

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche Scientifique

UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA-BEJAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'environnement

Memoire
en vue d'obtention du diplome de
MASTER
en Reproduction et Biotechnologies Animales

Thème

La mise en place de l'insémination artificielle
chez la lapine

Membres du jury:

Président: Mr. RAMDANE Z.
Examineurs: Mme. NATOURI N.
Mr. AYAD H.
Promotrice: Mme. TALBI A.
Co-promoteur: Mr. IGUEROUADA M.

Réalisé par:

MELOUK Souad
NASRI Samra



remerciements



Avant de commencer, nous tenons à remercier le BON DIEU, le tout puissant de nous avoir guidé sur la bonne voie : du savoir et de la lumière.

Nous présentons nos remerciements au professeur IGUEROUADA M., Pour tous ses conseils, Pour les précieuses informations qu'il nous a fournies durant notre formation.

A notre promotrice MADAME TALBI A. qui nous a pris en charge et qui nous a orientées durant la réalisation de ce travail.

Nos adressons nos remerciements aux membres du jury et à tous nos professeurs de la spécialité Reproduction et Biotechnologies Animales.

Nos sincères remerciements au directeur de l'Institut Nationale de la Recherche Agronomique d'Algérie-Béjaïa-Oued-Ghir « Mr TARIKT A.Z. » et à tous l'ensemble du personnel du centre.

Nous ne manquerons pas de remercier particulièrement Mr MANSOURI H.

Nous tenons aussi à remercier également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



Dédicaces



J'exprime mon profond respect et ma sincère gratitude aux êtres qui me sont les plus chers, je leur offre ce modeste travail.

À mes très chers parents envers qui je garderai toujours le souvenir ému de leurs bienveillance à mon égard.

Je n'oublierai jamais leur soutien, leur aide précieuse et leur amour.

À mes chers oncles: SALAH, MAKHLOUF et AISSA qui je n'oublierai jamais leurs soutien et leurs surveillance. Je ne pourrai jamais assez vous remercier.

À mon très chère frère : LAHLOU

À ma sœur HAFIDA avec son chère mari KAMEL et ces deux chères enfants DEDINE et FOUAD

À ma chère sœur YASMINA avec son futur mari RACHID

À tous mes cousins et cousines

À toutes mes amies, surtout à YASMINA

À ZAHIR qui m'a toujours encourager et soutenue dans les moments difficiles

À toute la promotion de 2^{ème} année MASTER, RBA.

Enfin, à mon binôme SAMRA la personne dont j'ai partagée la réalisation de ce travail

SOUAD





Dédicaces



J'exprime mon profond respect et ma sincère gratitude aux êtres qui me sont les plus chers, je leur offre ce modeste travail.

À mes très chers parents envers qui je garderai toujours le souvenir ému de leur bienveillance à mon égard et veillerai sans cesse à me montrer digne.

Pour leur soutien, encouragement et surtout leur patience tout au long de mes études
« QUE DIEU LES PROTEGE ET LES GARDE POUR NOUS »

À mes chers frères : NADJIM, BILLAL, MEROUANE et YUBA

À mes adorables sœurs : SOUAD, LAMIA, SONIA et LYNDIA

À NABIL pour m'avoir soutenue dans les moments difficiles

À toutes mes amies et à ma tante MERJEM.

À toute la promotion de 2^{ème} année MASTER, RBA

Enfin, à mon binôme SOUAD la personne dont j'ai partagée la réalisation de ce travail

