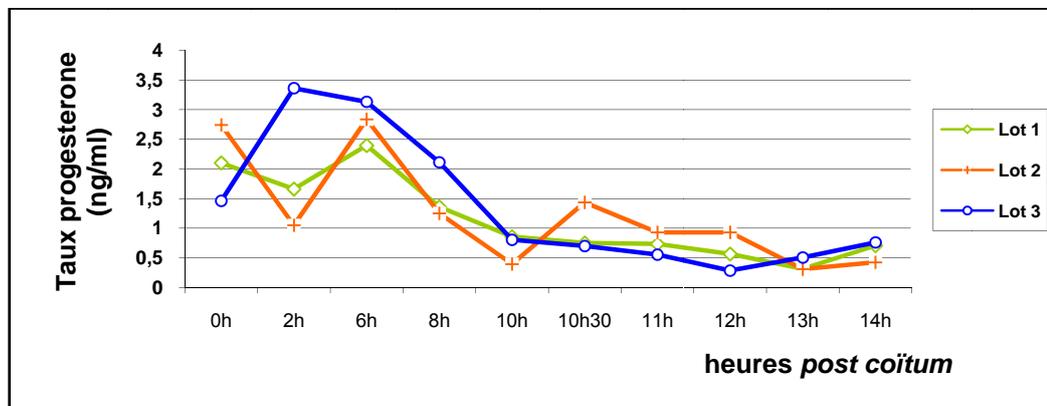


Figure 5.167: Taux de progestérone plasmatique des lapines dans la phase *post coïtum*.

5.2-6-3 Discussion

L'objectif de cette expérience était d'étudier les variations morphométriques au niveau des ovaires et des cornes utérines, ainsi que les concentrations plasmatiques du 17β -œstradiol et de la progestérone chez des lapines réceptives et non réceptives ayant subi une saillie assistée ou éventuellement suivie d'une injection de GnRH, dans les 14h suivant l'accouplement.

1) Influence de la réceptivité et du traitement de GnRH des lapines non-réceptives sur les caractéristiques de l'ovaire et des cornes utérines, des populations folliculaires et la sécrétion d'œstradiol et de progestérone.

Nous constatons que les femelles ayant une vulve rouge et turgescente ont accepté l'accouplement dès leur première présentation au mâle, elles étaient réceptives (lot 1). En revanche, les femelles des lots 2 et 3, avec une vulve pâle et non turgescente ont refusé l'accouplement pendant deux jours consécutifs de présentation, elles étaient non réceptives. Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, plusieurs auteurs ont montré que la réceptivité est maximale (90%) quand la couleur de la vulve est rouge et minimale quand elle est pâle [217 ; 216; 490; 491 ; 492]. Gozalves (1986) [493] a assigné à chaque femelle une faible ou haute réceptivité selon la couleur de la vulve et sa turgescence. En effet, les femelles avec une vulve pâle ou violette mais non turgescente sont peu réceptives et celles à vulve rose, rouge ou violette et turgescente sont hautement réceptives. De plus, Diaz et *al*, 1987 [190], ont montré des défauts de fécondation chez les femelles avec une vulve blanche ou pâle. Malgré le caractère subjectif de cette estimation, en insémination artificielle, l'appréciation de la couleur de la vulve est parfois utilisé afin d'estimer la réceptivité des femelles [494; 215 ; 495; 210].

Dans notre expérience, au moment de la présentation des lapines au mâle, le poids des femelles réceptives était significativement plus élevé que celui des femelles non réceptives traitées ou non avec la GnRH. Il existe très peu de résultats bibliographiques concernant la relation entre la réceptivité sexuelle et le poids des lapines et notamment chez la lapine de population locale algérienne. Cependant, une étude récente sur des lapines primipares, a montré que le poids des lapines locales réceptives ne diffère pas de celui de lapines non réceptives [497]. De même, Mattaraia et *al*, 2005 [491] sur des lapines nullipares de type génétique différent, ont montré qu'il n'y a pas de relation entre le poids et la réceptivité des femelles au moment de la présentation. Par ailleurs, Hulot et *al*, 1982 [129], ont montré que des lapines réceptives nullipares âgées de 20 semaines et nourries à volonté étaient plus lourdes que les non réceptives.

Dans nos conditions expérimentales, chez des lapines nullipares le poids et la taille des ovaires des femelles réceptives ne diffère pas de ceux des femelles non réceptives traitées ou non à la GnRH. Le poids des ovaires des lapines utilisées dans cette expérience était en moyenne de 0,28 g est comparable à celui enregistré par Belabbas et *al*, 2001 [496] chez les femelles de même population et de même âge. Nos résultats sont similaires aux travaux de Mattaraia et *al*, 2005 [491] qui ont montré que le poids des ovaires des femelles ne diffère pas selon leur réceptivité (0,24 et 0,20g ; $p > 0,05$).

Les femelles réceptives ont un nombre plus élevé de follicules pré ovulatoires comparé aux non réceptives traitées ou non avec du GnRH (5,1 vs 3,7 et 1,6). De même, Lefèvre et Caillol, 1978 [205] ont montré que la moyenne du nombre de follicules pré ovulatoires est significativement plus élevée chez les femelles réceptives ($2,4 \pm 0,8$) que les femelles non réceptives ($0,3 \pm 0,2$). Kermabon et *al*, 1994 [202], ont mis en évidence que l'expression de la réceptivité sexuelle de la lapine est corrélée à la présence d'un nombre élevé de follicules à la surface de l'ovaire mesuré aux jours 1, 4 et 11 de lactation. Comparé aux non réceptives, les femelles réceptives présentent un plus grand nombre de follicules ($9,81 \pm 0,35$ vs $8,32 \pm 0,56$). Par ailleurs, pour améliorer la croissance folliculaire, augmenter le nombre de follicules pré ovulatoires et par conséquent la réceptivité de la femelle, la PMSG est couramment utilisée chez la lapine. Cette molécule est préférentiellement utilisée chez les femelles allaitantes [242].

Les femelles réceptives ont un plus grand nombre de corps jaunes comparé aux femelles non réceptives traitées ou non au GnRH (respectivement 3,3 vs 2,5 et 1,6) cependant, le nombre de lapines est trop faible pour mettre en évidence une différence significative

Le pourcentage de lapines réceptives ayant ovulé est le double (60%) comparé aux femelles non réceptives et non traitées au GnRH (30 %). Le traitement des lapines au GnRH a légèrement amélioré leur fréquence d'ovulation (40%), cependant, la différence n'est pas significative. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Theau-Clément et *al*, 1991 [498], qui en induisant l'ovulation dans 3 lots de femelles Angora avec 25UI ou 50UI d'hCG ou 0,8µg de GnRH, ont montré que le pourcentage de femelles qui ovulent est significativement amélioré par rapport à un lot témoin n'ayant subi qu'une saillie assistée. Le traitement hormonal a donc amélioré significativement la fréquence d'ovulation des lapines (86% contre 28%). Dans nos résultats les valeurs du nombre de corps jaunes observé chez les femelles R⁺ et R⁻ non traitées sont proches (5,4 et 5,3), mais il est amélioré (6,3) pour les femelles R⁺ + GnRH. Dans leurs conditions expérimentales, pour Theau-Clément et *al*, 1991 [498] le nombre de corps jaunes observés chez les femelles ayant ovulé, varie de 8,9 pour le lot témoin, et 11,3 pour le lot ayant reçu 0,8µg de GnRH, sans différence significative avec les femelles (10,7 et 10,9) ayant reçu 50UI et 25UI hCG. Chez les lapines de chair Theau-Clément et *al*, 1990 [216] ont montré que plus de 95% des femelles réceptives au mâle ovulent après une saillie naturelle ou à la suite d'une injection de GnRH. Alors que sur le lapin Angora, [498] toutes les femelles saillies étaient réceptives, les défauts d'ovulation restent inexplicables. Il est cependant peu probable qu'ils soient liés à un manque de follicules mûrs dans l'ovaire puisque après traitement hormonal (GnRH ou hCG) les taux d'ovulation sont normaux

.En effet, Kermabon et *al*, 1994 [202] observent un nombre de follicules pré ovulatoires prêts à rompre au moment de la décharge de LH et une concentration plus élevée des récepteurs mRNA à LH chez les lapines réceptives comparé aux non-réceptives (respectivement $1,11 \pm 0,1$ vs $0,43 \pm 0,05$). Cependant, Theau-Clément et *al*, 1990 [216] ont indiqué des défauts importants d'ovulation en saillie naturelle comparé à l'insémination artificielle pour laquelle l'ovulation est induite par une injection de GnRH (66 vs 91%, respectivement).

Le poids des cornes utérines varie en fonction de la réceptivité des lapines, tandis que ni la longueur des cornes, ni leur périmètre ne sont influencés par la réceptivité. Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune étude qui nous renseigne sur les caractéristiques des cornes utérines en fonction de la réceptivité. Seule, une étude récente, effectuée sur des lapines New Zélandaises pesant en moyenne 2 Kg et dont la couleur de la vulve était rose pâle [500], a montré que la longueur des cornes utérines était égale à 8,2 cm, donc proche de nos mesures sur les femelles non réceptives qui était de 6,7 cm.

L'étude microscopique a permis de dénombrer les différentes populations folliculaires dans la phase *post coitum*. Dans nos conditions expérimentales, le nombre de follicules primaires est significativement plus faible chez les femelles réceptives que chez les non réceptives traitées ou pas avec du GnRH (respectivement 18,1 vs 24,0 et 22,2). Le nombre de follicules secondaires est significativement plus élevé chez les lapines R⁻ que chez les femelles R⁺ (respectivement 26,2 vs 19,1), il est intermédiaire chez les lapines R⁻ traitées avec du GnRH (22,3). Ni le nombre de follicules tertiaires, ni le nombre de follicules pré ovulatoires, atrésiques ne varie significativement pas en fonction de l'expression de la réceptivité sexuelle. Cette approche est originale, car à notre connaissance aucune étude n'a quantifié les différentes populations folliculaires chez la lapine de population locale algérienne ou autre type génétique, en fonction de la réceptivité sexuelle. Cependant, Zitny et al, 2004 [501] ont observé que le nombre de follicules primaires, secondaires, tertiaires et pré ovulatoires étaient (respectivement 84,8; 10; 3,9 et 1,3) et Hutt et al, 2006 [124], sur des ovaires de lapines âgées de 12 semaines ont obtenu respectivement, 71, 72, 11 et 6.

Le nombre de follicules rompus, correspondant au nombre de corps jaunes observé macroscopiquement, est plus élevé chez les lapines R⁺, comparé aux femelles R⁻ traitées ou non à la GnRH (2,5 vs 1,9 et 1,1), cependant la différence n'est pas significative. Il est en effet difficile d'évaluer exactement leur nombre sur les coupes histologiques. Il est plus facile de les compter directement sur les ovaires à la loupe (présentent un stigma rouge et turgescents). L'écart entre les valeurs des deux techniques obtenues dans nos conditions est de +26 % en faveur de la technique macroscopique.

Le diamètre des follicules antraux était significativement élevé chez les femelles R⁻ et traitées avec la GnRH comparé aux femelles R⁻ non traitées et R⁺ (respectivement 722 vs 604 et 567). Le diamètre des ovocytes et l'épaisseur de la zone pellucide ne diffèrent pas significativement en fonction de la réceptivité des lapines des 3 lots étudiés. La littérature ne nous renseigne pas sur la relation entre la réceptivité sexuelle et le diamètre des follicules, des ovocytes ou de l'épaisseur de la zone pellucide. Nos résultats montrent que la moyenne du diamètre des follicules antraux est égale à 640µm. Cette valeur est proche de celle obtenue par Zitny et al, 2004 [501] qui est de 682 µm mais inférieure à celle obtenue par Kranzfeler et al, 1984 [153], qui considèrent que les follicules pré ovulatoires sont ceux dont le diamètre se situe entre 800 à 900µm. Pour Hulot et Mariana, 1985 [403] et Mariana et al, 1989 [175], les diamètres de 800 et 951µm respectivement, sont caractéristiques du stade pré ovulatoire. Le diamètre des ovocytes est en moyenne égal à 99µm. Pour Zitny et al, 2004 [501], il est de 95,7µm. La moyenne de l'épaisseur de la zone pellucide est égale à 17µm, elle est proche de celle obtenue chez la chatte par Goodrowe et al, 1988 [502] et Barber et al, 2001 [503], (respectivement $17,4 \pm 0,5$ µm et $14,2 \pm 4,0$ µm).

Dans notre expérience, le nombre de corps de Call et Exner ne varie pas significativement en fonction de la réceptivité, cependant il est important chez les lapines R⁻ traitées au GnRH (respectivement 2,81, 3,20 vs 3,99). Dans la bibliographie, aucune étude n'a été réalisée sur le dénombrement des corps de Call et Exner, seule leur morphologie a été décrite par plusieurs auteurs [504 ; 470 ; 124].

De manière surprenante, la concentration plasmatique de 17β-œstradiol ne diffère pas significativement selon que les lapines sont réceptives ou non réceptives (respectivement 163 et 188 pg/ml). On remarque cependant, que les non réceptives traitées avec la GnRH ont des niveaux plus élevés que les non réceptives non traitées (311 vs 188 pg/ml). La littérature, nous renseigne peu sur le dosage de 17β-œstradiol plasmatique chez les lapines nullipares aux stades *post coitum* en fonction de leur réceptivité sexuelle. Sur des lapines multipares, Ubilla et Rebollar, 1994 (505) obtiennent un niveau de 17β-œstradiol plus élevé chez les lapines réceptives par rapport à celles de moyenne ou faible réceptivité ($15,2 \pm 0,13$ pg/ml vs $11,4 \pm 0,10$ pg/ml et $11,5 \pm 0,12$ pg/ml). Cependant, sur des

lapines en fin de lactation de population locale algérienne Mazouzi et al, 2001 [497] observent des taux plasmatiques de 17β -œstradiol significativement supérieurs chez les réceptives que chez les non-réceptives (respectivement 21,04 vs 16,42 pg/ml). Les niveaux significativement plus élevés de 17β -œstradiol chez les lapines R traitées avec la GnRH, par rapport aux réceptives (respectivement 311 vs 163 pg/ml) pourraient être dus à l'effet de la GnRH sur la sécrétion de FSH et donc à une croissance folliculaire plus élevée dans la phase pré ovulatoire.

Les concentrations plasmatiques moyennes de progestérone sont plus élevées chez les femelles non-réceptives traitées avec la GnRH par rapport aux femelles non réceptives non traitées et les femelles réceptives (respectivement 1,36 vs 1,23 et 1,14), cependant, la différence n'est pas significative. Sur des coupes histologiques, Terranova et al, 1980 [506] observent que le jeune corps jaune formé est pauvrement luteinisé à 10h *p.c* produisant ainsi une quantité limitée en progestérone.

2) Influence du stade *post coïtum* sur les caractéristiques de l'ovaire et des cornes utérines, des populations folliculaires et la sécrétion d'œstradiol et de progestérone

Le nombre de follicules pré ovulatoires est significativement plus élevé à 6h *p.c* qu'à 12 ou 14h *p.c* (respectivement 6,3 vs 1,3 et 0,8). Cette réduction du nombre de follicules pré ovulatoire dans la période *post coïtum* est vraisemblablement liée à l'éclatement des follicules observés à partir de 10h *p.c*.

Aucune ovulation n'a été constatée au cours des huit premières heures *post coïtum*. Les corps jaunes ont été observés à partir de 10h *p.c*. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, l'ovulation chez la lapine est observée généralement entre 10 à 12h après l'accouplement [22 ; 378, 507; 25; 467]. Cependant, Harper, 1963 [381], n'a pas observé d'ovulation 10h après l'injection d'hCG, mais il observe que 50% des ovulations surviennent en moyenne entre 10h30mn et 10h45mn et 100% à 14h. En revanche, Fugimoto et

al, 1974 [508], ont montré que les ovulations débutent dès 8h *p.c.* En effet, les pourcentages d'ovulation de 8 à 8h 30 mn, 10-10h 30 min, 12-12h 30mn et 14-14 h 30 mn sont respectivement de 1,4; 7 ; 14,9 et 25,3%. Ces résultats sont en contradiction avec ceux de Bonhoff et Adams, 1985 [509] qui n'ont observé aucune ovulation à 8h *p.c.* chez des femelles traitées avec la GnRH. Par ailleurs, Lopez et *al*, 1993 [510] ont observé 8,5 et de 8,6 corps jaunes pour les lapines ayant subi une saillie naturelle suivie respectivement d'une injection de 25UI d'hCG ou de 0,2 ml de GnRH (Fertagyl) respectivement. De leur part, Bonhoff et Adams, 1985 [509] ont observé des ovulations à 16h chez les lapines traitées à des doses de 5 et 10UI hCG et 0,2ml GnRH ce qui est en accord avec les résultats de Boumahdi-Merad et *al*, 2011 [511]. Il est vraisemblable que ces différentes conclusions soient le fait de l'utilisation de lapines de type génétique et/ ou de conduite d'élevage différents.

L'intensité d'ovulation des lapines nullipares est inférieure à celle déterminée sur des femelles de même origine et rapportés par Zerrouki et *al*, 2009 [512] et Belabbas et *al*, 2011 [496] avec des écarts respectifs de 47% et 20% et les femelles de race Néo-zélandaise, Californienne et même les femelles issues du croisement entre ces deux races et dont les écarts respectifs sont de 39 %, 45 % et 61 % [491, 77, 513] .

Le diamètre des follicules à 8h *p.c.* est égal à 718 μm et comparable aux résultats de Hulot et Mariana, 1985 [403], 800 μm au même stade. Ces auteurs expliquent qu'à 8h *p.c.*, le noyau de l'ovocyte est au stade anaphase - télophase de la première division de maturation où l'ovocyte a expulsé son premier globule polaire. Par ailleurs, on a noté que dans les ovaires des femelles traitées 14h *p.c.* avec la GnRH, la taille des follicules est égale à 722 μm , nos résultats sont comparables à ceux de Kranzfelder et *al*, 1984 [153], où 14h après l'injection de l'hCG, seulement des follicules dont le diamètre est supérieur à 700 μm sont présents.

Le stade physiologique des lapines dans la phase *post coïtum* n'influence pas le taux de 17 β -œstradiol. Cependant, les lapines non réceptives traitées au GnRH présentent une concentration plasmatique en 17 β -œstradiol plus élevée pratiquement tout au long de la période observée (0h à 14h *p.c.*). Tandis que

Younglai, 1972 [514] dans le liquide folliculaire, a obtenu aux stades 3h, 6h, 9h et 12h après l'accouplement, les valeurs de respectivement 271; 30; <10 et <10 pg/mg de 17 β -œstradiol.

La concentration plasmatique en progestérone entre 0h et 8h *p.c*, était de 2,12 ng/ml. Ce taux chute de manière drastique au moment de l'ovulation (10h *p.c*) : 0,69 ng/ml. De même, Terranova et *al*, 1980 [506] observent la chute de la concentration plasmatique de progestérone (0,98 ng/ml) à 10h *p.c*. Un profil similaire à celui de nos résultats est décrit par Mills et Gerardot, 1984 [515] où la concentration en progestérone atteint un pic 2h *p.c* après la saillie puis diminue après 12h *p.c* avant d'augmenter après 24h. Dans le liquide folliculaire, Younglai, 1972 [514] a obtenu chez des lapines vierges, à 3h, 6h, 9h et 12h suivant l'accouplement les valeurs de progestérone respectivement de : 2 ; 0,4 ; <0,20 et <0,20 ng/ml et Lefèvre et Caillol, 1978 [205] ont obtenu 1104 \pm 234 pg/mg de progestérone chez les femelles réceptives et 675 \pm 192 pg/mg chez les femelles non réceptives.

Conclusion

Dans cette expérience nous avons étudié la morphométrie du tractus génital de la lapine (cornes et ovaires), ainsi que la variation des concentrations plasmiqes de 17 β - œstradiol et de la progestérone en fonction de la réceptivité sexuelle (lapines réceptives et non réceptives), le mode d'induction de l'ovulation (saillie naturelle et saillie assistée sans ou avec injection de la GnRH) et au cours des stades 0 à 14h *post coïtum*.

A l'issue des résultats de ce travail, nous pouvons conclure que :

La réceptivité sexuelle des lapines est liée à la turgescence et à la coloration de leur vulve. En effet, toutes les femelles avec une vulve rouge et turgescence ont accepté l'accouplement dès la première présentation au mâle. Cependant, aucune femelle avec une vulve pâle et non turgescence n'a accepté de s'accoupler ce qui est en accord avec les données rapportées par la littérature.

Le poids et les dimensions des ovaires ne varient pas en fonction de la réceptivité des lapines et en fonction du mode d'induction de l'ovulation. Cependant, le **poids des cornes** était plus élevé chez les femelles réceptives. Ces résultats sont similaires aux données de la littérature mais il reste à expliquer en raison du manque des données relatives à ces aspects.

Le nombre de **follicules pré ovulatoires** évalué **macroscopiquement** a varié en fonction de la réceptivité et des stades post coïtum. Cependant, il ne varie pas entre les trois lots expérimentaux lorsqu'il est évalué microscopiquement (sur les coupes histologiques). Le nombre de **follicules pré ovulatoires** était significativement plus élevé à 6h par rapport à celui enregistré

à 14h (méthode microscopique) d'une part et ceux enregistrés à 0h et 6h comparés à ceux enregistrés à 12h et 14h d'autre part. Cette réduction est liée probablement à l'éclatement de ces follicules observés à partir de 10h ce qui est en accord avec les données de la littérature.

Par ailleurs, **l'intensité d'ovulation** des femelles utilisées dans cette étude est faible comparée aux femelles de même origine ou à des races et des souches sélectionnées étrangères.

La **fréquence d'ovulation** était significativement plus élevée chez les femelles réceptives comparées aux femelles non réceptives. Ces résultats corroborant avec les données de la littérature.

L'observation des coupes histologiques a révélé une grande variabilité du nombre des **follicules primaires** et **secondaires** en fonction de la réceptivité sexuelle. Par contre, ni le nombre de **follicules tertiaires, pré ovulatoires et atrésiques ne varie** en fonction de la réceptivité. Ces résultats originaux restent à vérifier sur un effectif plus important.