SAMIRA



SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Sommaire	1-3
Liste des abréviations	4
Liste des illustrations	5-6
Introduction	7-8
1^{ère} Partie : étude bibliographique	9
I. La physiologie de la reproduction chez les lapins	10
I.1. La reproduction chez le mâle	10
I.1.1. Appareil génitale	10-11
I.1.2. Le développement des gonades et la puberté	11-12
I.1.3. La spermatogenèse	12
I.2. La reproduction chez la femelle	12
I.2.1. Appareil génitale	12-13
I.2.2. La folliculogenèse	13-14
I.2.3. La puberté	14
I.2.4. Le cycle sexuel de la lapine	14
I.2.5. La régulation hormonale de l'ovulation	15-16
I.2.6. La gestation et la Mise bas	16
II. Facteurs de réussite de l'IA et méthodes d'induction de la réceptivité chez la lapine	17
II.1. Facteurs de réussite de l'IA chez la lapine	17
II.1.1. Facteurs influençant la production et la qualité du sperme	17
II.1.1.1. L'âge	17
II.1.1.2. La fréquence des collectes	17
II.1.1.3. L'alimentation	17
II.1.1.4. La température	18
II.1.1.5. La photopériode	18
II.1.1.6. L'état sanitaire	18
II.1.2. Facteurs de réussite de l'insémination artificielle liée à la femelle	18
II.1.2.1. La parité	18
II.1.2.2. La réceptivité sexuelle	18
II.1.2.3. L'état d'allaitement au moment de l'insémination artificielle	19
II.2. Méthodes d'induction de la réceptivité chez la lapine	19
II.2.1. Pregant Mare Serum Gonadotropin (PMSG)	19-20
II.2.2. Séparation de la mère et sa portée	20
II.2.3. La proximité des mâles	20
II.2.4. La photopériode	20

III: Insémination artificielle chez la lapine	21
III.1. Définition et principe	21
III.2. Historique de l'IA	21
III.3. Les étapes de l'insémination artificielle	22
III.3.1. Récolte du sperme	22
1. Le vagin artificiel	22
2. Technique de récolte	22-23
III.3.2. Analyse de la semence	23
III.3.2.1. Examen macroscopique	23
a. Volume	23
b. Couleur	23
c. Viscosité ou consistance	23
d. PH	23
III.3.2.2. Examen microscopique	24
a. La motilité massale	24
b. La motilité individuelle	24
c. La concentration	24
d. La morphologie	25-26
e. La vitalité	26
III.3.3. Induction de l'ovulation	26
III.3.3.1. Méthodes hormonales	26
III.3.3.1.1. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH)	26-27
III.3.3.1.2. Human Chorionic Gonadotropin (hCG)	27
III.3.3.2. Mâle vasectomisé	27
III.3.3.3. Stimulation mécanique	27
III.3.4. Insémination Artificielle au sens strict	28
III.3.4.1. Caractéristiques de la semence du lapin	28
III.3.4.2. Fécondation	28-29
III.3.4.3. Diagnostic de réussite de l'insémination	29-30
III.4. Intérêts de l'insémination artificielle	30
III.4.1. Avantage économique	30
III.4.2. Avantage génétique	30
III.4.3. Avantage sanitaire	30

2^{ème} Partie: Etude expérimentale	31
I. Objectif de l'étude	32
II. Description de la zone d'étude	32
III. Matériel et méthodes	33
III.1. Collecte de la semence du lapin	33
III.1.1. Matériel de la collecte	33-34
III.1.2. Méthodes de la collecte	34-35
III.2. Analyse du sperme	35
III.2.1. Matériel	35
III.2.2. Méthode d'analyse	36-37
III.3. Choix des reproducteurs	38
III.3.1. Matériel	38
III.3.2. Méthodes	38-39
III.4. Insémination artificielle	40
III.4.1. Matériel de l'IA	40
III.4.2. Méthode de l'IA chez la lapine	40-41
IV. Résultats et Discussion	42
IV.1. Analyse des semences	42
IV.1. Analyse des semences des quatre lapins étudiés	42
IV.1.1. Analyse macroscopique	42-43
IV.1.1. Analyse microscopique	43-46
IV.2. Analyse d'hétérosperme utilisé en insémination artificielle	46
IV.3. Insémination artificielle	47
a. Les femelles réceptives	47
b. Les femelles non réceptives	47-48
Conclusion et perspectives	49
Références bibliographique	
Annexes	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