Les lapines non réceptives, ayant subi une saillie assistée ont un diamètre des follicules antraux plus élevé quand ils reçoivent une injection de GnRH. Les résultats obtenus concernant les diamètres des **follicules antraux** montrent que le traitement avec la GnRH a amélioré le diamètre de ces derniers. Cependant, le

diamètre des **ovocytes** et l'**épaisseur** de la **zone pellucide** n'ont pas été influencés par la réceptivité sexuelle ou le traitement hormonal. Par contre, le nombre des corps de Call Exner était plus élevé chez les femelles traitées avec la GnRH comparé à celui des femelles non traitées. Très peu d'études se sont attachées à décrire l'étude morphométrique des follicules pré ovulatoires au cours de l'ovulation rendant l'interprétation des résultats difficiles.

Par ailleurs, le traitement à la GnRH a augmenté la concentration moyenne de 17β -œstradiol plasmatique chez les femelles non réceptives durant toute la période *post coïtale* (0 à 14h). Cette augmentation pourrait être due à l'effet de la GnRH sur la sécrétion de FSH et donc à une croissance folliculaire plus élevée dans la phase pré ovulatoire.

Conclusion générale

L'exploitation du lapin de population locale algérienne peut constituer une alternative pour promouvoir le développement de l'activité cunicole mais cela nécessite au préalable une très bonne connaissance de son système d'élevage et de ses performances notamment celles liées à sa physiologie de reproduction.

Les travaux présentés dans ce document ont portés sur l'identification des performances des élevages cunicoles traditionnels de la région de la Mitidja (productivité et caractéristiques des élevages) dans un premier temps, et d'étudier les changements anatomo-histologiques de l'appareil génital femelle au cours du *post partum*, la croissance folliculaire au moment de la saillie et de l'ovulation et sa variation en fonction de la réceptivité sexuelle. Enfin, une étude morphométrique de l'appareil génital femelle (ovaires et cornes), une quantification de la population folliculaire et les concentrations hormonales (17β -œstradiol et la progestérone) en fonction de la réceptivité sexuelle et le mode d'induction de l'ovulation.

Les élevages cunicoles de la région de Mitidja sont caractérisés par une très grande hétérogénéité au point de vue performances. En effet, ces élevages se caractérisent par un nombre de femelles reproductrices faible un nombre de lapereaux supérieur à 20 par élevage. Une prédominance des vieux bâtiments et des bâtiments en parpaing avec soit des cages en bois (Alger), ou un élevage au sol bétonné ou en terre battue. Par ailleurs, le nombre de mise bas par an était de 5 dans la majorité des élevages et avec un nombre de lapereaux nés par portée qui est assez variable d'un élevage à un autre. Les mises bas sont très fréquentes au printemps par rapport aux autres saisons alors que la mortalité est plus importante en automne. Parmi les paramètres à étudier, la réceptivité n'a pu être évaluée en raison du manque d'importance accordée à ce critère de la part des éleveurs.

Au niveau de notre premier élevage expérimental, nos résultats montrent qu'au moment de la mise bas, la majorité des lapines ont présenté un comportement maternel normal tel que décrit dans la littérature (épilation, creusement, excitation, refus d'alimentation). La parturition a duré entre 20 à 30

minutes pour presque la totalité des femelles utilisées dans cette expérience. La régénérescence de l'épithélium utérin s'observe dès 4h et s'achève à 48h *post partum*. L'observation des ovaires a révélé la présence des follicules à différents stade d'évolution. Cependant, les corps jaunes sont dominants dans les premières heures mais ils régressent dès 16h *post partum*. De 24 à 48 heures, les corps jaunes deviennent rares et les follicules pré ovulatoires dominant.

Les lapines utilisées au cours de la deuxième expérience montraient un taux de réceptivité de 56% inférieur à celui rapporté chez la même population par la littérature en relation probablement avec la taille de l'effectif. Les lapines réceptives ont ovulé douze heures *post coitum*. En revanche, aucune ovulation n'est observée chez les lapines non-réceptives. Le pourcentage d'atrésie folliculaire et des ovocytes dégénérés étaient plus élevés chez les femelles non réceptives.

La réceptivité sexuelle des lapines est liée à la turgescence et à la coloration de leur vulve. En effet, toutes les femelles avec une vulve rouge et turgescence ont accepté l'accouplement dès la première présentation au mâle. Le nombre de follicules pré ovulatoires a varié en fonction des deux effets étudiés (réceptivité et stade *post coitum*). Par ailleurs, l'intensité d'ovulation des femelles utilisées dans cette étude est faible comparée aux femelles de même origine ou à des races et des souches sélectionnées étrangères. La fréquence d'ovulation était significativement plus élevée chez les femelles réceptives comparées aux femelles non réceptives corroborant avec la littérature. Les résultats obtenus concernant les diamètres des follicules antraux montrent que le traitement avec la GnRH a amélioré le diamètre de ces derniers. Le nombre des corps de Call Exner était plus élevé chez les femelles traitées avec la GnRH comparé aux autres femelles mais le manque de données concernant cet aspect a rendu l'interprétation des résultats difficile. Par ailleurs, le traitement à la GnRH a augmenté la concentration moyenne de 17β -œstradiol plasmatique chez les femelles non réceptives durant toute la période post coïtale (0 à 14h). Cette augmentation est liée à l'effet positif de la GnRH sur la sécrétion de FSH et par conséquent la croissance folliculaire et la sécrétion des œstrogènes.

Le taux élevé d'œstradiol enregistré chez les femelles des 3 lots étudiés, atteste la présence de follicules pré ovulatoires au sein des ovaires, bien que la présence des follicules atrésiques soit également importante chez les femelles non réceptives. Cela explique que le taux d'atrésie élevé, observé dans les ovaires des lapines non réceptives et qui n'ovulent pas, est certainement lié à la non décharge du 1^{er} pic de FSH et serait donc amélioré par la GnRH. L'atrésie serait un élément de régulation tardif du nombre de follicules pré ovulatoires et participe indirectement à la régulation du taux d'ovulation. Chez les femelles réceptives, l'absence d'atrésie résulte d'un niveau circulant de FSH plus élevé protégeant les follicules et accélérant leur croissance. Chez les femelles non réceptives, Il reste à démontrer si les ovocytes favorisent une très bonne viabilité des blastocystes.

Recommandations et perspectives

Ce travail constitue une étude préliminaire pour caractériser les performances de reproduction de la lapine locale en fonction de la réceptivité. Afin de réduire le taux de non réceptivité, dans les élevages de lapin, et de mieux comprendre le phénomène pour maîtriser la reproduction chez la lapine, une série de recherches sont à prévoir. Les conclusions auxquelles nous avons abouti, nous amènent à l'identification de plusieurs axes de recherche. A ce propos, plusieurs paramètres importants seraient à développer :

- Chez la population locale, les problèmes de reproduction peuvent être résolus en induisant l'ovulation par un traitement hormonal.
- L'amélioration de la réceptivité chez des femelles non réceptives peut être réalisée avec la PMSG 48h avant la présentation.
- Les observations d'ovocytes dégénérés et de zone pellucide seraient plus concluantes si les coupes sont réalisées à un niveau ultrastructural pour mettre plus clairement en évidence la relation entre ces deux composantes.
- Des études immunohistochimiques sur les corps de Call et Exner sont recommandées, afin de mieux connaître leur composition et leur relation avec le liquide folliculaire. Ceci est lié au fait qu'ils soient plus nombreux au niveau du liquide folliculaire des ovaires des femelles non réceptives. ***Ainsi ces corps sont ils responsables de l'atrésie folliculaire ?***
- Il serait intéressant de mettre en évidence les taux circulants de LH et FSH chez les femelles qui acceptent et celles qui refusent l'accouplement pendant la période des pics pré et post ovulatoires chez cette même population.

- L'application de biotechnologies (insémination artificielle et transfert embryonnaire) pour la reproduction des femelles de la population locale.
- Vérifier si la fertilité et la prolificité qui résultent de cette pratique sont également améliorées.

- Utiliser les méthodes d'étude à l'exemple de la coelioscopie pour la mesure du taux d'ovulation tout en gardant l'animal en vie.

- Informer les éleveurs de l'importance de l'utilisation des traitements hormonaux, la GnRH en particulier, et les aviser des pertes économiques suite à la non réceptivité.

References bibliographiques

1. Ferrah A., Yahiaoui S., Kaci A., et Kabli L., " Les Races de Petits Elevages (Aviculture, Cuniculture, Apiculture, Pisciculture". Recueil Des Communications Ateliers n°(3) « Biodiversité Importante pour l'Agriculture »MATE-GEF/PNUD Projet ALG/97/G31.tome X.52-61
2. Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., Bolet G., "Strategy of developping rabbit meat in Algeria : creation and selection of a synthetic strain".9th World Rabbit Congress verona .Italy. (june 2008),85-89.
3. Berchiche, M., Zerrouki, N., Lebas, F., "Reproduction performances of local Algerian does raised in rational conditions". 7 World Rabbit Congress, Spain World Rabbit Sci. 8, supp.1, V. B (2000a) 43-49.
4. Berchiche, M., et Kadi, S.A., "The Kabyle rabbits. Algeria".Rabbit Genetic Resources in Mediterranean countries.Options Méditerranéennes, serie B : Etudes et Recherches, V.38, (2002), 11-20.
5. Belhadi, S., "Characterisation of local rabbit performances in Algeria: Environmental variation of litter size and weights". Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla (Mexico) WRSA ed. (Septembre 2004), 218-223.
6. Zerrouki, N., Bolet, G., Berchiche, M., et Lebas, F., "Evaluation of breeding performance of a local Algerian rabbit population raised in the Tizi-Ouzou area (Kabylia)".World Rabbit Sci. V. 13, n°1, (2005a), 29 – 37.
7. Zerrouki, N., Kadi, S.A., Berchiche, M., et Bolet, G., "Evaluation de la productivité des lapines d'une population locale algérienne, en station expérimentale et dans des élevages". 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris (Novembre 2005b), 11-14.
8. Zerrouki N., Kadi S.A., Lebas F., et Bolet G., " Characterization of a Kabylia population of rabbits in Algeria: Birth to winning, Growth performance"; World Rabbit Science. V.15 (2007), 111-114.
9. Chibah K., "Alimentation des lapines de l'élevage rationnel en Algérie: effet sur la productionlaitière, la croissance des lapereaux et autres paramètres de reproduction". Mémoire de Magister, Option: Alimentation animale et produits Animaux, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (2009), 72p
10. Moulla F., "Evaluations des performances zootechniques de l'élevage cunicole de la ferme expérimentale de l'institut technique des élevages (Baba ali)". Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques,Option:Sciences Animales (INSA) (2006),66p.
11. Nezzar N., "Caractéristiques morphologiques du lapin local". Thèse de Magister Université El Hadj-Lakhdar , Batna (Algérie).(2007), 95p.
12. Remas K. "Caractéristiques zootechniques et hormones sexuelles chez les populations locales du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus*". Thèse de Magister Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (Algérie), (2001), 89p

13. Othmani-Mecif K., et Benazzoug Y., "Caractérisation de certains paramètres biochimiques plasmatiques histologiques (tractus génital femelle) chez la population locale de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) non gestante et au cours de la gestation" Science et technologie C- n°23, (2005), 91-96.
14. Moumen S., "Effet du rythme de reproduction sur les performances zootechniques et les paramètres sanguins de la lapine de population locale (*Oryctolagus cuniculus*)". Mémoire de Magistère en Sciences Veterinaires. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (El-Harrach-Alger), (2006), 121p.
15. Belabbas R., "Etude des principales composantes biologiques de la prolificité et des facteurs de variation du poids foetal chez la lapine de population locale (*Oryctolagus cuniculus*)". Mémoire de Magistère en Sciences Vétérinaires. (El Harrach-Alger), (2009), 93p.
16. Lebas F., "Granulométrie des aliments composés et fonctionnement digestif du lapin" I.N.R.A. Prod. Anim, V.13, (2000), 109-116.
17. Fortun-Lamothe L., et Bolet G., "Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine". INRA Production Animale. V. 8, n°1, (1995), 49-56.
18. Lebas F., "Physiologie de la reproduction chez la lapine". Journée AERA-ASFC « la reproduction chez le lapin » (Janvier 1994), 2-11.
19. Theau-Clément, M., "Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes d'induction de l'oestrus". INRA Prod. Anim., V.21 n° 3, (2008), 221-230
20. Theau-Clément, M., et Poujardieu, B., "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. La Rochelle, France, V.1, (Décembre 1994), 187-194.
21. Heape, W., "Ovulation and degeneration of the ova in the rabbit". Proc. Royal Society Lond Biol. Sci. V.76, (1905), 260-268
22. Walton, A., et Hammond, J., "Observations on ovulation in the rabbit". Br. J. exp. Biol. V.6, (1928), 190-204.
23. Staples R.E., "Behavioural induction of ovulation in the oestrous rabbit". J. Reprod. Fertili. V.13, (1967), 429-435.
24. Bjersing, L, et Cajander, S., "Ovulation and the mechanism of follicle rupture. I. Light microscopic changes in rabbit ovarian follicles prior to induced ovulation". Cell. Tissue. Res. V. 149, (1974a), 287-300.
25. Cherney, D.D., Liberato, J.A., Didio, M.D., et Pietro Motta M.D., "The development of rabbit ovarian follicles following copulation". Fertility and sterility. V. 26, n° 3, (1975), 257-270.
26. Cajander S., "Structural altérations of rabbit ovarian follicles after mating with reference to ovarian surface epithelium". Cell. Tiss. Res. V.173. (1976), 437-449.

27. Hulot F., et Mariana J.C., "HCG-induced ovulation in two rabbit breeds : effects of dose season and sexual behaviour ". I Livest. Prod. Sci., V. 20, (1988), 257-267.
28. Gacem M., et Lebas F., "Rabbit husbandry in Algeria. Technical structure and evaluation of performances". In 7th World Rabbit Congress, Valencia, World Rabbit Sci., V. 8, (juillet 2000), 75-80.
29. Berchiche M., Kadi S.A., et Lounaouci G. "Elevage rationnel du lapin de population locale : Alimentation, croissance, et rendement à l'abattage". 3^{èmes} journées de Recherche sur les productions animales : « Conduite et performance de l'élevage » Tizi –Ouzou. (Novembre 2000), 293-298
30. Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., et Bolet G., "Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie"..13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France, (Novembre 2009).
31. Saidj, D., "Performances de reproduction et paramètres génétiques d'une lignée maternelle d'une population de lapin local sélectionnée en G0". Mémoire de Magister en médecine vétérinaire, Option : Zootechnie, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. (2006), 106p.
32. Chaou, T., "Etude des paramètres zootechniques et génétiques d'une lignée paternelle sélectionnée mise en place en G0 et sa descendance, du lapin local «*Oryctolagus Cuniculus* »". Mémoire de Magistère, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, (2006), 102p.
33. Zerrouki, N., Bolet, G., Berchiche, M., et Lebas, F., "Breeding performance of local kabylien rabbits does in Algeria". 8th World Rabbit Congress, (2004), 371-377.
34. Berchiche, M. "Système de production de viande de lapin au Maghreb. Presented in the Advanced Course on "Systèmes de Production de Viande de Lapin", CIHEAM, Zaragoza (Spain), (September 1992),
35. Berchiche, M., Lebas, F. et Lakabi, D. " Utilization of home made diets. Effects on growth performances and slaughter yield of Algerian local rabbits". In: 6th World Rabbit Congress, Toulouse (France), V. 3, (July 1996), 309-313.
36. Djellal F., Mouhous A., et Kadi S.A., " Performances de l'élevage fermier du lapin dans la région de Tizi-Ouzou, Algérie". Livestock Research for Rural Development, V. 18 n°7, (2006).
37. Lebas F., "La biologie du lapin". (2002) Site web: <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm>
38. Boucher, S., et Nouaille, L., " Maladies des lapins". Editions France Agricole, 2e édition, (2002), 271pp.
39. Chantry – Darmon, C., "Construction d'une carte intégrée génétique et cytogénétique chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) : application à la primo localisation du caractère rex". Thèse de Docteur en Sciences de l'université de Versailles-Saint-Quentin. (2005), 219pp.
40. De Rochambeau, H., "Objectifs et méthodes de gestion génétique des populations cunicoles et d'effectif limité". Options méditerranéennes -Séries séminaires. V.8, (1990) ,19-27.

41. Ait Tahar, H., et Fettal, M., "Témoignage sur la production et l'élevage du lapin en Algérie". 2^{ème} conférence sur la production et la génétique du lapin dans la région méditerranéenne, Zagazig, (Egypte) (septembre 1990).
42. Daoudi, O., Ainbaziz, H., Benmouma, N., et Achouri, S., "Etude des normes alimentaires du lapin de population locale algérien élevé en milieu contrôlé: effet de la concentration énergétique et proteique des régimes". 10^{èmes} journées de la Recherche Cunicole. Paris, ITAVI (novembre 2003), 21-24.
43. Gacem, M., et Bolet, G., "Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche améliorée pour développer la production cunicole en Algérie". 11^{èmes} J. Rech. Cunicole, Paris, ITAVI. (novembre 2005), 15-18.
44. Moumen, S., Ain Baziz, H., et Temim, S., "Effet du rythme de reproduction sur les performances zootechniques des lapines de population locale Algérienne (*Oryctolagus cuniculus*)". Livestock Research for Rural Development. V.21, n°8, 2009.
45. Lounaouci, G., "Alimentation du lapin de chair dans les conditions de production algérienne" Mémoire de Magistère en sciences agronomiques. PA Université de Blida. (2001), 129p.
46. Djago, Y. et Kpodekon, M., " Le guide pratique de l'éleveur de lapins en Afrique de l'Ouest.-Cotonou", Bénin. (2000), 126pp.
47. Lebas, F., Marionnet, F., et Henaff, R., "La production de lapin" (3^{ème} édition), Association Française de Cuniculture, Paris, France. (1991), 206 p.
48. Ayyat, M.S., Habeeb, A.A., et Bassuny, S.M., "Effects of water salinity on growth performance, carcass traits and some physiological aspects of growing rabbits in summer season". Egyptian journal of Rabbit Science. V.1, (1991), 21-34.
49. Lebas, F., " Besoins nutritionnels des lapins : Revue bibliographique et perspectives". Cuni-Science, V. 5, (1989), 1-28
50. Lebas, F., Coudert, P., De Rochambeau, H., et Thebault, R.G., "Le lapin: Elevage et pathologie". Rome: F.A.O. (1996), 227p.
51. Henaff, R., et Jouve, D., " Mémento de l'éleveur de lapins". 7e Ed. Paris : AFC, ITAVI. (1988), 448p.
52. Xiccato, G., "Nutrition of lactating does". Proc. VIth World Rabb Congress, Toulouse, V.1, (1996), 29-47.
53. Maertens, L., "Rabbit nutrition and feeding : A review of some recent developments " J.Appl. Rabbit. Res.V.15, (1992), 889-913
54. Fortun-Lamothe, L., "Effets de la lactation, du bilan énergétique et du rythme de reproduction sur les performances de reproduction chez la lapine primipare". 7^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. Fr., Lyon, (mai 1998), 257-261.

55. Debray, L., " Nutrition du lapereau en période de sevrage: interaction avec les besoins nutritionnels de la femelle". Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. (2002), 125p.
56. Gidenne, T., "Besoins en fibres et sécurité digestive du lapin en croissance". Cuniculture.V. 157, (2001), 7-10.
57. Rossilet, A., "Cuniculture: Conseils pratiques pour mieux maîtriser la conduite du troupeau en maternité". Globaldit-Afrique Agriculture, V.327, (2004), 38- 47.
58. Fielding, D., "Le lapin" « Le technicien et l'agriculture tropicale »-Paris : Edition Maisonneuve et Larose ; A.C.C.T, C.T.A. (1993), 144p.
59. Blum, J.C., "L'alimentation des animaux monogastriques porc, lapin volailles".Paris : I.N.R.A. (1984), 301p.
60. Blum, J.C., "L'alimentation des animaux monogastriques porc, lapin volailles".Paris : 2^{ème} Ed. Revue et corrigée.- Paris : I.N.R.A. (1989), 282p.
61. Eberhart, S., (1980. "The influence of environmental temperatures on meat rabbits of different breeds".In : Proceedings of the IInd World Rabbit Congress, Barcelona. V. 1, (April 1980), 399-409.
62. Surdeau, P., Matheron, G., et Perrier, G., "Étude comparée de deux rythmes de reproduction chez le lapin de chair". Proceedings of the 2nd Congress of the World Rabbit Science Association. Barcelona. Spain.V. 1, (1980), 313-321.
63. Blocher, F., et Franchet, A., "Fertilité, prolificité et productivité au sevrage en insémination artificielle et en saillie naturelle; influence en l'intervalle mise bas-saillie sur le taux de fertilité". 5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. Paris, V.I, (1990), communication n°2
64. Bolet, G., Garcia-Ximenez, F., et Vicente, J.S., " Criteria and methodology used to characterize reproductive abilities of pure- and crossbred rabbits in comparative studies". CIHEAM - Options Méditerranéennes - Série Séminaires. V.17, (1992), 95-104
65. Boussit, D., "Reproduction et insémination artificielle en cuniculture". Association Française de Cuniculture, Lempdes. (1989), 234 p.
66. Chmitelin, F., Rouillere, R., et Bureau, J., " Performances de reproduction des femelles en insémination artificielle en post partum". 5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris, France. (Décembre 1990), Communication n° 4
67. Quinton, H., et Egron, L., " Maîtrise de la reproduction chez la lapine", Le Point Vétérinaire, V. 218, (2001), 28-33.
68. Kennou, S., et Lebas, F., " Résultats de reproduction des lapines locales tunisiennes élevées en colonie au sol". CIHEAM, Options Méditerranéennes - Série Séminaires. V.8 (1990), 93-96.
69. Maertens, L., et Okerman, F., "Le rythme de reproduction intensif en cuniculture". Cuniculture. V. 82, (1988), 171-177.

70. Kennou, S., et Bettaib, S., "Etude de la prolificité et de ses composantes des lapines locales tunisiennes". Options Méditerranéennes. Série Séminaires. V.8, (1990), 97-101.
71. Armero, E., Baselga, M., et Cifre J., " Selecting litter size in rabbits. Analysis of different strategies". World Rabbit Sci.V. 3, (1995), 179-186.
72. Roustan, A., "L'amélioration génétique en France : le contexte et les acteurs, le lapin". INRA, Hors série «Éléments de génétique quantitative et application aux populations» .Prod.Anim, (1992), 45-47.
73. Sid, S., " Etude des paramètres génétiques et zootechniques sur les critères de reproduction chez le lapin local (*Oryctolagus cuniculus*) ", Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie, Blida, (2005), 80p.
74. Moulla, F., et Yakhlef, H., "Evaluation des performances de reproduction d'une population locale de lapins en Algérie". 12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France, (novembre 2007), 45-48.
75. Elamin, F.M., "Rabbit husbandry in the Sudan". Rabbit husbandry. Morogoro, Tanzania Provisional report, n°4, (December 1978), 29-42.
76. Bolet, G., Brun, J.M., Lechevestrier, S., Lopez, M., et Boucher, S., "Evaluation des performances de reproduction de 8 races de lapins dans 3 élevages expérimentaux". 9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, ParisFrance, (Novembre 2001), 213-216.
77. Hulot, F., et Matheron, G., " Effet du génotype, de l'âge et de la saison sur les composantes de la reproduction chez la lapine" Ann. Génét. Sél. Anim. V.13, (1981), 131-150.
78. Lakabi, D., "Caracteristiques de l'élevage fermier du lapin: Etude de l'alimentation". Mémoire de Magistère en sciences agronomiques.PA, Université de Blida. (1999), 106p.
79. Berchiche, M., et Zerrouki, N., "Reproduction de femelles de population locale : Essai d'évaluation de quelques paramètres en élevage rationnel". 3^{ème} Journée de Recherche sur les productions animales « conduite et performances d'élevage» Université Tizi Ouzou, Département des sciences agronomiques. (Novembre 2000), 293-298.
80. Bouzekraoui, A., "The Tadla Rabbits (Morocco)". In: Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes : Série B; V. 38, (2002), 165-174.
81. Barkok, A., et Jaouzi, T., "Zemmouri rabbits (Morocco) ". Rabbit genetic resources in Mediterranean Countries.Options Méditerranéennes : Série B. V.38, (2002), 175-185.
82. Khalil, M.H., "The baladi rabbits(Egypt)". In : rabbit genetic resources in Mediterranean countries Options Méditerranéennes.Série B, CIHEAM, Zaragoza, V. 38, (2002a), 37-50.
83. Khalil, M.H., "The Giza White rabbits (Egypt)". In: rabbit genetic resources in Mediterranean countries Options Méditerranéennes.Série B, CIHEAM, Zaragoza, V.38, (2002b), 23-36.
84. Affi, E.A., "The Gabali rabbits (Egypt)". In: rabbit genetic resources in Mediterranean countries Options Méditerranéennes.Série B, CIHEAM, Zaragoza, V. 38, (2002), 55-64.

85. Bolet, G., "Fauve de Bourgogne (France)". In: rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, V.38, (2002a), 85-92.
86. López, M., et Sierra, I., "The Gigante de Espana breed (Spain) ". In : rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes. Série B, CIHEAM, Zaragoza V. 38, (2002), 209-220.
87. Lazzaroni, C., "The Carmagnola Grey rabbit (Italy) ". In : rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes. Série B, CIHEAM, Zaragoza V. 38, (2002), 141-150.
88. Bolet, G., "Strain INRA 2066(France) ".In: Rabbit genetic resources in Mediterranean countries.Options Méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, V. 38, (2002b), 109-116.
89. Verdelhan, S., Bourdillon, A., David, J.J., Hurtaud, J., Lédan, L., Renouf, B., Roulleau, X., et Salaun J.M., "Comparaison de deux programmes alimentaires pour la préparation des futures reproductrices". 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris, (Novembre 2005), 119-122.
90. Bolet, G., "Argente de Champagne(France) ". In: Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, V. 38, (2002c), 93-100.
91. Bolet, G., "Flemish Giant (France) ". In: Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, V.38, (2002d), 101-107.
92. Ben Hamouda, M., et Kennou, S., "Croisement de lapins locaux avec la souche Hyla : résultats des performances de reproduction et de croissance en première génération". Options Méditerranéennes. Série séminaires, V.8, (1990), 103-108.
93. Poujardieu, B., et Vrillon, J.L., "Variation de la productivité numérique au sevrage et de ses composantes entre génotypes de lapines croisées et de race pure". Journ. Recher. Avic. et Cunic., ITAVI. (décembre 1973), 89-93.
94. Lebas F., Coudert P., Rouvier R., et De Rochambeau H., "Le lapin : élevage et pathologie". Collection FAO production et santé animale. FAO ed. Rome, (1984). 298p.
95. Lebas, F., "Productivité et rentabilité des élevages cunicoles professionnels en 2003". Cuniculture Magazine, V. 32, (2005), 14 -17.
96. Berchiche, M., et Lebas, F., "Rabbit rearing in Algeria: family farms in Tizi-Ouzou area". Cahiers Options Méditerranéennes. Rabbit Production in Hot Climates. V.8, (1994), 409-413.
97. Colin, M., " La cuniculture nord américaine : II – le mexique". World Rabbit Sci. V. 2, n°(1),(1994), 7-14.
98. Kpodekon, M., Djago, Y., Farougou, S., Couder, T. P., et Lebas, F., "Results of the technical management of four rabbit farms in Benin". Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla.Mexico.(September 2004), 1134-1140.
99. Rashwan, A.A., et Marai, I.F.M., "Mortality in young rabbits: a review". World Rabbit Sci., V. 8, (2000), 111-124.

100. Bolet, G., et Brun, J.M., Lechevestrier, S., Lopez, M., et Boucher, S., "Evaluation of the reproductive performance of eight rabbits bred on experimental farms", *Anim.Res.V.53*, (2004), 59-65.
101. Gómez, E.A., Rafel, O., et Ramon, J., "The Caldes Strain (Spain)". In: *Rabbit Genetic Resources in Mediterranean countries. Options méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, V.38*, (2002 a), 193-198.
102. Gómez, E.A., Rafel, O., et Ramon, J., "The Prat Strain (Spain)". In: *Rabbit Genetic Resources in Mediterranean countries. Options méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, Spain, V. 38*, (2002b), 199-208.
103. Baselga, M., "Line A (Spain)". In: *Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options méditerranéennes, série B, CIHEAM, Zaragoza, Spain. V. 38*, (2002a), 221-230
104. Baselga, M., "Line V (Spain)". In: *Rabbit genetic resources in Mediterranean countries Options méditerranéennes, série B CIHEAM, Zaragoza. V. 38*, (2002b), 231-241.
105. Monniaux, D., Caraty, A., Clément, F., Dalbiès-Tran, R., Dupont, J., Fabre, S., Gérard, N., Mermillod, P., Monget, P., et Uzbekova, S., "Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères". *INRA. Prod. Anim. V.22, n°2*, (2009), 59-76.
106. Driancourt, M.A., Gougeon, A. et Royere, D., "La fonction ovarienne". Dans : *la reproduction chez les mammifères et l'homme*. Thibault C., Levasseur MC. Eds Ellipses INRA, (1991), 273-298.
107. Peters, H., "Folliculogenesis in Mammals", In: RE, J. (Ed.), *The Vertebrate ovary. Comparative biology and evolution*, Plenum Press, New York, (1978), 121-144.
108. Hildebrandt, T.B., Hermes, R., Jewgenow, K., et Goritz, F., "Ultrasonography as an important tool for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species". *Theriogenology. V. 53*, (2000), 73-84.
109. McCorkell, R., Woodbury, M., et Adams, G.P., "Ovarian follicular and luteal dynamics in wapiti during the estrous cycle". *Theriogenology. V, 65*, (2006), 540-556
110. Bronneberg, R.G., Taverne, M.A., Dieleman, S.J., Decuypere, E., Bruggeman, V., Vernooij, et J.C., Stegeman, J.A., "The relation between ultrasonographic observations in the oviduct and plasma progesterone, luteinizing hormone and estradiol during the egg laying cycle in ostriches". *Domest Anim Endocrinol. V. 32*, (2007), 15-28.
111. Adams, G.P., Griffin, P.G., et Ginther, O.J., "In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas". *Biol. Reprod. V.41*, (1989), 551-558.
112. Adams, G.P., "La theriogenologie chez les lamas et les alpagas". *La medecine vétérinaire des grands animaux Rondes cliniques, western college of veterinary medecine, V.7, n°10*, (2007).
113. Marongiu, M.L., et Gulinati, A., "Ultrasound evaluation of ovarian follicular dynamics during early pseudopregnancy as a tool to inquire into the high progesterone (P+) syndrome of rabbit does", *9th World Rabbit Congress, Verona (Italie)*, (2008), 393-397.

114. Mauléon P., "Oogenesis and folliculogenesis". In: *Reprod. Domest. Anim.*, Cole H.H., Cupps P.T., (Ed), Academic Press, New York, (1969), 187-215
115. Monniaux, D., Huet, C., Besnard, N., Clement, F., Bosc, M., Pisselet, C., Monget, P., et Mariana, J.C., "Follicular growth and ovarian dynamics in mammals". *J. Reprod. Fertili. Supplement*, V. 51, (1997), 3-23
116. Chretien, F.C., "Etude de l'origine de la migration et de la multiplication of the germ cells of the rabbit embryo". *J Embryol.Exp. Morphol.* V. 16, (1966), 591-607.
117. Teplitz, R., et Ohno, S., "Postnatal induction of oogenesis in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)". *Exp Cell Res.*V. 31, (1963), 183-189.
118. Peters, H., Levy, E., et Crone, M., "Oogenesis in Rabbits". *J. Exp. Zool.* V.158, (1965), 169-179.
119. Monniaux, D., et Monget, P., "Gonadotropines et régulations paracrines ovariennes. Intégration des mécanismes de régulation d'un processus physiologique complexe, la folliculogénèse ovarienne". In *Les gonadotropines*. Y.Combarrous et P.Volland-Nail Eds. INRA, Paris. (1997), 267-284
120. Franchi, L.L., Mandl, A.M. et Zuckerman, S., "The development of the ovary and the process of oogenesis". In: *The Ovary*, Ed. S. Zuckerman. Academic Press, New York Vol. 1, (1962), 1-88.
121. Tsafiriri, A., et Dekel, N., "Molecular mechanisms in ovulation. In: *Molecular Biology of Female Reproductive System*". J.K. Findlay, editor. Academic Press, San Diego, CA. (1994), 207- 258.
122. Byskov, A.G., "The role of the rete ovarii in meiosis and follicle formation in the cat, mink and ferret". *J. Reprod. Fertili.*, V.45, (1975), 201-209.
123. Kennelly, J.J., Foote, R.H., et Jones, R.C., "Duration of premeiotic deoxyribonucleic acid synthesis and the stages of prophase I in rabbit oocytes". *J. Cell. Biol.* V. 47, (1970), 577-584
124. Hutt, K.J., McLaughlin, E.A. et Holland, M.K., "Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. " *Cell. Tissue. Research.* V.326, (2006), 809–822.
125. Gondos, B., "The ultrastructure of granulosa cells in the newborn rabbit ovary". *Anat. Rec.* V.165, (1969), 67-78.
126. Gondos, B., "Granulosa cell-germ cell relationship in the developing rabbit ovary. " *J. Embryo, exp. Morph.* V. 23, n° 2, (1970), 419-426.
127. Foote, R.H., et Carney, E.W., "The rabbit as a model for reproductive and developmental toxicity studies". *Reproductive Toxicology.* V.14, (2000), 477-493.
128. Mariana, J.C., et Solari, A., "Proliferation of follicular cells and the effect of FSH on the onset of follicular growth in the ovary of 30-day old rabbits studied by continuous labelling with 3H-thymidine". *Reprod. Nutr. Dev.* V. 33, (1993), 63-67.;

129. Hulot, F., Mariana, J.C., et Lebas, F., "L'établissement de la puberté chez la lapine (folliculogénèse et ovulation). Effet du rationnement alimentaire". *Reprod. Nutr. Dev.* V. 22, (1982), 439-453.
130. Hafez, E.S.E., "Reproduction in Farm Animals". 5th Ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger. (1987), 160p.
131. Guraya, S.S., "Recent advances in the cellular and molecular biology of ovarian follicles". In : Human fertility, Health and Food : Impact of molecular biology and Biotechnology. D. Pruett (ed.), (1984).
132. Thibault, C., Szöllösi, D., et Gérard, M., " Mammalian oocyte maturation". *Reprod. Nutr. Dévelop.* V.27, (1987), 865-896.
133. Feuerstein, P., Cadoret, V., Dalbies-Tran, R., Guerif, F., et Royere, D., "Oocyte-cumulus dialog". *Gynecol. Obstet. Fertil.* V. 34, (2006), 793–800
134. Homa , S.T., et Brown, C.A., " Changes in linoleic acid during follicular development and inhibition of spontaneous breakdown of germinal vesicles in cumulus-free bovine oocytes" *Journal of Reproduction and Fertility.* V. 94, (1992). 153–160.
135. Pincus, G., et Enzmann, E., " The comparative behavior of mammalian eggs in vitro and *in vivo*". *J. Exp. Med.* V. 62, (1935), 665-675.
136. Eppig, J.J., "FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte-cumulus cell complexes from mouse preovulatory follicles". *Nature.* V. 281, (1979), 483-484.
137. Heller, D.T., Cahill, D.M., et Schultz, R.M., "Biochemical studies of mammalian oogenesis: metabolic cooperativity between granulosa cells and growing mouse oocytes" *Developmental Biology.* V. 84, (1981), 455–464.
138. Brower, P.T., et Schultz, R.M., "Intercellular communication between granulosa cells and mouse oocytes: existence and possible nutritional role during oocyte growth". *Devl .biol.* V. 90, (1989), 144-153.
139. Dekel, N., "Regulation of oocyte maturation. The role of cAMP" *Annals New York Academy of Sciences.* V. 541, (1988), 211–216.
140. Eppig, J.J., et Downs, S.M., " Chemical signals that regulate mammalian oocyte maturation" *Biol. Reprod.* V. 31, (1984), 244-250.
141. Jonassen, J.A., Bose, K., et Richards, J.S., " Enhancement and desensitization of hormone - responsive adenylate cyclase in granulosa cells of preantral and antral follicles: effects of estradio1 and follicle- stimulating hormone". *Endocrinol.* V.111, (1982), 74-79
142. Bilodeau, S., Fortier, M.A., et Sirard, M.A., " Effect of adenylate cyclase stimulation on meiotic resumption and cyclic AMP content of zona-free and cumulus-enclosed bovine oocytes *in vitro*". *J. Reprod. Fertil.* V. 97, (1993), 5-11.
143. Carroll, J., Winingham, D.G., et Wood, M.J., "Effect of dibutyryl cyclic adenosine monophosphate on granulosa ce11 proliferaton, oocyte growth and meiotic maturation in

- isolated mouse primary ovarian follicles cultured in collagen gels". J. Reprod. Fertil. V. 92, (1991), 197-207.
144. Cho, W.K., Stem, S., et Biggers, J., "Inhibitory effect of dibutyryl cAMP on mouse oocyte maturation *in vitro*". J. Exp. Zool. V. 187, (1974), 383-386.
 145. Downs, S.M., "Factors affecting the resumption of meiotic maturation in mammalian oocytes". Theriogenol. V. 39 (1993), 65-69.
 146. Risek, B., Guthrie, S., Kumar, N. et Gilula, N.B., "Modulation of gap junction transcript and protein expression during pregnancy in the rat". Cell. Biol., V.110, (1990), 269-282.
 147. Granot I., et Dekel N., "Cell to cell communication in the ovarian follicle development and hormonal regulation of the expression of connexine 43". Human reproduction, V.13, suppl. 4 101-113.
 148. Thibault, C., et Levasseur, M.C., "La reproduction chez les mammifères et l'homme. Chap. Métabolisme et reproduction". INRA Editions, Paris, (2001), 749-776.
 149. Szollosi, D., Desmedt, V., Crozet, N., et Brender, C., "*In vitro* maturation of sheep ovarian oocytes". Reprod. Nutr. Develop. V.28, (1988), 1047-1080.
 150. Eppig, J.J., "Further reflections on culture systems for the growth of oocytes *in vitro*". Hum Reprod. V.9, (1994), 974-976.
 151. Baker, T.G., "Oogenesis and ovulation". In: "Austin CR, Short RV, editors. Reproduction in mammals", Book 1: Germ cells and fertilization. 2nd ed. Cambridge University Press, (1982), 17-45.
 152. Rao, M. G, Midgley, A. R. Jr. et Richards, J. S., "Hormonal regulation of ovarian cellular proliferation". Cell, V. 14, (1978), 71-78.
 153. Kranzfelder, D., Korr, H., Mestwerdt, W., et Maurer-Schultze, B., "Follicle growth in the ovary of the rabbit after ovulation-inducing application of human chorionic gonadotropin". Cell.Tissue. Res. V. 238, (1984), 611-620.
 154. McGee, E.A., et Hsueh, A.J., " Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles". Endocrine Reviews. V. 21, (2000), 200-214.
 155. Salvetti, P., " Production des embryons et cryoconservation des ovocytes chez la lapine : Application à la gestion des ressources génétiques". These de l'universite de lyon diplome de doctorat ; Université de Lyon, Unité Cryobiologie ENVL/ISARA-Lyon, « Cryoconservation des ressources génétiques par la voie femelle »Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon / 1, Avenue Bourgelat / 69280 Marcy L'Etoile.(2008), 179p.
 156. Dierich, A., Sairam, M.R., Monaco, L., Fimia, G.M., Gansmuller, A., LeMeur, M., et Sassone-Corsi, P., " Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling *in vivo*: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance". Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. V. 95, (1998), 13612-13617.

157. Fortune, J.E., "The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles". *Animal Reproduction Science*. V.78, (2003), 135–163.
158. Findlay, J.K., Drummond, A.E., Dyson, M.L., Baillie, A.J., Robertson, D.M., et Ethier, J.F., "Recruitment and development of the follicle: role of the transforming growth factor- β superfamily" *Mol. Cell .Endocrinol*. V. 191, (2002), 35-43.
159. Juengel, J.L., et McNatty, K.P., "The role of proteins of the transforming growth factor-beta superfamily in the intraovarian regulation of follicular development". *Hum. Reprod. Update*, V.11, (2005), 143-160.
160. Visser, J.A., et Themmen, A.P., "Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis". *Molecular and Cellular Endocrinology*. V. 234, (2005), 81–86.
161. Soyal, S.M., Amleh, A., et Dean, J., "FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation". *Development*. V.127, (2000), 4645–4654.
162. Zheng, P., et Dean, J., "Oocyte-specific genes affect folliculogenesis, fertilization, and early development". *Seminars in Reproductive Medicine*. V. 25, (2007), 243-251.
163. McNatty K.P., Moore L.G., Hudson N.L., Quirke L.D., Lawrence S.B., Reader K., Hanrahan J.P., Smith P., Groome N.P., Laitinen M, Ritvos O., et Juengel J.L., "The oocyte and its role in regulating ovulation rate: a new paradigm in reproductive biology". *Reproduction* V. 128, (2004), 379-86.
164. Eppig, J.J., Pendola, F.L., Wigglesworth, K., et Pendola J.K., " Mouse oocytes regulate metabolic cooperativity between granulosa cells and oocytes: amino acid transport". *Biol. Reprod*. V. 73, (2005), 351-357.
165. Carabatsos, M., Sellitto, C., Goodenough, D., et Albertini, D., "Oocyte– granulosa cell heterologous gap junctions are required for the coordination of nuclear and cytoplasmic meiotic competence". *Dev. Biol*. V. 226, (2000), 167–179.
166. Skinner, M.K., "Regulation of primordial follicle assembly and development". *Hum. Reprod. Update*, V. 11, (2005), 461-471.
167. Mermillod, P., Oussaid, B., et Cognie, Y., "Aspects of follicular and oocyte maturation that affect the developmental potential of embryos". *J. Reprod. Fertil. Suppl*. V. 54, (1999), 449-460.
168. Eppig, J. J., Wigglesworth, K., Varnum, D. S. and Nadeau, J. H. "Genetic regulation of traits essential for spontaneous ovarianteratocarcinogenesis in strain LT/Sv mice: aberrant meiotic cell cycle, oocyte activation, and parthenogenetic development". *Cancer Res*.V. 56, (1996) ,5047-5054.
169. Mermillod, P., et Marchal, R., "Mammalian oocyte maturation". *Med. Sci. (Paris)*, V.15, (1999), 148- 156.
170. Mermillod, P., Dalbiès-Tran, R., Uzbekova, S., Thélie, A., Traverso, J.M., Perreau, C., Papillier, P., et Monget, P., "Factors affecting oocyte quality: who is driving the follicle". *Reprod. Domest. Anim.*, V.43, Suppl 2, (2008), 393-400
171. Gougeon, A., "Regulation of ovarian follicular development in primates : facts and hypotheses". *Endocr. Rev*.V.17, (1996), 121-155.