abréviations	
ha	hectare
Cal	Californien
h	heure
C	Concentration
hCG	human Chorionic Gonadotropin
F	Femelle
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
g	gramme
IA	Insémination Artificielle
I.N.R.A.A	Institut National de la Recherche Agronomique Algérie
i.m.	intramusculaire
i.v.	intraveineuse
kg	kilogramme
LH	Luteinising Hormone
M	Mâle
mg	milligramme
ml	millilitre
mm	millimètre
MM	Mobilité Massale
MI	Mobilité Individuelle
NZ	Néo-Zélandais
p.c	post coït
PMSG	Pregnant Mare Serum Gonadotropin
PU	Pregnant Urine
RA	Réaction acrosomique
SAT	Surface Agricole Totale
SAU	Surface Agricole Utile
Spz	Spermatozoïdes
Spz/ml	Spermatozoïdes/ millilitre
UI	Unité Injection
VA	Vagin Artificiel
V	Volume
°C	degré celcius
µl	microlitre
µg	microgramme
%	pourcentage

LISTE DES FIGURES

N°	TITRE	PAGE
1	Appareil génital mâle.	11
2	Appareil génital de la lapine.	13
3	Schématisation du déroulement de la folliculogenèse chez la lapine.	14
4	La régulation hormonale de l'ovulation chez la lapine.	15
5	Evolution des sécrétions de FSH et LH suite à l'accouplement.	16
6	Evolution du taux de la réceptivité pendant la lactation.	19
7	Les éléments du vagin artificiel.	22
8	Images des techniques de récolte du sperme chez le lapin.	23
9	Spermatozoïde du lapin.	25
10	Anomalies majeurs et mineurs des spermatozoïdes.	25
11	Le déroulement de l'IA de la lapine par un seul opérateur.	28
12	Le déroulement de l'IA de la lapine par deux opérateurs.	28
13	Du coït à l'implantation du blastocyte.	29
14	Evolution du taux de progestérone au cours de la gestation chez la lapine.	29
15	Image de l'intérieur du clapier, les cages rouges sont des mâles et les cages marantes sont des femelles.	33
16	Image de l'extérieur du clapier du centre d'INRA de Oued-Ghir.	33
17	Les différents constituants du vagin artificielle.	34
18	Les différentes procédures de la préparation du vagin artificielle.	34
19	Récolte du sperme du lapin.	35
20	Matériel de l'analyse du sperme.	35
21	Images des deux mâles reproducteurs choisis.	38
22	Lapine réceptive avec coloration rouge de la vulve	39
23	Lapine non réceptive avec coloration blanche pâle de la vulve	39
24	Matériel de l'IA de la lapine.	40
25	Insémination artificielle d'une lapine non réceptive.	40
26	Insémination artificielle d'une lapine réceptive.	41
27	La concentration en spermatozoïdes par ml en fonction de l'âge des lapins étudiés.	44
28	Tracé en bâtonnets des malformations des spermatozoïdes des quatre mâles étudiés.	45

LISTE DES TABLEAUX

N°	TITRE	PAGE
I	Les caractéristiques des mâles reproducteurs étudiés.	33
II	Caractéristiques des lapines reproductrices utilisées.	39
III	Insémination artificielle chez les deux groupes de lapines.	41
IV	Caractéristiques macroscopiques du sperme des lapins étudiés.	42
V	Caractéristiques microscopiques du sperme des lapins étudiés.	43
VI	Caractéristiques morphologiques du sperme des lapins étudiés.	45
VII	Les résultats de l'analyse d'hétersperme.	46
VIII	Résultats d'insémination artificielle chez les deux groupes.	47

Introduction

L'Insémination Artificielle (IA) est une technique de fécondation sans accouplement naturel, elle demeure la plus ancienne et la plus utilisée des biotechnologies de la reproduction. Elle est utilisée pour la première fois par les arabes en 1322. Cette technique a permis la mise en place d'un nouveau système de production "la conduite en bande" et une meilleure organisation des élevages. La généralisation de cette technique dans les élevages cynicoles a été débutée dans les années 1990, à la suite des problèmes cruciaux de sous alimentation et de l'insuffisance en protéines animales [THEAU, 2005].