172. Blanc, M.R., et Hulot, F., "Sécrétion des hormones gonadotropes au cours de la puberté chez des lapines de race californienne et néo-zélandaise", 3^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris, communication n°12, (1982), 18p
173. Lahlou-Kassi, A., Schams, D., et Glatzel, P., "Plasma gonadotrophin concentrations during the oestrous cycle and after ovariectomy in two breeds of sheep with low and high fecundity". *J. Reprod. Fertil.* V. 70, (1984), 165-73.
174. Pedersen, T., "Follicle kinetics in the ovary of the cyclic mouse". *Acta Endocrinologica.* V. 64, (1970), 304-323.
175. Mariana, J.C., Hulot, F., et Poujardieu, B., "Paramètres de la croissance du follicule ovarien chez la lapine adulte de 20 semaines dans deux souches". *Arch. Biol. (Bruxelles).* V. 100, (1989), 65-82.
176. Mariana, J.C., Hulot, F., et Poujardieu, B., "Croissance comparée des follicules ovariens dans deux souches de lapin", 4^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris (France), Communication n°20, (1986), 12p
177. Pedersen, T., "Follicle growth in the mouse ovary". In *Oogénésis*, Eds J. D. Biggers et A.W. Schuetz. University Park Press, Baltimore. (1972), 361-376.
178. Mariana, J.C., et De Pol, J., "Analyse morphométrique de la population des follicules primordiaux de l'ovaire de lapine à 30 jours". *Arch. Biol.* V.97, (1986), 139-156
179. Hunter, M. G., "Oocyte maturation and ovum quality in pigs". *Rev Reprod.* V. 5, (2000), 122-30.
180. Fortune, J. E., "Ovarian follicular growth and development in mammals". *Biol.Reprod.* V. 50, (1994), 225-232.
181. Chiquoine, A.D., "The development of the zona pellucida of the mammalian ovum". *Am J Anat.* V.106, (1960), 149-169.
182. Bleil, J.D., et Wassarman, P.M., "Structure and function of the zona pellucida: identification and characterization of the proteins of the mouse oocyte's zona pellucida". *Dev Biol.* V.76, (1980), 185-202.
183. Yanagimachi, R., "Mammalian fertilization". In : *The physiology of reproduction* (eds. E. Knobil and J. Neil, New York: Raven, Press, (1994), 189-317
184. Driancourt, M.A., Gougeon, A., Monniaux, D., Royere, D., et Thibault, C., "Folliculogénèse et ovulation". In: *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Thibault C., Levasseur, M.C., (Eds), Ellipses, Paris, France, (2001), 316-347.
185. Bristol-Gould, et S., Woddruff, T.K., "Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*)". *Theriogenology.* V. 66, (2006), 5-13.
186. Bonnes, G., Desclaude, J., Drogoul, C., Gadoud, R., Jussiau, R., Le Loc'h, A., Montmeas, L., et Robin, G., "Reproduction des animaux d'élevage". 2^{ème} édition, Dijon, Educagri éditions. (2005), 407pp.

187. Kranzfelder, D., et Maurer- Schultze, B., "Development of the perifollicular capillary network. Autoradiographic and morphometric studies in the rabbit ovary" *European Journal of Obstetrics et Gynecology and Reproductive Biology*, V.30, (1989), 163-171.
188. Hill, M., et white, W., "The growth and regression of follicles in the oestrus rabbit". *J. Physiol.* V. 80, (1933). 174-178.
189. Smelser, G.K., Walton, A., et Whetham, E.O., "The effect of light on ovarian activity in the rabbit". *J.Exp. Biol.* V.11, (1934), 352-363.
190. Diaz, P., Rodriguez, J.M., Gosalvez, L.F., et Roman, M.R., "Cyclic ovarian activity in *post partum* rabbits". *J. Appl .Rabbit .Res.* V. 10, (1987), 122-125.
191. Osteen K.G., et Mills T.M., "Changes in the Size, Distribution and Steroid Content of Rabbit Ovarian Follicles During Early Pseudopregnancy". *Biol. Reprod.* V. 22, (1980), 1040-1046.
192. Rodriguez, J.M., Gosalvez, L.F., Diaz, P., et Ubilla, E., "Control de parto en conejas mediante prostaglandina PGF2alpha". 9th Sympos. Nacional de Cunicultura. Figueras, (1984), 53-65
193. Moret, B., "Comportement d'œstrus chez la lapine". *Cuniculture.* V.33, (1980) 159-161.
194. Stoufflet, I., et Caillol, M., "Relation between circulating sex steroid concentrations and sexual behaviour during pregnancy and post partum in the domestic rabbit". *J.Reprod.Fert.* V.82, (1988), 209-218.
195. Bolet, G., Esparbié, J., et Falières, J., "Relations entre le nombre de fœtus par corne utérine, la taille de portée à la naissance et la croissance pondérale des lapereaux". *Annales de Zootechnie.*V. 45, (1996), 185-200.
196. Malandain, E., Rault, D., Froment, E., Baudon, S., Begon, D., et Chastant-Maillard, S., "Croissance folliculaire et ovulation chez la chatte". *Bull. Acad. Vét. France*, V.159, (2006), 113-121.
197. McPhail, M. K., "Induction of ovulation in the unmated oestrous ferret". *J. Physiol., Lond.* V. 80, (1933), 78-81.
198. Flux, E.C., "Reproduction and body weights of the hare, *Lepus europaeus* Pallas, in New Zealand". *N.Z. Jl Sci.* V.10, (1967), 357-401.
199. Marie, M., et Anouassi, A., " Mating induced LH surge and ovulation in the female camel (*Camelus dromedarius*) ". *Biolo Reprod.* V.35, (1986), 792-798.
200. Fernandez Baca, S., Madden, D. H. L., et Novoa, C., "Effects of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpacas." *J. Reprod .Fertili.* V. 22, (1970). 261-267.
201. Hammond, J., et Marshall, F.H.A., "Reproduction in the rabbit" .In: Boyd, O. (Ed.), Edinburgh, (1925), 210 p.
202. Kermabon, A.Y., Belair, L., Theau-Clément, M., Salesse, R., et Djiane, J., "Effects of anoestrus and bromocryptine treatment on the expression of prolactin and LH receptors in the rabbit ovary during lactation". *J. Reprod. Fertil.* V. 102, (1994), 131-138.

203. Rebollar, P.G., Ubilla, E., Alvarino, J.M.R., Illera, J.C., et Silvan, G., "Effect of degree of sexual receptivity on *post-partum* plasma oestradiol and ovulatory response in rabbits". *Revista Espanola de Fisiologia*. V. 48, (1992), 13-18
204. Yaschine, T., Mena, F. et Beyer, C., " Gonadal hormones and mounting behavior in the female rabbit". *Am. J. Physiol.* V. 213, (1967), 867-872.
205. Lefevre, B., Caillol, M., "Relationship of oestrus behaviour with follicular growth and sex steroid concentration in the follicular fluid in the domestic rabbit". *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* V. 18 n°6, (1978), 143-144.
206. Mac Donald, P., Vidal, N., et Beyer, C., "Sexual behaviour in the ovariectomized rabbit after treatment with different amounts of gonadal hormones". *Horm Behav.* V.1, (1970), 161-172.
207. Elsaesser, F., "Effects of active immunization against oestradiol-17 β , testosterone or progesterone on receptivity in the female rabbit and evaluation of specificity ". *Reprod. Fert.* V.58, (1980), 213-218.
208. Nicosia, S.V., Evangelista, I., et Batta, S.K., "Rabbit ovarian follicles. I.Isolation technique and characterization at different stages of development". *Biol. Reprod.* V.13, (1975), 423-447.
209. Lebas, F., "Biologie du lapin. 4.4. Comportement alimentaire". (2002). Available from : <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm> (accès le 25/01/2010).
210. Vicente J.S. Lavara R., Lavara F., Marco-Jiménez F. et Viudes-de-Castro M.P. Rabbit reproductive performance after insemination with buserelin acetate extender. *Livestock Science* V.115, (2008), 153–157
211. Plá, M., Baselga, M., García, F., et Deltero, J., "Mating behaviour and induction of ovulation in meat rabbit". *Proc. 3rd World Rabbit Congress.* (1984), 437-445.
212. Theau-Clément, M., et Roustan, A., "A study on relationships between receptivity and lactation in the doe. and their influence on reproductive performances". In : *Proc. 5th World Rabbit Congress,* Corvallis, USA. V. A, (July 1992), 412- 421.
213. McNitt, J.I., et Moody, G.L.Jr., "The use of vulva color as a breeding tool in the rabbitry". *J.Appl.Rabb.Res.*, V.12, (1989), 33-35.
214. Gómez R. B., Becerril P. C. M., Torres H.G., Pro M.A., et Rodríguez De Lara R., "Relationship among feeding level, change of cage and fasting with vulva color and sexual receptivity in new zealand white and californian nulliparous does". *Proc. 8th World Rabbit Congress –Mexico,* (2004), 270-275.
215. Roca, T., Fanlo, R. et Alae, M., " Inseminacion artificial en cunicultura". II^{ème} symposium de Cunicultura. Teruel ESP., (1986), 23-42.
216. Theau-Clément, M., Bolet, G., Roustan, A., et Mercier, P., 1990. " Comparaison de différents modes d'induction de l'ovulation chez les lapines multipares en relation avec leur stade physiologique et la receptivité au moment de la mise à la reproduction" .5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. Paris (France), (décembre 1990), communication n° 7.

217. Delaveau, L., "Chez la lapine, difficultés d'obtenir des saillies fécondantes". *Cuniculture*. V. 5, (1978), 159- 160.
218. Theau-Clément, M., "Advances in biostimulation methods applied to rabbit reproduction", 7th World Rabbit Congress. Valencia (Espagne), (Juillet 2000), 61-79.
219. Theau-Clément, M., "Preparation of the rabbit doe to insemination: a review". *World Rabbit Science*. V. 15, (2007), 61-80.
220. Drion, P.V., Remy, B., Houtain, J.Y., Mc Namara, M., Baril, G., Heyman, Y., Cognie, Y., Theau-Clément, M., Leboeuf, B., Ectors, F., Segers, K., et Beckers J.F., "Utilisation répétée des gonadotropines exogènes dans le contrôle de la reproduction : justifications, relations structure-activité biologique, effets secondaires potentiels. Une synthèse". *Ann. Méd. Vét.*, V. 142, (1998), 373- 396.
221. Castellini, C., Canali, C., Boiti, C., et Battaglini, M., "Effetto del PMSG sulle prestazioni riproduttive di coniglie fecondate artificialmente". *Atti IX Congresso Nazionale ASPA, Rome, Italie*, (1991), 679-683.
222. Alabiso, M., Bonanno, A., Alicata, M.L., et Portalano, B., "Trattamento "differenziato" con PMSG su coniglie inseminate artificialmente". *Rivista di Coniglicoltura* V.31, (1994), 25-30.
223. Theau-Clément, M., et Lebas, F., "Effect of a systematic ECG treatment 48 h before artificial insemination on the productive performance of rabbit does". *World Rabbit Sci.* . V4, (1996), 47-56.
224. Maertens, L., "Effect of flushing, mother-litter separation and PMSG on the fertility of lactating does and the performance of their litter". *World Rabbit Sci*. V. 6, (1998), 185-190.
225. Bonanno, A., Budetta, G., Alabeo, M., et Alicata, M., "Effect of PMSG and GnRH treatment on the ovulatory efficiency of rabbits". *Acta Medical Veterinary*, V. 36, (1990), 441-451.
226. Maertens, L., Okerman, F., De Groote, G., et Moermans, R., "L'incidence de deux méthodes de traitement hormonal sur le comportement sexuel et la fertilité de jeunes lapines". *Revue Agric.*, V.36, n°1, (1983), 167-175.
227. Khalifa, R.M., Mady, M.E., et El-Alamy, M.A., "Effects of PMSG on sexual receptivity of low reproductive female rabbits". *J.Appl.Rabbit.Res.*, V.12, (1989), 239-240.
228. Manchisi, A., Gambacorta, M., Toteda, F., et Martemucci, G., "The effect of age and nutritional level on the ovulatory response of rabbits to GnRH, PMSG and PMSG+HCG". *Coniglicoltura*. V.25, n°2, (1988), 45-47.,
229. Bonanno, A., Alabiso, M., et Alicata, M.L., "Effetti del trattamento sincronizzante con PMSG su coniglie inseminate artificialmente". *Rivista di Coniglicoltura*. V.28, (1991), 29-32.
230. Bonanno, A., Alabiso, M., Alicata, M.L., Leto, G., et Todaro M., "Effetti del trattamento "differenziato" con PMSG sull'efficienza produttiva di coniglie sottoposte ad inseminazione artificiale". *Rivista di Coniglicoltura*, V.33, (1996), 41-45.

231. Theau-Clément, M., "Advances in the control of rabbit reproduction": the doe, 9th annual conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction. Murcia. Spain, (september 2005).
232. Roy, F., Maurel, M.C., Combarous, Y., Briois, J.P., Pobel, T., et Deletang F., " Etude de la réponse immunitaire observée chez les ovins et les caprins traités avec PMSG dans le cadre de l'insémination artificielle". *Rencontres Rech. Rum.*, V. 2, (1995), 395-398.
233. Lytton, F.D.C., et Poyser, N.L., "Concentrations of PGF-2 α and PGE-2 in the uterine venous blood of rabbits during pseudopregnancy and pregnancy". *J. Reprod. Fertil.* V. 64,(1982), 421-429.
234. Browning, J.Y., Landis-Keyes, P. et Wolf, R.C. "Comparison of serum progesterone, 20 α dihydroprogesterone and estradiol-17 β in pregnant and pseudopregnant rabbits": evidence of postimplantation recognition of pregnancy. *Biol. Reprod.* V.23, (1980), 1014 - 1018
235. Boiti, C., Canali, C., Brechia, G., Zanon, F., et Facchin, E., " 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.* V. 52, (1999) ,1123-1132.
236. McNitt J.I., Endocrinological approaches for commercial rabbit production. *J. Appl. Rabbit Res.*, V.15, (1992), 364-397.
237. Ubilla, E., et Rodriguez, J.M., "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, Budapest, Hungary. V. 2, (October 1988), 494-503.
238. Rodriguez, J.M., Agrasal, C., et Esquifino, A., "Influence of sexual receptivity on LH, FSH and prolactin release after GnRH administration in female rabbits". *Animal Reproduction Science.* V. 20, (1989), 57-65.
239. Facchin, E., Castellini, C., Rasetti, G., et Ballabio, R., "L'impiego di prostaglandina sintetica (alfaprostol) e di PMSG nella sincronizzazione degli estri e dei parti nella coniglia". *Riv. Zoot. Vet.* V. 20, (1992), 11-14.
240. Gogol, P., "Effect of prostaglandin F2 α on reproductive performance in rabbit does". *Ann. Anim. Sci.*, V. 9, n°4, (2009), 395-400.
241. Theau-Clément, M., Castellini, C., Maertens, L., et Boiti, C., "Biostimulations applied to rabbit reproduction": theory and practice. *World Rabbit Science* V.6, (1998), 179-184.
242. Theau-Clément, M., "Etude de quelques facteurs de contrôle de l'interaction entre la lactation et la reproduction chez la lapine conduite en insémination artificielle", Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, Toulouse, (2001), 103p.
243. Stevenson, J.S., et Davis, D.L., "Influence of reduce litter size and daily litter separation on fertility of sows at 2 to 5 weeks *post partum*". *J. Anim. Sci.*, V.59, (1984), 284-293.
244. Pavois, V., Le Naour, J., Ducep, O., Perrin, G., et Duperray, J., "Une méthode naturelle pour améliorer la réceptivité et la fertilité des lapines allaitantes en insémination artificielle". 6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle, V.II, (1994), 528-535.

245. Castellini C., Canali C., et Boiti C., "Effect of mother litter separation for 24 hours by closing the nest box or change of cage, on rabbit doe reproduction performance". *World Rabbit Science*, V6, n°(1), (1998), 199-203
246. Virag, G., Kustos, K., et Szabo, L., "Effect of a 48 hours doe-litter separation on rabbit doe's reproductive performance and offspring's growth. " *World Rabbit Sci.*, V.7, (1999),155-159.
247. Bonanno A., Alabiso M., Di Grigoli A., et Alicata M.L.. "Effect of change of cage and/or mother-litter separation on productivity of non-receptive lactating rabbit does. Preliminary investigations". *World Rabbit Science*, V.7, n°2, (1999a), 107-111.
248. Bonanno, A., Alabiso, M., Di Grigoli, A., Alicata, M.L., et Montalbano, L., "Effect of a 48-hour doe-litter separation on performance of free or controlled nursing rabbit does". *Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia, Spain, A, (2000)*, 97-103.
249. Bonanno, A., Mazza, F., Di Grigoli, A., et Alabiso M., "Effects of a split 48-hour doe-litter separation on productivity of free nursing does and their litters". *Livest. Prod. Sci.*, V.89, (2004), 287-295
250. Theau-Clément, M., et Mercier, P., "Effect of a 24h doe-litter separation on rabbit doe reproductive performance and growth of the young". *World Rabbit Sci.*, V.7, (1999), 177- 179.
251. Bonanno, A., Di Grigoli, A., Alabiso, M., et Boiti, C., "Parity and number of repeated doe-litter separation treatments affect differently the reproductive performances of lactating does". *World Rabbit Sci.*, V.10, (2002), 63-70.
252. Bonanno, A., Mazza, F., Di Grigoli, A., et Tornambè, G., "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. Palermo, Italy, (June 2005)*, 11pp.
253. Eiben, Cs., Kustos, K., Gódor-Surmann, K., Kotány, Sz., Theau-Clément, M., et Szendrő Zs., "Effect of nursing methods on productivity in lactating rabbits". *8th World Rabbit Congr., Puebla, Mexico, (September 2004)*, 263-269.
254. Matics, Zs., Szendrő, Zs., Theau-Clément, M., Biró-Németh, E., Radnai, I., Gyovai, M., Orova, Z., et Eiben, Cs., "Modification of the nursing system as a biostimulation method". *World Rabbit Congr., Puebla, Mexico, (2004)*, 298-302.
255. Szendrő, Zs., Matics, Zs., Gerencsér, Zs., Gyovai, M., Biró-Németh, E., et Radnai, I., "Effect of lighting and biostimulation on performance of rabbit does. 2. Effect of nursing method". *17th Hungarian Conf. Rabbit Prod., Kaposvár, Hungary, (2005b)*, 79-82.
256. Ubilla, E., Rebollar, P.G., Pazo, D., Esquifino, A.I., et Alvariano, J.M., "Pituitary and ovarian response to transient doe-litter separation in nursing rabbits". *J. Reprod. Fertil.*, V. 118, (2000), 361-366.
257. Ubilla, E., Rebollar, P.G., Pazo, D., Esquifino, A.I., et Alvariano, J.M., "Endocrine profiles during doe-litter separation and subsequent pregnancy in rabbits". *J. Physiol. Biochem.* V.57, (2001), 23-29.

258. Rebollar P.G., Milanés A., Esquifino A.I., Millán P., et Lorenzo, P.L., "Plasma oestradiol and prolactin in synchronized multiparous rabbit does".. 8th World Rabbit Congr., Puebla, Mexico, (September 2004), 330-335.
259. Szendrő Zs., Jovanczai Zs., Theau-Clément M., Radnai I., Biro-Nemeth E., Milisits G., "The effect of doe-litter separation on production performance in rabbit does and their kits". World Rabbit Sci., V.7, (1999), 165-169.
260. Bonanno A., Alabiso M., Di Grigoli A., Alicata M.L., "Effect of a 48h delayed insemination with or without a 48h doe-litter separation on performance of nonreceptive does". World Rabbit Science, Vol.7n°(3), (1999b), 171-175.
261. Boiti, C., Bonanno, A., Brecchia, G., Alabiso, M., Di Grigoli, A., et Zampini D., "Influence d'une séparation mère-jeunes pendant 48 heures, sur la croissance et la sensibilité à un stress des lapereaux". In : Proc.: 9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris, (2001), 167-170.
262. Brecchia, G., Zampini, D., Guelfi, G., Mazza, F., Bonanno, A., et Boiti C., "Effects of early maternal deprivation on the neuroendocrine responses of young rabbits". In : Proc. 4th International Conference on Farm Animal Endocrinology, Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, V.5, (2001), 49p.
263. Brecchia, G., Bonanno, A., Galeati, G., Dall'aglio, C., Di Grigoli, A., Parrillo, F., et Boiti C., "Effects of a short and long term fasting on the ovarian axis and reproductive performance of rabbit does". 8th World Rabbit Congr., Puebla, Mexico, (September 2004), 231-236.
264. Theau-Clément M., Malpaux B., Lamothe E., Milcent N., Juin H., et Bodin L. "Influence of photoperiod on the sexual behaviour of non-lactating rabbit does: preliminary results".. 9th World Rabbit Congress .Verona – Italy. (June 2008), 465-470.
265. Mirabito, L., Galliot, P., et Souchet, C., "Effet de l'utilisation de la PMSG et de la modification de la photopériode sur les performances de reproduction de la lapine", 6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. La Rochelle. (France). (décembre 1994), 169-178.
266. Maertens, L., et Luzi, F., "Note concerning the effect of PMSG stimulation on the mortality rate at birth and the distribution of litter size in artificially inseminated does". World. Rabbit. Science. V.3, (1995), 57-61,
267. Szendro ZS., Gerencsér ZS., Gyovai M., Metzger SZ., Radnai I., Biró-németh E., "effect of photoperiod on the reproductive traits of rabbit does". Proceedings - 8th World Rabbit Congress Puebla, Mexico (September 2004), 354-357.
268. Theau-Clément M., et Mercier P., "influence of lighting programs on the productivity of rabbit does of two genetic types". Proceedings 8th World Rabbit Congress – Puebla, Mexico (September, 2004), 358-364.
- 269.. Gerencsér, Zs., Matics, ZS., Nagy, I., Princz, Z., Orova, Z., Biro-Németh, E., Radnai, I., Szendrő, Z.S., "Effect of a light stimulation on the reproductive performance of rabbit does". 9th World.Rabbit .Congr. Verona, Italy. (June 2008), 371-374.
270. Lefèvre, B., et Moret, B., "Influence d'une modification brutale de l'environnement sur l'apparition de l'oestrus chez les lapines nullipares". Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., V.18, (1978), 695-698

271. Uzcategui, M.E., et Johnston N.P., "Effect of continuous and intermittent photoperiods on the reproductive performance and growth of rabbits". *J. Appl. Rabbit Res.* V. 13, (1990), 215,219.
272. Virag, Gy., Gócza, E., Hiripi, L., et Bösze, Zs., "Influence of a photo-stimulation on ovary and embryo recovery in nulliparous rabbit females". 9th World Rabbit Congress. Verona. Italy. (2008), 471-476
273. Rebollar, P.G., Alvaríño J.M.R., Del Arco J.A., et Bueno A., "Control de celo en conejas nulíparas: manejo y tratamiento con PMSG". *Inf. Tech. Eco. Agr.*, 16, (1995), 455-457.
274. Luzi, F., et Crimella, C., "Effect of change of cage 2 days before artificial insemination on reproductive performance of rabbit does". *World Rabbit Sci.*, V. 6, (1998), 195-198.
275. Castellini, C., "Recent advances in rabbit artificial insemination". *Proc. 6th World Rabbit Congress.* V. 2, (1996), 13-26.
276. Rodriguez De Lara, R., Fallas, L.M., et Rangel, S.R. "Influence of body live weight and relocation on kindling rate and prolificacy in artificially inseminated nulliparous doe rabbits".. 7th World Rabbit Congress, Valencia, Espagne. V A, (July, 2000), 251-257.
277. Verita, P., et Finzi A., "Cage change as a stressor in rabbit". *Proc. 2nd World Rabbit Congress,* Barcelona, V. 1, (1980), 417-423.
278. Shelton, M., "Influence of the presence of a male goat on the initiation of oestrus cycling and ovulation of angora doe". *J. Anim. Sci.* V.19, (1960), 368-375.
279. Lassoued, N., Khaldi, G., Cognié, Y., Chemineau ,P., et Thimonier, J. , "Effet de la progestérone sur le taux d'ovulation et la durée du cycle ovarien induits par effet mâle chez la brebis Barbarine et la chèvre locale tunisienne ". *Reprod. Nutr. Dévelop.* V. 35, (1995), 415-426
280. Signoret, J.P., "Effet de la présence du mâle sur les mécanismes de reproduction chez la femelle des mammifères". *Reprod.Nutr.Develop.* V. 20, n° (2), (1980), 457- 468
281. Chemineau, P., "L'effet bouc : mode d'action et efficacité pour stimuler la reproduction des chèvres en anoestrus". *Productions Animales, INRA.* V. 2, n°2, (1989), 97-105 ;
282. Lindsay, D.R., Cognié, Y., Pelletier, J., et Signoret, J. P., "Influence of the presence of rams on the timing of ovulation and discharge of LH in ewes". *Physiology and Behavior.* V.15, n° 4, (1975), 423-426.
283. Pointron, P., Cognié, Y., Gayerie, F., Orgeur, P., Oldham, C., M., et Ravault, J.P., "Changes in gonadotrophins and prolactin levels in isolated (seasonally or lactationally) anovular ewes associated with ovulation caused by the introduction of rams". *Physiology and Behavior.* V. 25, n° 2, (1980), 227-236.
284. Martin, B.G., et Scaramuzzi, R.J., "The induction of oestrus and ovulation in seasonnaly anovular ewes by exposure to rams". *J. Steroid Biochem.*, V.19, (1983), 869-875.

285. Claus R., Over R., Dehnhard M., "Effect of male odour on LH secretion and the induction of ovulation in seasonally anoestrous goats." *Animal Reproduction Science* .V. 22, Issue 1, (March 1990), 27-38
286. Mauléon, P., et Dautier, L., "Variations de durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de-France". *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, V.5, (1965), 131-143
287. Knight, T.W., et Lynch, P.R., " Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe". *Anim. Reprod. Sci.*, V. 3, (1980), 133-136.
288. Signoret, J.P., Lévy, F., Nowak, R., Orgeur, P., et Schaal, B., "Le rôle de l'odorat dans les relations interindividuelles des animaux d'élevage". *INRA Prod. Anim.*, V.10, (1997), 339-348.
289. Pearce, D., et Oldham, C. M., "Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe". *J. Reprod. Fertil.* V. 84, n° 1, (1988), 333-339.
290. Hudson, R., et Distel H. "Sensitivity of female rabbits to changes in photoperiod as measured by pheromone emission". *J. Comp. Physiol.*V. 167, n°2, (1990), 222-230.
291. Frank, H., "Ablation des bulbes olfactifs chez la lapine impubère. Répercussions sur l'tractus génital et le comportement sexuel". *Soc. Biol.* V. 160, (1966), 389-390.
292. Lefèvre, B., Martinet, L., et Moret, B., " Environnement et comportement d'oestrus". In : Proc. 1^{er} Congrès International Cunicole, Dijon, France, (1976), Communication n°61.
293. Berepudo, N.A., Nodu, M.B., Monsi, A., et Amadi E.N., "Reproductive response of prepubertal female rabbit to photoperiod and/or male presence". *World Rabbit Sci.*, V.1, (1993), 83-87.
294. Bonanno, A., Mazza, F., Alabiso, M., Di Grigoli, A., et Alicata, M.L., "Effects of bio-stimulation induced by contact with buck on reproductive performance of rabbit does". *Proc. A.S.P.A. 15th Congr. It. J. Anim. Sci.*V. 2, Suppl. 1, (2003), 133-135.
295. Kustos, K., Eiben, Cs., Szendrő, Zs., Theau- Clément, M., Gódor, S-Né, et Jovánczai Zs., "Effect on reproductive traits of male presence among rabbit does before artificial insemination (Preliminary results) ". 7th World rabbit Congr. Valencia, Spain, (July 2000), 161-166.
296. Eiben, Cs., Kustos, K., Szendrő, Zs., Theau- Clément, M., Gódor-Surmann, K.,. "Effect of male presence before artificial insemination on the receptivity and prolificacy in lactating rabbit does". 12th Symp. Housing and Diseases of Rabbits, Furbearing Animals and Pet Animals, Celle, Allemagne, (2001), 1-6.
297. Parigi-Bini, R., et Xiccato, G., "Recherches sur l'interaction reproduction et lactation chez la lapine". *Une revue. World Rabbit Sci.*, V. 1, (1993), 155-161.
298. Hamada, Y., Schlaff, S., Kobayashi, Y., Santulli, R., Wright, K.H. et Wallach, E.E., "Inhibitory effect of prolactin on ovulation in the in vitro perfused rabbit ovary". *Nature, Lond.* V. 285, (1980), 161-163.
299. Garcia-Garcia R.M., Arias-Alvarez M., Rebollar P.G., Revuelta L., Lorenz P.L., " Influence of different reproductive rhythms on serum oestradiol and testosterone levels, features of follicular

- population and atresia rate, and oocyte maturation in controlled suckled rabbits". *Anim. Reprod. Sci.* V.114, (2009), 4236433.
300. Ubilla, E., et Rebollar, P.G., "Influence of the *post partum* day on plasma oestradiol 17Beta level, sexual behavior, and conception rate, in artificially inseminated lactating rabbits". *Animal Reproduction Science*. V. 38, Issue (4), (1995), 337-344.
301. Beyer, C. et Rivaud, N. "Sexual behaviour in pregnant and lactating domestic rabbits". *Physiol. Behav.* V.4, (1969), 753-757.
302. Garcia, F., et Perez, A., " 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*. V. 80, (1989), 3-10.
303. Alabiso, M., Bonanno, A., Alicata, M.L., Leto, G., et Todaro M., "Productivity of rabbit does subjected to artificial insemination and natural mating". In : Proc.: 6th World Rabbit Congress, Toulouse. France. V. 2, (July 1996), 29-35.
304. Diaz, P., Gosalvez, L.F., et Rodriguez, J.M., "Sexual Behaviour in the postpartum period of domestic rabbits". *Anim. Reprod. Sci.*, V.17, (1988), 251- 257.
305. Rodriguez de Lara, R., et Fallas, L.M., "Environmental factors and physiological factors influencing kindling rates and litter size at birth in artificially inseminated doe rabbits". *World Rabbit Sci.*, V.7, (1999), 191-196.
306. Harned, M.A., et Casida, L.E., "Some *post partum* reproductive phenomena in the domestic rabbit". *J. Anim. Sci.*, V.28, (1969), 785-788.
307. Roustan, A., et Maillot, D., "Comparaison des resultats de fertilité et de productivité numérique à la naissance de deux groupes de lapines conduites en insemination artificielle et en saillie naturelle. Analyse de quelques facteurs de variations". 5^{èmes} journées de la Recherche Cunicole en France, Paris, France (Decembre 1990), Communication n°3.
308. Prud'hon M., Rouvier R., Cael J., et Bel L., "Influence de l'intervalle entre la parturition et la saillie sur la fertilité et la prolificité des lapins". *Annales de Zootechnie* V.18, n°3, (1969), 317-329.
309. Maertens, L., et Okerman, F. "Reproduction, croissance et qualité de carcasse. Possibilités d'un rythme de reproduction intensif en cuniculture". *Revue de l'Agriculture*. V. 5, (1987), 1157-1169
310. Walter, M.R., Martinet, L., Moret, B., et Thibault, C., " Régulation photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin mâle et femelle". *Archives d'Anatomie d'Histologie et d'Embryologie*, V. 51, (1968), 773-780.
311. Templeton, G.S., " Pseudopregnancy in domestic rabbits". *Wildlife Circular*, United States Department of the interior, n° 4, (1940), 1-13.
312. Hammond, J., et Asdell S.A., "The Vitality of the Spermatozoa in the Male and female reproductive Tracts". *Brit. J. Exp. Biol*, V.4, (1926), 155-185.

313. Hulot, F., et Poujardieu, B., "Induction artificielle de l'ovulation et fertilité chez la lapine allaitante ou non". *Ann. Biol. Chim. Bioch. Biophys.* V.16, (1976), 635-643.
314. Brooks, C.M.C., "The role of cerebral cortex and various sense organs in the excitation and execution of mating activity in the rabbit". *Amer. J. Physiol.*, V.120, (1937), 544-553.
315. Fee, A.R., et Parkes, A.S., "Studies on ovulation: III. Effect of vaginal anaesthesia on ovulation in the rabbit". *J. Physiol.* V. 70, n° (4), (Decembre 1930), 385-388.
316. Adams, G.P., Ratto, M.H., Huanca, W., et Singh J., "Ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas". *Biol. Reprod.* V. 73, (2005), 452-457.
317. Ratto M.H., Huanca W., Singh J., et Adams G.P., "Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. *Reproductive Biology and Endocrinology* V.3, n° (29), (2005), 1-5.
318. Chen, B.X., Yuen, Z.X., et Pan, G.W., "Semen-induced ovulation in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*).". *J. Reprod. Fertil.* V.73, (1985), 335-339.
319. Xu, Y.S., Jian, L.G., Wang, H.Y., Ge, S.L., Zeng, G.Q., Jiang, G.T., et Gao, Y.H., "Hormone concentrations before and after induced ovulation in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*)". *J. Reprod. Fertil.*, V. 74 (1985), 341-346.
320. Fox, R.F., "Coitus as an ovulation stimulant in the laboratory rabbit". *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, V. 128, (1968), 639-642.
321. Smith, P. E., et White, W. E., "The effect of hypophysectomy on ovulation and corpus luteum formation in the rabbit". *J. Am. Med. Assoc.* V.97, n°25, (1931). 1861-1863.
322. McPhail, MK. Parkes AS. et White WE., "Ovulation after blood dilution and cross-circulation". *J Physiol.* V.79, n°(2), (September 1933), 180-184.
323. Friedman, M.H. "The mechanism of ovulation in the rabbit. I. The demonstration of a humoral mechanism". *Am. J. Physiol.* V.90, n°617, (1929), 89, 438.
324. Bakker, J. et Baum, M.J. "Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulation". *Front. Neuroendocrinol.*, V.21, (2000a), 220-262.
325. Bravo, P.W., Fowler, M.E., Stabenfeldt, G.H., et Lasley, B.L., "Endocrine responses in the llama to copulation". *Theriogenology.* V. 33, (1990), 891-899.
326. Shille VM, Lundstrom, K.E., et Stabenfeldt, G.H., "Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 beta concentrations in plasma: relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium". *Biol. Reprod.*, V.21, (1979), 953-963.
327. Bravo, P. W. et Sumar, J., "Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas". *Animal Reproduction Science.* V. 21, (1989), 271-281.
328. Sawyer, C.H., et Markee, J.E., "Estrogen facilitation of release of pituitary ovulating hormone in the rabbit in response to vaginal stimulation". *Endocrinology*, V. 65, (1959), 614-621

329. Kanematsu, S., Scaramuzzi, R.J., Hilliard, J., et Sawyer, C.H., "Patterns of ovulation-inducing LH release following coitus, electrical stimulation and exogenous LH-RH in the rabbit". *Endocrinology*. V. 95, (1974), 247-252
330. Baum, M.J., Carroll, R.S., Cherry, J.A., et Tobet, S.A., "Steroidal control of behavioural, neuroendocrine and brain sexual differentiation: studies in a carnivore, the ferret" *Journal of Neuroendocrinology*. V.2, (1990), 401-418.
331. Bakker, J., et Baum, M.J., "Effect of gonadal steroids on pituitary LH secretion and mediobasal hypothalamic GnRH mRNA in ferrets". *Journal of Reproduction and Fertility* .V.119, (2000b), 315-321.
332. Gallouin, F., "Mécanismes physiologiques de la reproduction. L'ovulation". *Cuniculture*. V. 41, (1981), 294- 297.
333. Spies, H.G., Pau, K.Y., et Yang, S.P., "Coital and estrogen signals: a contrast in the preovulatory neuroendocrine networks of rabbits and rhesus monkeys". *Biol .Reprod .* V.56, (1997), 310-319.
334. Harper, M.J.K., "The time of ovulation in the rabbit following the injection of luteinizing hormone". *J. EnJocrin.*, V.22. (1961), 147-152
335. Foote, R.H., et Carney, E.W., "The rabbit as a model for reproductive and developmental toxicity studies". *Reproductive Toxicology*. V.14, (2000), 477-493.
336. Dufy-Barbe, L., Franchimont, P., et Faure, J.M., "Time-courses of LH and FSH release after mating in the female rabbit". *Endocrinology*. V. 92, (1973), 1318-1321.
337. Fee, A.R., et Parkes, A.S. "Studies on ovulation: I. The relation of the anterior pituitary body to ovulation in the rabbit". *J Physiol*. V. 67, n° 4, (1929), 383-388.
338. Firor, W. M. "Hypophysectomy in pregnant rabbits". *Am. J. Physiol*. V.104, (1933), 204- 215.
339. Meunier, M., Hulot, F., Poirier, J.C., et Torres, S., " A comparison of ovulatory gonadotropic surge in two rabbit strains: no evidence for a relationship between LH or FSH surge and factors of prolificacy". *Reprod. Nutr. Dev*. V.23, (1983), 709-715.
340. Jones, E.E., Bain, J.B., et Odell, W.D., "Postcoital luteinizing hormone release in male and female rabbits as determined by radioimmunoassay". *Fertil .Steril*. V.27, (1976), 848-852.
341. Drion, P.V., Ectors, P.J., Hanzen, C., Houtain, J.Y., Lonergan, P., et Beckers, J.F., "Regulation de la croissance folliculaire et lutéale". *Le point vétérinaire, numéro spécial «Reproduction des ruminants»*.V. 28, (1996), 49-56.
342. Knobil, E., et Neil, J., "The physiology of reproduction", In: Press, R. (Ed.), New York, (1988), 2414p.
343. Greenwald, G.S., "Study of the transport of ova through the rabbit oviduct". *Fert.Steril*. V.12, (1961), 80-95.

344. Bolet, G., "Contrôle de la sécrétion de FSH et de LH après l'accouplement chez la lapine effets du blocage de l'ovulation, de l'inhibition de la synthèse de progestérone ou de l'immunisation passive contre l'oestradiol 17 β ", Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), (1984), 19 pp.
345. Norris, R.P., Freudzon, M., Mehlmann, L.M., Cowan, A.E., Simon, A.M., Paul, D.L., Lampe, P.D., et Jaffe, L.A., "Luteinizing hormone causes MAP kinase-dependent phosphorylation and closure of connexin 43 gap junctions in mouse ovarian follicles: one of two paths to meiotic resumption". *Development*, V. 135, (2008), 3229-3238
346. Salustri, A., Yanagishita, M. et Hascall, V.C., "Synthesis and accumulation of hyaluronic acid and proteoglycans in the mouse cumulus cell-oocyte complex during follicle stimulating hormone-induced mucification". *J. Biol. Chem.* V.264, (1989), 13840-13847.
347. Tanghe, S., Van Soom, A., Nauwynck, H., Coryn, M., et de Kruif, A., "Functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation and fertilization". *Mol. Reprod. Dev.* V. 61, (2002), 414– 424.
348. Eppig, J. J., "Intercommunication between mammalian oocytes and companion somatic cells". *BioEssays*. V. 13, (1991), 569-574.
349. Vanderhyden, B.C., "Species differences in the regulation of cumulus expansion by an oocyte-secreted factor(s)". *J. Reprod. Fertil.* V. 98, (1993), 219–227.
350. Vanderhyden, B.C., Telfer, E.E., et Eppig, J.J., "Mouse oocytes promote proliferation of granulosa cells from preantral and antral follicles *in vitro*". *Biol. Reprod.* V. 46, (1992), 1196–1204.
351. Vanderhyden, B.C., Caron, P.J., Buccione, R., et Eppig, J.J., "Developmental pattern of the secretion of cumulus expansion-enabling factor by mouse oocytes and the role of oocytes in promoting granulosa cell differentiation". *Develop. Biol.* V.140, (1990), 307- 317.
352. Vanderhyden, B. C., Macdonald, E. A., Nagyova, E. et Dhawan, A., "Evaluation of members of the TGFbeta superfamily as candidates for the oocyte factors that control mouse cumulus expansion and steroidogenesis". *Reprod. Suppl.* V. 61, (2003), 55-70.
353. Brunet, S., et Maro. B., "Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: integrating time and space". *Reproduction*. V.130, (2005), 801-811.
354. Terret, M.E., et Wassmann, K., "Meiotic weakness: the first division". *Med. Sci. (Paris)*, V. 24, (2008), 197-203.
355. Parr, E.L., "Rupture of ovarian follicles at ovulation". *J. Reprod Fertil Suppl.* V.22, (1975), 1-22.
356. Espey, L.L., "Ovarian contractility and its relationship to ovulation: a review". *Biol. Reprod.* V.19, (1978), 540-551
357. Patwardhan, V.V. et Lanthier, A. "Effects of an ovulatory dose of luteinizing hormone on the concentration of oestrone, oestradiol and progesterone in the rabbit ovarian follicles". *Acta Endocrinologica*. V. 82, (1976), 792-800.

358. Le Maire, W.J., Yang, N.S.T., Behrman, H.R. et Marsh, J.M., "Preovulatory changes in the concentration of prostaglandins in rabbit Graafian follicles". *Prostaglandins* V. 3, (1973), 367-376.
359. Espey, L.L., "Ovulation as an inflammatory reaction. A hypothesis". *Biol. Reprod.* V.11, (1980), 73-106.
360. Thibault, C., et Levasseur, M.C., "La fonction ovarienne chez les mammifères". Masson, Paris (1979), 102p.
361. Bjersing, L, et Cajander, S., "Ovulation and the mechanism of follicle rupture. III. Transmission electron microscopy of rabbit germinal epithelium prior to induced ovulation". *Cell. Tissue. Res.* V.149, (1974b), 313-327.
362. Löfman, C.O., Zackrisson, U., Mikuni, M., Block, M., Janson, P.O., et Brännström, M., "A method for longitudinal microscopic *in vivo* examinations of morphology, vascularity, and motility in the ovary and the oviduct of the rat". *J. Soc. Gynecol. Investig.* V. 9, (2002), 379–385.
363. Dahm-Kähler, P., Löfman, C., Fujii, R., Axelsson, M., Janson, P.O., et Brännström, M., "An intravital microscopy method permitting continuous long-term observations of ovulation *in vivo* in the rabbit". *Human Reproduction* V.21, n°3, (2006), 624–631.
364. Bjersing, L, et Cajander, S., "Ovulation and the mechanism of follicle rupture.V. Ultrastructure of tunica albuginea and theca externa of rabbit graafian follicles prior to induced ovulation". *Cell. Tissue Res.* ; V. 153, (1974c), 15-30.
365. Espey, L.L., et Lipner, H., "Measurements of intrafollicular pressures in the rabbit ovary". *Am. J. Physiol.* V. 205, (1963), 1067–1072.
366. Rondell, P., "Follicular pressure and distensibility in ovulation". *Am.J.Physiol.* V.207. (1964), 590-594
367. Rondell, P., "Biophysical aspects of ovulation" *Biol. Reprod. Suppl.* V. 2, (1970), 64-89.
368. Espey, L.L., et Coons, P.J., "Factors which influence ovulatory degradation of rabbit ovarian follicles" *Biology of Reproduction.* V.14, (1976), 233–245.
369. Bjersing, L, et Cajander, S., "Ovulation and the mechanism of follicle rupture. VI Ultrastructure of theca interna and the inner vascular network surrounding rabbit graafian follicles prior to induced ovulation". *Cell. Tissue. Res.* V.153, (1974d), 31-44.
370. Okuda, Y., Okamura, H., Kanzaki, H., et Takenaka, A., "Capillary permeability of rabbit ovarian follicles prior to ovulation". *J Anat.* V. 137, (1983), 263-269.
371. Beers, W.H., "Follicular plasminogen and plasminogen activator and the effect of plasmin on ovarian follicle wall". *Cell.* V. 6, (1975), 379–386.
372. Espey, L.L., "Ovarian proteolytic enzymes and ovulation". *Biol.Reprod.* V.10, (1974), 216- 235.

373. Bjersing, L, et Cajander, S., "Ovulation and the role of the ovarian surface epithelium". *Experientia*. V.31, (1975), 605-608.
374. Rawson, J.M.R., et Espey, L.L., "Concentration of electron dense granules in the rabbit ovarian surface epithelium during ovulation". *Biology of Reproduction*. V.17, (1977), 561-566
375. Cajander, S., et Bjersing L., "Further studies of the surface epithelium covering preovulatory rabbit follicles with special reference to lysosomal alterations". *Cell.Tiss.Res*. V.169, (1976), 129-141.
376. Espey LL, "Multivesicular structures in proliferating fibroblasts of rabbit ovarian follicles during ovulation". *J Cell Biol*. V. 48, (1971), 437-442.
377. Weiner, R., et Kaley, G., "lysosomal enzyme release from luteinized rat ovaries by prostaglandin". *J.Reprod.fertil*. V. 44, (1975), 571-574.
378. Hill, R.T., Allen, E., et Kramer, T.C., "Cinematic studies of rabbit ovulation". *Anat. Rec*. V. 63, (1935), 239-242.
379. Brännström, M., "The potential role of cytokines in ovarian physiology: the case for Interleukine-1". In : *the ovary*. (eds.Leung, Adashi), Elsevier (2004), 261- 271.
380. Bonello, N.P., Norman, R.J., Brännström, M., "Interleukine-1 β inhibits luteinizing hormone-induced plasminogen activator activity in rat preovulatory follicles *in vitro*". *Endocrine*. V. 3, (1995), 49-54.
381. Harper, M. J. K., "Ovulation in the rabbit : the time of follicular rupture and expulsion of the eggs, in relation to injection of luteinizing hormone". *J. Endocrin*.V. 26, (1963), 307-316.
382. Rodriguez, J.M., et Ubilla, E., "Effect of sexual receptivity on ovulation response in rabbit does induced with GnRH. In : *Proc.4th Congress of World Rabbit Science Association*, (October 1988), 504-509.
383. Khalifa, R.M., El-Alamy, M.A., et Beshir, M.A., "Vasectomized buck gave better reproductive results in artificial insemination techniques in rabbit than GnRH or hCG", *7th World Rabbit Congress*. Valencia Espagne. (juillet 2000).
384. Garcia-Ximenez, F., et Vicente, J.S., "Effect of ovarian cystic or haemorrhagic follicles on embryorecovery and survival after transfer in hCG-ovulated rabbits". *Reprod. Nutr. Dev*. V. 32, (1992), 143-149.
385. Viudes-de-Castro, M.P., Garcia-Ximenez, F., et Vicente, J.S., "Embryo recovery from eliminating does of the three selected rabbit strains for an embryo bank". *Inv Agrar: Prod. Sanid. Anim*. V.10, (1995), 145-152.
386. Mehaisen, G.M., Vicente, J.S., Lavara, R., et Viudes-de-Castro, M.P., "Effect of eCG dose and ovulation induction treatments on embryo recovery and *in vitro* development post-vitrification in two selected lines of rabbit does". *Anim. Reprod.Sci*. V.90, (2005), 175-184
387. Quintela, L.A., Pena, A.I., Vega, M.D., Gullon, J., Prieto, M.C., Barrio, M., Becerra, J.J., Maseda, F., et Herradon, P.G., "Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding busserelin to the seminal dose". *Reprod. Nutr. Dev*. V. 44, (2004), 79-88.

388. Quintela, L.A, Peña, A.I., Vega, M.D., Gullón, J., Prieto, C., Barrio, M., Becerra, J.J., et Herradón, P., "ovulation induction in rabbit does by intravaginal administration of the GnRH analogue [des-gly10, d-ala6]- lhrh ethylamide: field trial". 9th World Rabbit Congress. Verona – Italy (June 2008), 427- 430.
389. Viudes-de-Castro, M.P., Lavara, R., Marco-Jimenez, F., Cortell, C., et Vicente, J.S., "Ovulation induced by mucosa vaginal absorption of buserelin and triptorelin in rabbit". *Theriogenology*. V.68, (2007),1031- 1036
390. Ondruska, L., Parkányi, V., Rafay, J., et Chlebec, I., "Effect of LHRH analogue included in seminal dose on kindling rate and prolificacy of rabbits artificially inseminated". In: Proc.9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, (2008), 423-425.
391. Gordon, I., "Laboratory production of cattle embryos". In: "Biotechnology in agriculture", Edited by I Gordon. Cab International, Wallingford UK, V. 11, (1994), 640p.
392. Erickson, B.H., "Development and radio-response of the prenatal bovine ovary". *J. Reprod. Fertili.* V. 10, (1966), 97- 105.
393. Sirois, J., et Fortune, J.E., "Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography". *Biol. Reprod.* V. 39, (1988), 308- 317.
394. Guthrie, H. D., Grimes, R. W., Cooper, B. S., et Hammond, J. M., " Follicular atresia in pigs: measurement and physiology". *J Anim Sci.* V. 73, (1995), 2834-2844.
395. Hirshfield, A.N., "Development of follicles in the mammalian ovary". *International Review of Cytology.* V. 124, (1991), 43-99.
396. Tilly, J.L., " Apoptosis and ovarian function". *J Reprod Fert.* V.1, (1996), 162- 172.
397. Priedkalns, J., "Female reproductive system". In : *Textbook of Veterinary Histology* 2^{ed} eds. Edited by Diellman HD and Brown EM. (1981), 309-336
398. Monniaux, D., Mandon-Pepin, B., et Monget, P., "Follicular atresia, a programmed wastage". *Med. Sci. (Paris)*, V.15, (1999), 157-166.
399. Kruip, T.A.M., et Dieleman, S.J., "Macroscopic classification of bovine follicles and its validation by micromorphological and steroid biochemical procedures". *Reprod. Nutr. Dev.* V. 22, (1982), 365-473.
400. McNatty, K.P., Heath , D.A., Henderson, K.M., Lun, S., Hurts, P.R., Effis, L.M., Montgomery, G.W., Morrison, L., et Thurley, D.C., "Some aspects of thecal and granulosa cell function during follicular development in the bovine ovary". *J. Reprod. Fert.* V.72, (1984), 39-53
401. Wood, T.C, Montali, R.J., et Wildt, D.E., "Follicle-oocyte atresia and temporal taphonomy in cold-stored domestic cat ovaries". *Mol. Reprod. Dev.*, V. 46, (1997), 190-200.
402. Driancourt, M.A., Quesnel, H., Meduri, G., Prunier, A., et Hermier, D., "Luteinization and proteolysis in ovarian follicles of Meishan and Large White gilts during the preovulatory period " *J. Reprod. Fertilit.* V. 114, (1998), 287–297.
403. Hulot, F., et Mariana, J.C., " Effet du génotype, de l'âge et de la saison sur les follicules préovulatoires de la lapine 8 heures après la saillie". *Reprod. Nutr. Dev.* V. 25, (1985), 17-32.

404. Hirshfield, A.N., et Midgley, A.R., "Morphometric analysis of follicular development in the rat". *Biol.Reprod.* V. 19, (1978), 597-605.
405. Richards, J. S., "Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation". *Physiological Reviews.* V. 60, (1980). 51-89.
406. Braw, R., et Tsafiri, A., "Follicles explanted from pentobarbitone treated rats provide a model for atresia". *J.Reprod.fertil.* V.59, (1980), 259-265.
407. Perreaud, J., "Le lapin en tératology, bilan de huit années d'expériences en recherches pharmaceutiques", *Journées d'études sur le lapin: animal de laboratoire, Orléans (France)*, (1978), 80-104
408. Setty, S.L., et Mills, T.M., "The effects of progesterone on follicular growth in the rabbit ovary". *Biol Reprod.* V.36, (1987), 1247-1252.
409. Mills, T.M., et Stopper, V.S., "The intraovarian progesterone modulation of follicle development in the rabbit ovary". *Steroids.* V. 54, (1989), 471-480.
410. Takeda, T., Suzuki, H., Matsui, S., Terami, Y., et Tsutsumi, Y., "Effect of progesterone and medroxyprogesterone acetate on egg recovery from the vagina of rabbits". V.24 (1978), 184-191.
411. Tsutsumi, Y., Takada, T., Suzuki, H., Iwasaky, Y., Inada, K., et Minami, T., "Peripheral serum levels of progesterone and prostaglandin F₂ α during egg transport in superovulated rabbits". *Jap. J. Anim. Reprod.* V.26, (1980), 15-33.
412. Miller, J.B. et Keyes, P.L., "Transition of the rabbit corpus luteum to estrogen dependence during early luteal development". *Endocrinology.* V. 102, (1978), 31-38.
413. Scott R.S., et Rennie P.I.C.. Factors controlling the life span of the corpora lutea in the pseudopregnant rabbit. *J.Reprod.Fertili.* V.23, (1970), 415-422.
414. Rennie, P., "Luteal-hypophyseal interrelationship in the rabbit". *Endocrinology.* V. 83, (1968), 323-328.
415. Asami, G., "Observations on the follicular atresia in the rabbit ovary". *Anat. Rec.* V.18, (1920), 323- 343
416. Hilliard, J., et Eaton, L.W., "Estradiol-17 β , progesterone and 20 α -hydroxypregn-4-en-3-one in rabbit ovarian venous plasma. II. From mating through implantation". *Endocrinology.* V. 89, (1971), 522-527.
417. Challis, J.R.G., Davies, I.J. et Ryan, K.J., "The relationship between progesterone and prostaglandin F concentrations in the plasma of pregnant rabbits". *Prostaglandins.* V.A, (1973), 509-516
418. Boiti, C., Canali, C., Zerani, M., et Gobbetti, A., "Changes in refractoriness of rabbit corpora lutea to a prostaglandin F₂ α analogue, alfaprostol, during pseudopregnancy". *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* V. 56, (1998), 255-264.

419. Caillol, M., Dauphin-Villemant, C., et Martinet L., " Oestrous behaviour and circulating progesterone and oestrogen levels during pseudopregnancy in the domestic rabbit". *J.Reprod.Fert.* V. 69, (1983), 179-186.
420. Jaouzi T., Barkok A., El maharzi L., Bouzekraoui A., et Archa A., " Etude sur les systèmes de production cunicole au Maroc". *Cuniculture Magazine.* V.33, (2006), 99 -110
421. Christodouloupoulos, G., Burriel A.R., Labrinidi, S., et Kritas, S.K., "Traditional Rabbitries on the island of crete in Greece : General outlook". *World Rabbit Science* V. 9, n° 4, (2001), 135-139.
422. Riverón S., "Present situation of rabbit production in Cuba". *World Rabbit Science.* (2000), V.8 n°1, 131-134
423. Brzozowski, M.L., Lukefahr, S.D., Frindt, A. , Jasiorowski, H., et Devries, J., "Facteurs ayant une incidence sur la production de lapins dans les petites exploitations en pologne" (1998).
424. Barkok A., " Quelques aspects de l'élevage du lapin au Maroc". *Options méditerranéennes, Serie A, V.17,* (1990), 19-22.
425. Bergaoui R., et Kriaa S., "Performances des élevages cunicoles modernes en Tunisie".*World Rabbit Science ,V.9 n°2,* (2001), 69-76.
426. Kpodekon M., Gnimadji A., Djago Y., Koutinhoun B., Farougou S., "Rabbit production and network in Benin in 1998. *World Rabbit Science ,V. 8, n°(1),(juin 2000) ,*103-110.
- 427 Kpodekon M., "Le point sur l'élevage du lapin en république populaire du Bénin. *Cuni. sciences n° (4), (1987), fascicule 2*
428. Ben Larbi M., Haddad B., et Allalout S., "characterization of traditional rabbit breeding system used in the south of tunisia. *9th World Rabbit Congress Verona – Italy (Juin 2008), 1505-1508.*
429. Hajj, E., Boutros, C., Samra, J.A., "The Baladi rabbits (Lebanon)". In: *Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Options Méditerranéennes. Série B, CIHEAM, Zaragoza, V. 38,* (2002), 157-161.
430. Finzi A, Scapini A., et Tani A., "Les élevages cunicoles dans la région de Nefzaoua en Tunisie. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale. V. 82 (1-2), (1988), 435-462*
431. Besselievre, J., " Le lapin de rapport", Ed, la maison rustique, Faire soi même (1980), 126p.
432. Hafez, E.S.E., "Maternal behavior in mouse and rabbit and the question of generality". In: *Behavior of Domestic Animals. 3rd Edition, Tindal, Baillier and London. (1975), 532p.*
433. Sandford, J.C, et Woodgate, F.G., "The Domestic Rabbit". 3rd Ed.,Granada, London, Toronto, Sydney, New York. (1980), 258p.
- 434, Harkness, J.E, et Wagner, J.E., "The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents". 3rd Ed., Philadelphia: Lea and Febiger, (1989), 230 p.

435. Lesbouyries, G., "Reproduction des mammifères Domestiques " (Sexualité). Chap. Appareil Génital femelle. Vigot Frères Editeurs, Paris, (1949), 135-163.
436. Hulot, F., et Mariana, J.C., "Comparaison de la population des follicules pré ovulatoire entre deux souches de lapin. Effet de la parité et de la saison ". 3^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris, (1982), Communication.n° 13.
437. Beyer, C., et Mc Donald, P., "Hormonal control of sexual behavior in the female rabbit". Adv.Reprod. Physiol. V.6, (1973), 185- 219.
438. Hudson, R., et Distel H. "Sensitivity of female rabbits to changes in photoperiod as measured by pheromone emission". J. Comp. Physiol. V. 167, n°2, (1990), 222-230.
439. Challis, J.R.G., D.J.Ryan et Davies, I.J. "The concentration of progesterone, estrone and oestradiol-17 beta in the plasma of pregnant rabbits". Endocrinology, V.93, (1974), 971- 976.
440. Fortun, L., Prunier, A., et Lebas, F., "Effects of lactation on fetal survival and development in rabbit does mated shortly after parturition". J Anim Sci. V.7, (1993), 1882-1886
441. Badinand, F., " Involution utérine. L'utérus de la vache". Société Française de Buiatrie. Constantin.A et Meissonnier.E. Editeurs, (1981), 201-221.
442. Franck, M., "Le contrôle de l'involution utérine en période *post-partum*". Rev. Fr. Echogr. Anim., V.5, (1991), 10-11.
443. Gier, M.T, et Marion, G.B., "Uterus of the cow after parturition: involutinal changes". Am. J. Vet. Res., V. 29, (1968), 83-96.
444. Kaidi, R., Brown, P.J., David, J.S.E., Etherington, D.J., et Robins, S.P., " Uterine collagen during involution in cattle". Matrix, V. 11, (1991), 101-107.
445. Krajnicakova, M., Cigankova, V., Lenhardt, A., Kosteck, M et Maraaek, I., "Functional and Morphological Evaluation of the Mucosa of Endometrium and Oviduct in *post partum* Goats". Acta Vet. Brno, V. 71, (2002), 517-522.
446. Padykula, H.A., "Cellular mechanisms involved in cyclic stromal renewal of the Uterus.III. Cells of the immune response". The Anatomical Record. V. 184, Issue 1, (1975), 49-71.
447. Borowski, O., "Troubles de la reproduction lors du peripartum chez la vache laitière"Thèse n° 80, grade docteur veterinaire, Université Claude Bernard - Lyon (médecine - pharmacie). Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. (2006), 92p.
448. Slama, H., Tainturier, D., Chemli, J., Zaiem, I., et Bencharif, J., "Involution utérine chez les femelles domestiques: étude comparée". Revue Med. Vet., V.150, (1999), 779-790.
449. Bell, D.J., "Mate choice In the European rabbit". In: Mate Choice (Ed. by P. G. Bateson), Cambridge University Press, Cambridge, UK. (1983), 211–223,
450. Marshall, F.H.A., et Verney, E.B., "The occurrence of ovulation and pseudopregnancy in the rabbit as a result of central nervous stimulation". J. Physiol. V. 86, (1936), 327–336
451. Theau-Clément, M., Boiti, C., Mercier, P., et Falières, J., "Description of the ovarian status fertilizing ability of primiparous rabbit does at different lactation stages". In: Proc.7th World Rabbit Congress, Valencia, Spain, V. A, (2000), 259-266

452. Boiti, C., Besenfelder, U., Brecchia, G., Theau-Clément, M., et Zerani, M., "Reproductive physiopathology of the rabbit does". Recent Advances in Rabbit Sciences. Edited by L. Maertens and P. Coudert. (2006), 3-19.
453. Hammond, J., "On the causes responsible for the developmental progress of the mammary glands in the rabbit during latter part of Pregnancy". Proc. Roy.Soc., V.89, n°3, (1917), 534-545.
454. Larsen, J.F., "microscopy of the uterine epithelium in the rabbit". The journal of cell biology, V. 14, (1962), 49-64.
455. Larsen, J.F et Davies, J., "The Para placental chorion and accessory fetal membranes of the rabbit. Histology and electron microscopy". Anat. rec. V.143, (1962), 27- 46
456. Merad, Z., "Studies on endogenous immunoglobulin transport across rabbit yolk sacsplanchnopleur". A Thesis submitted to the Faculty of the University of Southampton for the Degree of M Ph. (1988), 102p
457. Palotie, A., Peltonen, L., Foidart, J.M., et Rajaniemi, H., "Immunohistochemical localization of basement membrane components and interstitial collagen types in preovulatory rat ovarian follicles". Coll. Relat. Res. V. 44, (1984), 279–287.
458. Tanaka, N., Espey, L.L., et Okamura, H. "Increase in Ovarian Blood Volume during ovulation in the Gonadotropin-Primed Immature Rat". Biol.Reprod. V.40, (1989), 762-768.
459. Gerdes, U., Gafvels, M., Bergh, A. et Cajander, S., "Localized increases in ovarianvascular permeability and leucocyte accumulation after induced ovulation in rabbits" J. Reprod. Fertili, V. 95, (1992), 539-550.
460. Espey, L.L., "Ovulation". In: Encyclopedia of Reproduction, ed by Knobil, E. and J.D. Neill, Academic Press, San Diego, V.3 ,(1999), 605-614.
461. Vaday, G. G., Schor, H., Rahat, M. A., Lahat, N., et Lider, O. "Transforming growth factor-beta suppresses tumor necrosis factor alpha-induced matrix metalloproteinase-9 expression in monocytes". J. Leukoc. Biol. V.69, (2001), 613-621.
462. Brannstrom, M., Pascoe, V., Norman, R.J., et McClure, N., "Localization of leukocyte subsets in the follicle wall and in the corpus luteum throughout the human menstrual cycle". Fertil Steril. V. 613, (1994), 488–495
463. Brannstrom, M., Mayrhofer, G., et Robertson, S.A., "Localization of leukocyte subsets in the rat ovary during the periovulatory period". Biol. Reprod. V. 482, (1993), 277–286.
464. Cavender, J. L., et Murdoch, W. J. "Morphological studies on the microcirculatory system of periovulatory ovine follicles". Biol. Reprod. V.39, (1988), 989-997.
465. Kobayashi, W. K.H., Santulli, R., et Wallach, E.E., "Ovulation and ovum maturation in the rabbit ovary perfused *in vitro*". Biol. Reprod. V. 24, (1981), 483-490.
466. Mariana, J.C., Monniaux, D., Driancourt, M. A., et Mauleon, P., "Folliculogenesis". In: Cupp s PT (editor), Reproduction in Domestic Animals, 4th ed. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanivich, San Diego, CA, USA, (1991), 119-171

467. Testart J., Thébeault A., et Lefèvre, B., "*In-vitro* ovulation of rabbit ovarian follicles isolated after the endogenous gonadotrophin surge". J. Reprod. Ferti, V. 68, (1983), 413-418.
468. Devine, P.J., Payne, C.M., McCuskey, M.K., et Hoyer, P.B., "Ultrastructural evaluation of oocytes during atresia in rat ovarian follicles". Biol. Reprod. V.63, (2000), 1245- 1252.
469. Tabarowski, Z., Szoftys, M., Bik, M., et Słomczyn, M., " Atresia of large ovarian follicles of the rat". Folia histochemica cytobiologica V. 43, n° (1), (2005), 43-50.
470. Gosden, R.G., Brown, N., et Grant, K., " Ultrastructural and histochemical investigations of Call Exner bodies in Rabbit Graafian follicles". J. Reprod.Fertili. V.85, (1989),519-526.
471. Van Wezel, IL., Irving Rodgers, H.F., Sado, Y., Ninomiya, Y., et Rodgers, R.J., " Ultrastructure and composition of Call-Exner bodies in bovine follicles". Cell Tissue Research, V. 296, (1999), 385-394.
472. Motta, P., "Sur l'ultrastructure des corps de Call et d'Exner dans l'ovaire du lapin".Cell and tissue research, V.68, n°(3), (1965), 308-319.
473. Espey, L.L., et Lipner, H. " Enzyme-induced rupture of rabbit Graafian follicle". American Journal of Physiology, V. 208, (1965), 208-213.
474. Espey L.L., " Multivesicular structures in proliferating fibroblasts of rabbit ovarian follicles during ovulation". Journal Cell Biology, V. 48 (1971), 437-442.
475. Motta, P., Cherney, D.D., et Didio, L.J.A. "Scanning and transmission electron microscopy of the ovarian surface in mammals with special reference to ovulation". JournalSubmicro Cytology, V. 3, (1971), 85-100.
476. Murdoch, W.J., et McDonnel, A.C., "Roles of the ovarian surface epithelium in ovulation and carcinogenesis". Reproduction, V.123, (2002), 743–750.
477. Gaytan, F., Bellido, C., Gaytan, M., Morales, C., et Sanchez-Criado, J.E., " Differential effects of RU 486 and indomethacin on follicle rupture during the ovulatory process in the rat". Biol. Reprod. V.69, (2003), 99-105.
478. Young, W. C., "The hormones and mating behavior". In : Sex and Internal Secretions, 3rd Ed., Ed. W. C. Young. Williams & Wilkins, Baltimore, (1961), 1173-1239.
479. Asdell, S.A., "Mechanism of ovulation". In: The Ovary : Zuckerman S (Hrsg) Academic Press, London, (1962), 435-449.
480. Espey, L.L., " An overview of 37 Years of Research on Ovulation". New York: Springer New York. (1998).
481. Murdoch, W.J., Wilken, C., Et Young, D.A., " Sequence of apoptosis and inflammatory necrosis within the formative ovulatory site of sheep follicles". J. Reprod. Fertil, V.117, (1999), 325–329.
482. Espey, L.L., et Rondell, P., "Collagenolytic activity in the rabbit and sow Graafian follicle during ovulation". Am.J. Physiol. V. 214, (1968), 326–329.

483. Espey, L.L., "Effect of various substances on tensile strength of sow ovarian follicles". *Am J Physiol.* V. 219, (1970), 230–233.
484. Tsafiriri, A., "Ovulation as a tissue remodeling process. Proteolysis and cumulus expansion". *Adv. Exp. Med. Biol.* V.377, (1995), 121-140.
485. Tadakuma, H., Okamura, H., Kitaoka, M., Iyama, K., Uzuku, G., "Association of immunolocalization of matrix metalloproteinase 1 with ovulation in HCG treated rabbit ovary". *J. Reprod. Fertil.* V. 98, (1993), 503–508
486. Boiti, C., "Underlying physiological mechanisms controlling the reproductive axis of rabbit does". In: *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla Mexico (2004)*, 186-206.
487. Lorenzo, P.L., Rebollar, P.G., Illera, M.J., Illera, J.C., Illera, M., Alvarino, J.M.R. Characterization of rabbit follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*". *Arch.Zootec.* V.45, (1996), 25 - 35.
488. Martoja, R., et Martoja-Pierson, M., "Initiation aux techniques de l'histologie animale" Ed. Masson & Cie, Paris, (1967), 345 p.
489. Gougeon, A., et Chainy, G.B.N., "Morphométric studies of small follicles in ovaries of women at different ages". *J. Reprod.Fert.* V. 81, (1987), 433-442.
490. Moura, A.S.A.M.T., Fernandes, S., Vasconcelos, J.L.M., Antunes, E.B., "Biostimulation of the reproductive activity of rabbit does in a natural mating system". *Rev. Bras. Zootec.* V. 32. (2003), 315-324.
491. Mattaraia, V.G.M., Bianospino, E., Fernandes, S., Vasconcelos, J.L.M., Moura, A.S.A.M.T., "Reproductive responses of rabbit does to a supplemental lighting program" *Livest. Prod. Sc.* V. 94, (2005), 179-187.
492. Manal, A.F. "Flushing or doe relocation as biostimulation methods for improvement of sexual behaviour and performance of multiparous rabbit doe after a summer resting period". *World Rabbit .Sci.*, V.18 (2010), 151 – 158.
493. Gosalvez, L.F., "Actividad ovarica de la coneja doméstica después del parto". Tesis doctoral, E.T.S.I. Agronomos de Madrid, (1986), 269pp IN: Ubilla et Rebollar , 1994.
494. Torres, C., Pla, M., Molina, I., Garcia, F. "Características reproductivas de la coneja" In : *Proceeding of the IX Symposium de cunicultura, Figueres, Spain.* (November 1984), 247–263
495. Abdel-ghaffar, A; E and Agag, M.A., "Relation between vulva color and reproductive performance in rabbits using A.I. technique". (*Cahiers Options Méditerranéennes*, V. 8. n° (1). International Conference of rabbit production in hot climates, (september, 1994), Cairo (Egypt).
496. Belabbas, R., AinBaziz, H., Ilès, I., Zenia, S., Boumahdi, Z., Boulbina, I., et Temim, S. "Etude de la prolificité et de ses principales composantes biologiques chez la lapine de population locale algérienne (*Oryctolagus cuniculus*)". *Livestock Research for Rural Development*. V.23 n° 3, 2011.
497. Mazouzi –Hadid, F., Theau-Clément, M., Berchiche, M., "Sécrétion de 17 β -oestradiol au moment de la saillie chez la lapine en fonction de la réceptivité et de la saison". 14^{èmes} journées de la Recherche Cunicole. Le Mans. (Novembre, 2011).

498. Theau-Clément, M., Thebault, R.G., Bolet, G., De Rochambeau, H., "La reproduction du lapin Angora de souche française: ovulation chez la femelle, production de semence chez le mâle". *Reprod.Nutr.Dev.V.* 31, (1991), 667-673.
499. Theau-Clément, M., Bolet, G., Roustan, A., Mercier, P., "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". In: 5^{ème} journées Recherche Cunicole .INRA –ITAVI Paris, (Décembre, 1990), V.1. Communication n°6.
- 500 . Jesús Aragón Hernández., Juan Suárez Sánchez., Mario Pérez-Martínez., " Morphometric characteristics of female reproductive organs of New Zealand rabbits with different body weight in peripuberal period of transition". *Vet. Mex.*, V.41 (n°3) (2010), 211-218.
501. Zitný, J., Massányi, P., , Trakovická, A., Rafaj, J ., Toman, R., "Quantification of the ovarian follicular growth in rabbits. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* V.48, (2004) 37-40
502. Goodrowe, K.L, Wall, R.J., O'Brien, S.J., Schmidt, P.M., Wildt, D.E., "Developmental competence of domestic cat follicular oocytes after fertilization in vitro". *Biol. Reprod.*, V.39, (1988), 355-372.
503. Barber MR, Lee SM, Steffens WL, Ard M, Fayrer-Hosken RA. " Immunolocalization of zona pellucida antigens in the ovarian follicle of dogs, cats, horses and elephants".*Theriogenology*, V. 55, (2001) ,1705-1717.
504. Lee VH, Britt JH, Dunbar BS " Localization of laminin proteins during early follicular development in pig and rabbit ovaries". *J Reprod Fertil* V.108 (1996),115–122
505. Ubilla I., et Rebollar P.G., "A study on the evolution of sexual receptivity and plasma oestradiol 17 beta levels throughout the lactation period , in rabbits". *Cahiers Options Méditerranéennes*. V. 8, (1994), CIHEAM-IAMZ. 377-381.
506. Terranova, P. F., Saidapur, S. K., and Greenwald, G. S., "*In-vitro* steroidogenesis of newly formed corpora lutea and the non-luteal ovary in the rat, rabbit, hamster and guinea-pig". *J.Endocr.*V.84, (1980), 101-108.
507. Markee, J.E. and Hinsey, J.C., "Observations on ovulation in the rabbit". *Anat. Ree.* V. 64, (1935), 309-319.
508. Fujimoto, S., Rawson J. M. R., and Dukelow W. R., "Hormonal influences on the time of ovulation in the rabbit as determined by laparoscopy". *J.Reprod.Fert.* V.38 (1974), 97-103.
509. Bonhoff, A. J., and Adams, C. E., "Relationship of hormonally induced developmental changes in preovulatory follicles of the rabbit". *Lab. Anim.* V.19, (1985), 27-31.
510. Lopez, M., Forcada, F., Rodriguez, J.A.,Martin, M., Zaragaza, L., " Embryo recovery under anaesthesia after hCG or GnRH treatments in the rabbit and survival when a reduced number of embryos is transferred. " *World Rabbit Science* V.1, n° (4), (1993), 127-132.
511. Boumahdi-Merad Z., Belabbas, R., Theau-Clément M., Berbar, A., Kaidi, R. "Etude des modifications histologiques ovariennes après l'accouplement en fonction de la réceptivité sexuelle chez les lapines de population locale ". 4^{èmes} journées vétérinaires Université Saad DAhlab Blida. (Novembre 2011), communication orale.

512. Zerrouki, N., Bolet, G., Theau-Clément, M., "Etude des composantes biologiques de la prolificité de lapines de population locale algérienne". 13^{èmes} journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France (Novembre 2009).
513. Arias- Alvarez, M., Garcia-Garcia, R.M., Revuelta, L., Cuadrado, M., Mollan, P., Nicodemus, N., Rebollar, P;G;, Lorenzo, L., "Short term effects of different diets on ovarian function and oocyte maturation of rabbit nulliparous does". 9th World Rabbit Congress. Verona , Italy, (Juin, 2008), 279-284.
514. Younglai, E.V. , "Effect of mating on follicular fluid steroids in the rabbit". J.Reprod.Ferti.V.30 (1972), 157-159.
515. Mills, T.M., and Gerardot, R.J., "Dissociation of copulation from ovulation in pregnant rabbits". Biol.Reprod.V.30 (1984), 1243-1252.
516. Zerrouki, N., Bolet, G., Berchiche, M., Lebas F. "Caractérisation d'une population locale du lapin en Algérie: performances de reproduction des lapines". 9^{èmes} journées de Recherche Cunicole, Paris, novembre (2001).

APPENDICE A

LISTE DES ABREVIATIONS

AMH: anti Mullerian hormon

AMPc : Adénosine monophaste cyclée

ATP: Adénosine triphosphate

CEEF : Cumulus Expansion Enabling Factor

CYP11A1 :Cytochrome P450, famille 11,sous famille A,pomypeptide 1

CYP17A1 : Cytochrome P450, famille 17, sous famille A, polypeptide 1;

eCG: equine chorionic gonadotrophine

EGF: Epidermal growth facto

FGF : Fibroblastic growth factor

FSH: Follicle stimulating hormone ou Hormone folliculo Stimulante

GnRH: Gonadotropine releasing hormone

GDF-9: Growth Differentiating Factor 9

GV : Germinal vesicle ou vésicule germinative

GVBD: Germinal Vesicle Break Down ou dissolution de la vésicule germinale

hCG: Human chorio gonadotrophine

IA : Insémination artificielle

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique de France

ITELV : Institut technique des élevages

i.v: intraveineuse

i.m: intramusculaire

IL-1 : l'interleukine -1

IL-1 β : interleukine 1 β

KD : Kilo dalton

KITLG : Kit ligand

LH: Luteinizing hormone ou Hormone lutéinisante

MTOCs : microtubule organizing center,

Métaphase I : Métaphase de la deuxième division méiotique

MPF: M-phase promoting factor

NO : Oxyde nitrique

OMI : Oocyte maturation inhibitor ou inhibiteur de maturation ovocytaire

PAF : Platelet Activating Factor

p.c. : *post coitum*

PGF2: Prostaglandine

PMSG : Pregnant Mare Serum Gonadotropin

p.p. : *post partum*

Prophase I : Prophase de la première division méiotique

µm: micrometer

SCF: Stem Cell Factor

3 β- HSD : *3β-hydroxysteroid dehydrogenas*

STAR : Steroidogenic acute regulatory protein

TGF-β: Transforming Growth Factor

TNF α: Tumor Necrosis Factor

UI: Unité Internationale

VEGF: Vascular Endothelial Factor

µg: microgramme

ng/ml : nanogramme par millilitre

pg/ml : picogramme par millilitre

ZP1, ZP2, ZP3 : Zone pellucide 1, 2, 3

APPENDICE B

Université Sâad Dahleb Blida

Faculté des sciences agro-vétérinaires

Questionnaire

Enquête sur l'élevage du lapin :

-Nous voulons par la présente enquête faire une étude sur l'élevage du lapin dans les wilayas de..... cela dans le but de connaître les modalités d'élevage des lapins de population locale sur les paramètres de reproduction.

A- L'ELEVEUR

5- Qui s'occupe de votre élevage ?

- Femmes ()
- hommes ()
- enfants ()

6 -Quelle est la race que vous utilisez ?.....

7- Quel est le nom du fournisseur ?.....

B -PRESENTATION DE L'ELEVAGE

1- Est-ce que vous avez un élevage de lapin ?

2- Comment est composé votre élevage ?

- Femelles ()
- Males ()
- Petits ()

3- Depuis combien de temps faites vous cet élevage ?.....

4- Dans quel but élevez vous des lapins ?

- Autoconsommation ()
- plaisir ()
- Commerce ()

- L'HABITAT :

1 – Comment sont ils élevés vos lapins ?

- Dans des cages en bois (),

- dans des cages grillagés (),
- au sol (),
- autres ().

2 – Le local de vos lapins est-il ?

- Construit spécialement pour eux ()
- Un vieux local récupéré ()
- Un fût métallique ()
- Un bâtiment en ciment ()

C- LES ANIMAUX

1 – Quel est le nombre de femelles reproductrices ?.....

2 – Le nombre de mâles reproducteurs ?.....

3 – Le nombre de lapereaux ?.....

4 – Comment se fait la répartition du cheptel ?.....

5 – Selon quel critère se fait la réforme des femelles ?

- Age ()
- maladies ()
- production ()

6 – comment se fait le remplacement des femelles reformées ?.....

D- ALIMENTATION ET ABREUVEMENT :

1-Citez les herbes des champs que vous utilisez dans l'alimentation de lapin ?

.....

2-Vos lapins sont nourris

- 1 fois/jour
- 2fois/jour
- 4fois/jour
- à volonté

3- Donnez vous aux lapins du pain sec et du son?

- Pain oui () non ()
- Son oui () non ()

4-Le foin que vous donnez aux lapins ?

- Vous le séchez vous-même ()
- Vous l'achetez ()

5-Rencontrez vous des périodes difficiles pour nourrir vos lapin ?

Si oui, les quelles ? Durée, saison

6 - Donnez- vous de l'eau pour vos lapins ?

- chaque jour ()
- chaque semaine ()
- été seulement ()

7- Est-ce que vous utilisez les feuilles d'arbres dans l'alimentation des lapins ?

Si oui, les quelles ?.....

- 8- Distribuez-vous des aliments concentrés à vos lapins ?
Si oui, lesquels ? Qualité, quantité.....
- 9- Quels sont les restes de table que vous distribuez aux lapins ? Quantité ?
.....
- 10 -En cas de reste, est ce que vous l'ajoutez au nouveau repas ?
.....
- 11 -Donnez- vous des légumes, racines ?
.....
- 12 - La distribution se fait la fin de la journée ou le matin ?
.....
- 13 - Est ce que vous donnez la même quantité d'aliment pour les mâles et les femelles ?
.....
- 14-Combien de fois vous abreuvez vos animaux :

E –REPRODUCTION :

➤ Préparation des producteurs :

1 – A quel âge vous présentez la femelle au mâle pour la première fois ?

- à 4 mois ()
- à 5 mois ()
- à 6 mos ()
- à 7 mois ()

2 – Combien de fois par an la lapine a-t-elle des petits ?

- 2 fois ()
- 3 fois ()
- 4 fois ()
- 5 fois ()

3 – A quel âge les petits sont séparés de leur mère ?.....

4 – Y' a-t-il un changement de durée d'éclairement ?.....

5 – L'âge de la mise à la reproduction pour les mâles ?.....

6 – Jusqu'à quel âge gardez vous les lapins pour la reproduction ?.....

7 – Les lapines gestantes sont elles contrôlées par le vétérinaire ?.....

8 – Combien de temps attendez vous pour présenter la femelle au mâle après la mise bas ?

Après :

- 10 jours ()
- 20 jours ()
- 45 jours ()

- sevrage ()

9 – Quel est le nombre de nouveaux nés par portée ?

- Nés vivant ()
- nés mort ()
- nés totaux ()

➤ **SAILLIE**

1 – S’agit- il d’une saillie libre ou contrôlée ?.....

2 – Les critères de choix de présentation de la femelle au mâle ?

- Combien est le nombre de femelles qu’un mâle peut saillir par jour ?.....
- Quand présenter la femelle au mâle ? Observez- vous la couleur de la vulve ?

- Violette ()
- rose ()
- blanche ()
- rouge ().
-

- Remarquez vous qu’après la fin de la saillie le male pousse un cri ?.
- Selon la réponse de l’éleveur, il faut discuter à l’éleveur sur la méthode d’accouplement

.....

3- Qu’elle est la meilleure époque pour les accouplements et les naissances ?

- Hiver ()
- été ()
- Automne ()
- printemps ().
-

4- Quand se fait l’accouplement (soir, matin) ?

5- Quelles sont les causes d’éventuels échecs à l’accouplement ?.....

➤ **GESTATION :**

1 – Quelles sont les précautions à prendre avec la femelle gestante :

- boîte à nid
- nid
- litière

2 – Est ce vous améliorez l’alimentation journalière des lapines gestantes en quantité et qualité ?.....

3 – Quel est l’effet de cette amélioration sur les petits (nombre, santé) ?

.....

4 – Quels sont les signes qui vous montrent que la lapine est gestante (la femelle arrache ses poils) ?

.....

5 – La durée de la gestation ?

- 29 jours ()
- 30 jours ()
- 31 jours ()

6 – Comment faites- vous le diagnostic de la gestation : palpation ?

7 – Précisez-vous le jour de la gestation pendant laquelle a été effectuée la palpation ?

8 – Quelles sont les saisons où les mises bas sont fréquentes

F- HYGIENE :

– Vous nettoyez les locaux de vos lapins ?une fois par :

- Semaine ()
- mois ()
- Six mois ()

APPENDICE C

Préparation des coupes histologiques

- **La technique de fixation :**

Après leur prélèvement, les ovaires et les cornes utérines fixés séparément dans une solution de formol à 10%, le volume doit être de 20 à 50 fois celui du prélèvement afin de permettre une bonne pénétration du fixateur à l'intérieur du tissu, et donc d'empêcher une putréfaction du tissu par autolyse et par altération microbienne.

- **La macrotomie**

C'est une opération qui consiste à la réalisation des coupes macroscopiques à partir de l'organe à étudier étant donné que le spécimen est plus ou moins volumineux.

On réalise des coupes longitudinales au niveau des ovaires, ensuite chaque prélèvement est mis dans des cassettes spéciales (cassettes d'inclusion) identifiées et qui sont mises dans le fixateur en attendant les étapes suivantes.

- **la circulation**

Toutes les opérations suivantes seront réalisées par un appareil à circulation automatique



appareil à circulation automatique (Leica).

- **La déshydratation**

C'est la première étape de la circulation proprement dite, elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient dans le but de préparer la pénétration de la paraffine non miscible à l'eau aux différents tissus de la pièce. Elle est réalisée grâce à un appareil à circulation de 12 bains ; 6 bains contenant de l'éthanol à des degrés alcoolométriques progressivement croissants pour éviter la plasmolyse des cellules. On commence la déshydratation dans de l'éthanol à 60% pour augmenter la concentration de 10% jusqu'à l'éthanol absolu. L'éthanol provoque une forte réaction et un durcissement des tissu, il n'est pas miscible à la paraffine : on doit compléter son action à l'aide d'un autre liquide intermédiaire qui est le toluène.

- **L'éclaircissement**

Consiste à remplacer l'éthanol dans le tissu par un solvant de la paraffine tels que le toluène et le xylène qui sont des hydrocarbures benzéniques, leurs indices de réfraction entraînent un net éclaircissement du tissu.

- **L'imprégnation**

C'est l'étape terminale de circulation, l'agent le plus fréquemment utilisé est la paraffine liquide dont le point de fusion est de 60°C. La durée d'imprégnation est d'une heure ceci pour éliminer totalement le toluène, cette opération est renouvelée une deuxième fois, donc il s'agit de deux bains d'une heure de paraffine fondue.

- **L'enrobage (l'inclusion)**

Cette étape se fait à l'aide d'un bac à paraffine
L'enrobage suit la circulation ainsi le milieu dans lequel se fait doit être le même que celui qui imprègne le tissu à la fin de la circulation.



Bac à paraffine à droite, (Leica) ; plaque réfrigérée à gauche.

Le but de cette partie du processus d'inclusion est l'obtention d'une imprégnation aussi complète que possible des pièces, le refroidissement au moment du collage des blocs transformant le tissu hétérogène de point de vue de la consistance et de l'élasticité en une masse homogène dont les différentes parties se composent de façon sensible égale lors de la confection des coupes.

A la fin de la circulation, les cassettes contenant les tissus sont dans le dernier bain de la paraffine, elles portent une identification (organe et heure après le coït).

✓ On retire les cassettes du dernier bain de paraffine et on les place sur la plaque chauffante du bac à paraffine. De cette manière, la paraffine reste liquide et on peut manipuler les tissus facilement.

✓ Enlèvement de couvercle de la cassette, puis on verse la paraffine liquide dans le moule et on y dépose la pièce à inclure à l'aide d'une pièce propre et chauffée.

✓ On oriente le morceau de tissu de manière que la surface de coupe permette de voir simultanément toutes les structures que l'on veut observer.

✓ On place sur le moule une cassette et on laisse la surface de la paraffine figer afin de sceller la cassette au moule.

✓ On remplit l'arrière de l'attache de plastique avec la paraffine liquide.

✓ Le moule est déposé sur la plaque réfrigérée de l'appareil à enrobage (-5°C).

✓ Au bout de 10 à 15 mn le bloc est complètement durci et séparé du moule.

Afin d'avoir une bonne inclusion, il faut prendre certaines précautions qui sont :

✓ Eviter la formation des bulles d'air.

✓ Le refroidissement des blocs enrobant la pièce doit être ni trop lent ni trop rapide.

• **La microtomie**

L'opération s'effectue à l'aide d'un microtome rotatif (Leica RM 2135), une fois le rasoir est fixé on procède à l'installation du bloc pour effectuer un rabotage ou la dégradation jusqu'à l'apparition de toutes les structures permettant ainsi d'obtenir des coupes utiles. Puis on procède à la confection des coupes qui se collent les unes aux autres pour former un ruban.



Microtome (Leica RM 2135).

- **Étalement et collage des coupes**

Les tissus inclus dans la paraffine sont très comprimés dans la coupe, afin d'atténuer cette compression on dépose la coupe dans un bain thermostaté servant à l'étalement des coupes dont la température de l'eau est de 39°C, la paraffine se ramollit brusquement et la coupe sous l'effet de la tension de la vapeur présente à la surface de l'eau se décompresse, ensuite la coupe est repêchée à l'aide d'une lame histologique qui porte la même identification inscrite sur le cassette et sera posée sur la plaque chauffante du bain, séché ensuite dans une étuve à la température de 40°C à 60°C pendant 10 mn.



A : le bain thermostaté, B : l'étuve.

- **La coloration**

On distingue trois temps, il y a d'abord les étapes préparatoires à la coloration puis celles de la coloration proprement dite et enfin les étapes préparatoire au montage. Toutes les étapes de la coloration se font automatiquement par un appareil à coloration



Appareil à coloration automatique (Leica ST 4040).

- **Etape préparatoire à la coloration :**

:

- **Le déparaffinage :**

Il sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer, le réactif le plus utilisé est le xylène, car c'est l'agent éclaircissant qui dissout le mieux la paraffine. Les pièces passent dans deux bains pendant 5 à 7 mn, le xylène du premier bain peut être usagé tandis que celui du second doit être pur.

- **L'hydratation :**

Etant donné que les colorants utilisés sont en solution aqueuse, leur pénétration ne peut être assurée que si les coupes sont imprégnées d'eau. L'hydratation a donc pour objectif de retirer le xylène du tissu et de le remplacer d'eau. L'agent utilisé est l'éthanol à concentration décroissante. Le mode opératoire consiste à commencer par deux bains d'éthanol absolu, suivi de trois bains d'éthanol à 95%, 80% et 70%, on termine par un traitement de 3 à 5 mn à l'eau courante.

- **La coloration proprement dite**

- ✓ Plonger les lames hydratées dans l'hématéine de Harris 30secondes
- ✓ Laver les lames à l'eau de robinet pendant 3 mn.
- ✓ Différencier les coupes dans l'alcool acide 1 à 2 plongées : déposer ensuite les lames dans un bain d'eau et vérifier la différenciation au microscope, les noyaux doivent être rouge et le fond clair.
- ✓ Laver à l'eau.
- ✓ Bleuir dans l'eau ammoniacale.
- ✓ Colorer dans la solution d'éosine pendant 4mn.

- **Les étapes préparatoires au montage**

Le montage s'effectue dans des milieux qui sont habituellement dissous dans l'agent éclaircissant ; mais comme le milieu de montage doit imprégner complètement les tissus pour être efficaces et que celui-ci ait été au préalable par l'agent éclaircissant. On doit procéder successivement à :

- **La déshydratation**

On passe les coupes dans un bain d'éthanol à 70°(30 secondes), 90° (30 secondes) et 100° pendant 2 mn (par agitation dans les 3 bains successifs)

- **L'éclaircissement**

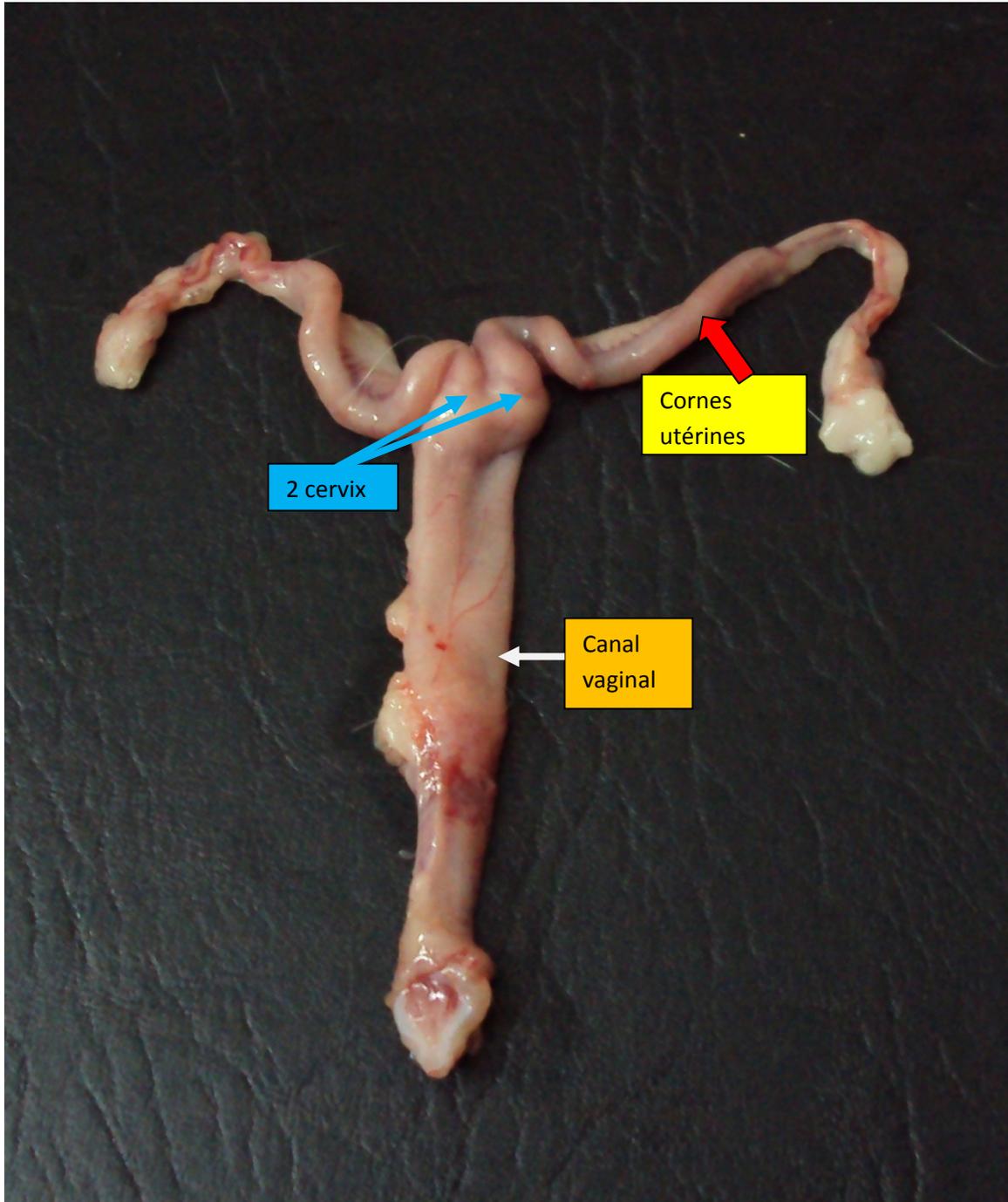
On peut utiliser du xylène ou de toluène. On a recoure à deux bains de 5 mn chacun .

- **Le montage :**

Après le dernier bain de xylène, mettre une goutte d'une résine EUKITT sur une lame couvre objet propre pour couvrir la préparation. Appuyer prudemment sur la lame afin de chasser les bulles d'air.

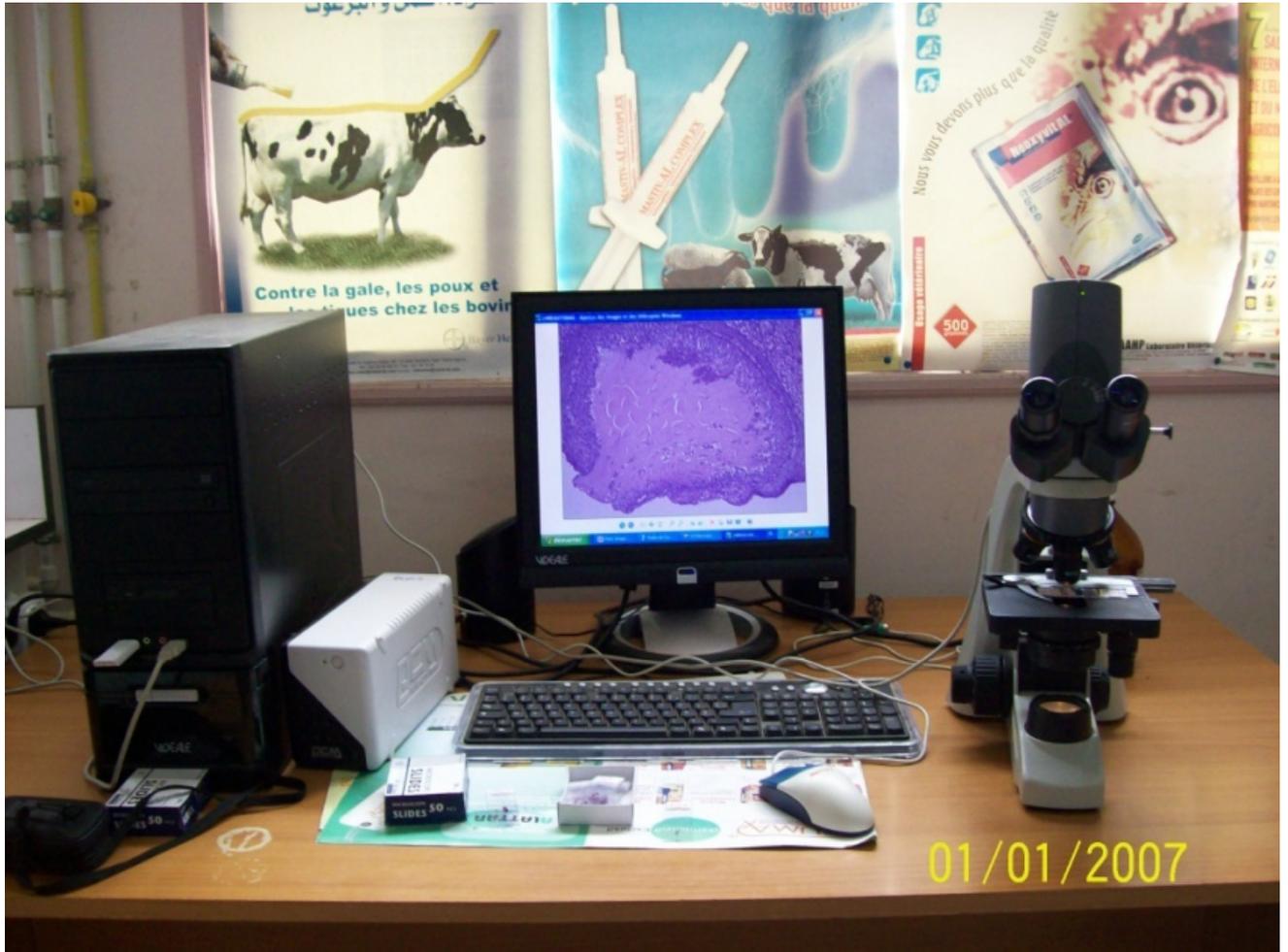
APPENDICE D

Tractus génital de la lapine



APPENDICE E

Microscope optique de type MOTIC BA 200 avec caméra intégrée



IVD

RIA ESTRADIOL

REF

A21854



certified

1. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage radioimmunologique de l'estradiol est un dosage par compétition. Les échantillons et les calibrateurs sont incubés 3 heures (1 heure pour les échantillons de femme sous induction d'ovulation) dans des tubes recouverts d'anticorps avec un traceur estradiol marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

2. REACTIFS FOURNIS

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse.

2.1 Tubes revêtus d'anticorps anti-estradiol : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

2.2 Traceur estradiol marqué à l'iode 125 (55X) : 1 flacon de 1 mL
La solution concentrée doit, avant utilisation, être diluée avec le tampon traceur (voir § 6.1). Le flacon contient 142 kBq, en début de lot, d'estradiol marqué à l'iode 125 dans un tampon ethanol.

2.3 Tampon traceur : 1 flacon de 54 mL
Le tampon contient de l'azide de sodium (< 0,1%; voir § Précautions).

2.4 Calibrateurs : 7 flacons de 1 mL (prêts à l'emploi)
Les flacons de calibrateurs contiennent de 0 à 5000 pg/mL d'estradiol dans du sérum humain et de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

2.5 Sérum de contrôle : 1 flacon de 1 mL (prêt à l'emploi)
Le flacon contient de l'estradiol dans du sérum humain en présence d'azide de sodium (< 0,1 %; voir § Précautions). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur l'étiquette du flacon.

Remarque: Les températures et dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant. Ne pas en tenir compte.

3. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (100 µL).
- pipette semi-automatique (500 µL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

4. PRECAUTIONS

- 4.1 Précautions générales**
- Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.
 - Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
 - Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
 - Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
 - Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
 - Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

- 4.2 Protection contre les rayonnements ionisants**
L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :
- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
 - Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
 - Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
 - Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
 - Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
 - Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.

- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

4.3 Azide de sodium
Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

4.4 Sérum Humain
Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation. Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA. Les déchets doivent être éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

5. PRELEVEMENT, PREPARATION CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif ou des tubes contenant de l'EDTA.
- Séparer le sérum ou le plasma des cellules par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8°C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-18°C) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, il doit être dilué dans le Diluant Estradiol (voir § 12).

6. MODE OPERATOIRE

6.1 Reconstitution du traceur concentré (55 X)
Verser délicatement le contenu du flacon traceur dans le flacon de tampon traceur. Homogénéiser. Le traceur reconstitué peut être conservé à 2-8°C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Avertissement : une fois que le traceur concentré a été ajouté, le contenu du flacon devient radioactif. Il est donc nécessaire de prendre toutes les précautions relatives à la manipulation de matières radioactives (voir § 4.2).

6.2 Mode opératoire (voir tableau page suivante)

7. RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux d'estradiol de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

7.1 Courbe standard
Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé semi-logarithmique pour la gamme standard (mode "spline") avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B₀ (%) et en abscisse les concentrations en estradiol des calibrateurs (pg/mL). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 51851 cpm				
Calibrateurs	Estradiol (pg/mL)	cpm (n= 3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	36327	70.1	100
1	8	30517	58.9	84.0
2	25	27147	52.4	74.7
3	125	19101	36.8	52.6
4	500	10642	20.5	29.3
5	1500	5203	10.0	14.3
6	5000	2749	5.3	7.6

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

APPENDICE G

DILUTION-FACTOR 1.000 LOWER THR. 0.00 UPPER THR. 0.00 pg/ml BOUND

ID #	cpm	cpm	%C.V.	AVG-cpm	DELETED	%B/B0
1	36208.9	36832.0	1.21	36520.4		TC
3	21557.6	20049.0	5.13	20803.3		B0
5	16717.0	16694.7	0.09	16705.8		%B0/TC 57.0
7	14291.8	14229.0	0.31	14260.4		80.30
9	9198.9	9676.3	3.58	9437.6		68.55
11	5701.8	5626.6	0.94	5664.2		45.37
13	3104.5	3054.1	1.16	3079.3		27.23
15	1681.3	1847.5	6.66	1764.4		14.80
						8.48

AUTOMATIC SMOOTHED CUBIC SPLINE

SMOOTHING FACTOR 0.500

STANDARD- RECALC. PERCENT
CONCENTR. CONCENTR. DEVIATION

0.00	OFF CURVE-	
10.00	13.41	34.06
37.00	33.68	-8.97
147.00	148.38	0.94
554.00	512.24	-7.54
1534.00	1693.40	10.39
5365.00	5154.20	-3.93

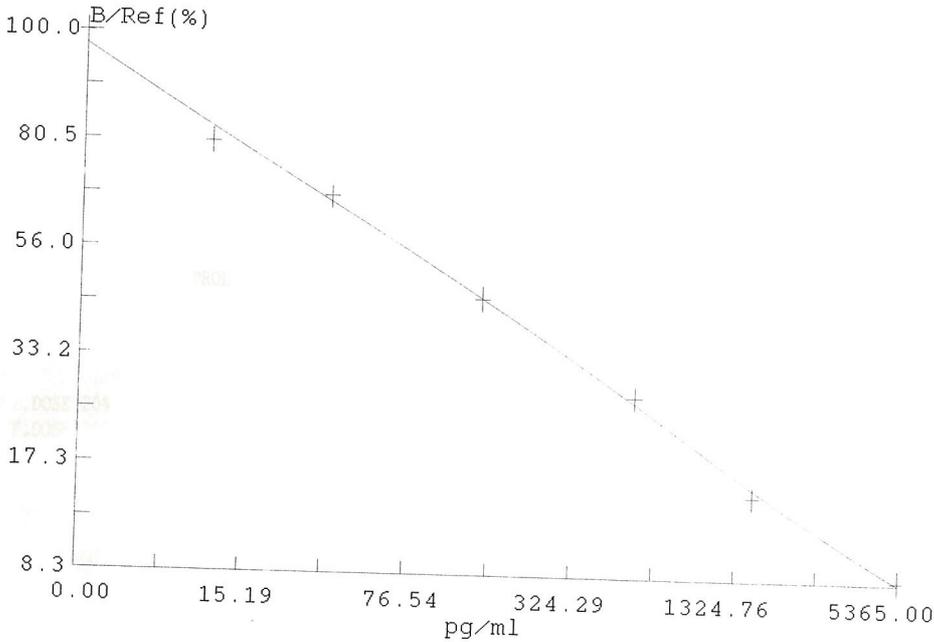
GOODNESS OF FIT 0.1885

ESTIMATED DOSES

20 %B/B0 =^	948.83	pg/ml
50 %B/B0 =^	111.09	pg/ml
80 %B/B0 =^	13.78	pg/ml

MIN. CONC. 0.00 pg/ml =^ 97.94 %B/B0
MAX. CONC. 21460.01 pg/ml =^ 4.11 %B/B0

DET. LIMIT 3.90 pg/ml =^ 90.76 %B/B0



ID #	cpm	%C.V.	%B/B0	CONC.	AVG CONC.	PAT #
17	10881.3		52.31	96.27+	96.27+	
18	10824.4		52.03	97.92+	97.92+	1
19	9914.7		47.66	128.52+	128.52+	2
20	8780.7		42.21	181.29+	181.29+	3
21	9445.2		45.40	148.04+	148.04+	4
22	8878.2		42.68	175.94+	175.94+	5
						6

IVD

RIA PROGESTERONE

REF

IM1188

ISO 9001
13485

certified

TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DE LA PROGESTERONE DANS LE SERUM OU LE PLASMA HUMAIN



1. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage radioimmunologique de la progestérone est un dosage par compétition. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps avec un traceur progestérone marquée à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

2. REACTIFS FOURNIS

Tous les réactifs de la trousses conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousses.

2.1 Tubes revêtus d'anticorps anti-progestérone : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

2.2 Traceur progestérone marquée à l'iode 125 : 1 flacon de 55 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon de 55 mL contient 185 kBq (en début de lot) de progestérone marquée, sous forme liquide en tampon avec des protéines et de l'azide de sodium (<0,1% ; voir § Précautions).

2.3 Calibrateurs : 6 flacons de 0,5 mL (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateurs liquides contiennent des concentrations de progestérone permettant d'établir une gamme d'étalonnage de 0 à 50 ng/mL. Les calibrateurs sont fabriqués dans du serum humain, en présence d'azide de sodium (<0,1% ; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport à la solution de référence BCR 347.

2.4 Sérum de contrôle : 1 flacon de 0,5 mL (prêt à l'emploi)

Le serum de contrôle contient de la progestérone dans du serum humain et de l'azide de sodium (<0,1% voir § Précautions). La fourchette de concentrations attendues en progestérone est indiquée sur l'étiquette du flacon.

Remarque: Les températures et dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons, concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousses. Ne pas en tenir compte.

3. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (50 µL).
- pipette semi-automatique (500 µL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

4. PRECAUTIONS

4.1 Précautions générales

- Equilibrer les réactifs à la température de laboratoire avant utilisation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

4.2 Protection contre les rayonnements ionisants

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont résumées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.

- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

4.3 Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

4.4 Sérum Humain

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousses ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA. Les déchets doivent être éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

5. PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif, des tubes héparinés ou contenant de l'EDTA.
- Séparer le sérum ou le plasma par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8°C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-18°C) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans un échantillon bas en progestérone (sérum d'homme de concentration <0,1 ng/mL).

6. MODE OPERATOIRE (voir tableau page suivante).

7. RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de progestérone de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

7.1 Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé semi-logarithmique pour la gamme standard (mode "spline") avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B0 (%) et en abscisse les concentrations en progestérone des calibrateurs (ng/mL). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 47452 cpm				
Calibrateurs	Progestérone (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B0 (%)
0	0	24570	51,8	100
1	0,12	21234	44,7	86,4
2	0,55	17733	37,4	72,2
3	2,0	10221	21,5	41,6
4	8,7	4802	10,1	19,5
5	49	1529	3,22	6,22

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs).

7.2 Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T (%) ou B/B0 (%) sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en progestérone de l'échantillon. Pour convertir des concentrations de ng/mL en nmol/L, multipliez les résultats par 3,18.

APPENDICE I

DILUTION-FACTOR 1:000 LOWER THR. 0.00 UPPER THR. 0.00 ng/ml BOUND

ID #	cpm	cpm	%C.V.	AVG-cpm	DELETED	%B/B0
1	37493.7	37365.1	0.24	37429.4		TC
3	22590.6	21717.1	2.79	22153.8		B0
5	20037.0	19743.9	1.04	19890.4		%B0/TC 59.2
7	15200.8	15959.2	3.44	15580.0		89.78
9	9319.8	8611.3	5.59	8965.5		70.33
11	4401.8	5020.0	9.28	4710.9		40.47
13	1578.4	1660.6	3.59	1619.5		21.26
						7.31

AUTOMATIC SMOOTHED CUBIC SPLINE

SMOOTHING FACTOR 0.125

STANDARD-CONCENTR.	RECALC. CONCENTR.	PERCENT DEVIATION
0.00	0.00	
0.12	0.12	3.39
0.55	0.51	-7.78
2.00	2.11	5.41
8.70	8.50	-2.36
49.00	49.18	0.37

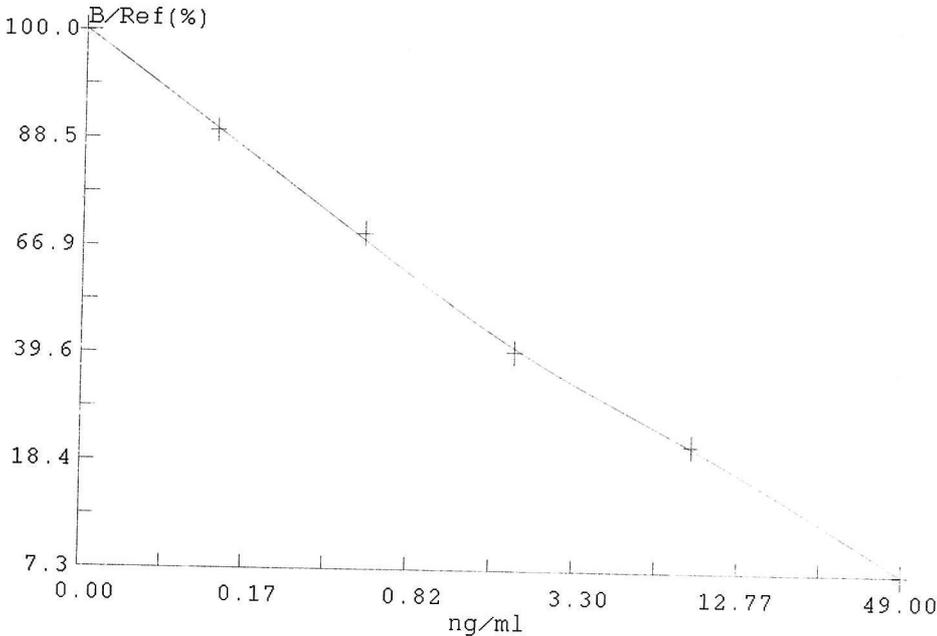
GOODNESS OF FIT 0.0597

ESTIMATED DOSES

20 %B/B0 =^	9.56 ng/ml
50 %B/B0 =^	1.31 ng/ml
80 %B/B0 =^	0.29 ng/ml

MIN. CONC. 0.00 ng/ml =^ 100.00 %B/B0
 MAX. CONC. 196.00 ng/ml =^ 2.81 %B/B0

DET. LIMIT 0.11 ng/ml =^ 90.78 %B/B0



ID #	cpm	%C.V.	%B/B0	CONC.	AVG CONC.	PAT #
15	11535.0		52.07	1.19+	1.19+	1
16	11408.9		51.50	1.22+	1.22+	2
17	8588.4		38.77	2.32+	2.32+	3
18	9444.2		42.63	1.88+	1.88+	4
19	11597.3		52.35	1.18+	1.18+	5
20	8913.5		40.23	2.14+	2.14+	6
21	7009.3		31.64	3.65+	3.65+	7
22	8241.6		37.20	2.54+	2.54+	8