Les récentes avancées réalisées en domaine de la reproduction de la lapine dont l'ovulation est provoquée par l'accouplement lui ouvrent de grandes perspectives d'utilisation dans le domaine de la recherche scientifique [JOLY et THEAU, 2000]. La stimulation naturelle de l'ovulation chez cette espèce est remplacée en IA par l'administration des hormones exogènes qui permettent d'aboutir au pic de LH telles que la GnRH ou ses analogues synthétiques. Mais afin de répondre à la demande des consommateurs qui exigent une viande du lapin, naturelle et saine, des méthodes alternatives comme la simulation mécanique du vagin sont recherchées pour remplacer ces méthodes hormonales.

Le développement de l'insémination artificielle et de la conduite en bandes dans les élevages cynicoles permet de réduire les risques sanitaires liés aux saillies naturelles, de diminuer le nombre de mâles utilisés en reproduction et de les valoriser en production des protéines de haute qualité. En effet le lapin est considéré comme la seule espèce animale qui donne le plus de viande en peu de temps (1,3 kg de carcasse en 4 mois seulement) et à moindre coût, on utilisant que le fourrage fourni et les résidus alimentaires n'ayant aucune valeur immédiate pour l'homme [DJAGO et KPODEKON, 2007]. En Algérie, la production en viande du lapin reste toutefois modeste comparée à d'autres; elle produit annuellement 5000 à 19000 tonnes [LEBAS et al, 1996].

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail que nous avons réalisé au niveau de l'INRAA de Oued-Ghir (Béjaïa). Notre étude comporte deux parties :

- Une partie bibliographique en 3 chapitres: le 1^{er} sur la physiologie de la reproduction chez les lapins, le 2^{ème} présente les facteurs de réussite de l'IA et méthodes d'induction de la réceptivité chez la lapine et dans le 3^{ème} chapitre nous avons développé la technique de l'insémination artificielle chez cette espèce.

- Une partie expérimentale dans laquelle nous nous sommes intéressé à la récolte du sperme de lapins et son analyse afin de choisir les meilleurs reproducteurs, ainsi qu'à l'application de l'insémination artificielle chez des lapine tout en induisant l'ovulation par la GnRH et par une stimulation mécanique du vagin.

1^{ière} Partie

Étude bibliographique

I. La physiologie de la reproduction chez les lapins

Le lapin est un mammifère herbivore monogastrique, appartenant à l'ordre des Lagomorphes (famille des Léporidés) [GIDENNE et LEBAS, 2005]. Il est décrit comme un animal anxieux, timide, doté de particularités au niveau de la digestion (la cæcotrophie) et de la reproduction [MORISSE, 1994].

I.1. La reproduction chez le mâle

Le cycle de vie du mâle est assez simple. L'âge propice pour le premier accouplement dépend de la race et du développement corporel: 4 à 5 mois pour les races moyennes qui ont un poids de 3 à 5 kg (exemples : le Néo-Zélandais blanc et le Californien), 9 à 12 mois pour les races lourdes qui ont un poids de 5 à 9 kg (exemples : le Bélier Français et le Géant des Flandres). Une bonne reproduction dépend de la chaleur, du stress, de l'âge du mâle et de la nourriture [SCHIERE, 2004].

I.1.1. Appareil génital (figure 1)

L'appareil reproducteur du mâle est très similaire à celui des autres mammifères [VAN, 2003-2012]. Il se compose essentiellement des testicules qui peuvent être rétractés dans l'abdomen, du pénis, des glandes et des conduits qui s'y rattachent [SOPHIE, 2008] :

-Les testicules : Ils assurent une double fonction, une fonction exocrine qui est la production des spermatozoïdes dans les tubes séminifères et une fonction endocrine qui est la production de la testostérone par les cellules de Leydig [PERRET, 2004].

Les testicules du lapin sont des organes pairs, de forme ovoïde dont les dimensions moyennes sont environ 35 x 15 mm, contenus dans des sacs scrotaux en communication avec la cavité abdominale par un large canal inguinale, ils descendent avec la maturité sexuelle du mâle [LEBAS et al, 1996].

-Le pénis : C'est l'organe mâle de la copulation [PAREZ et al, 1987], il est court, en forme de tube légèrement en pointe terminé par un petit orifice rond [SOPHIE, 2008]. Le prépuce s'ouvre juste ventralement à l'anus et il ne s'extériorise de l'organisme qu'en cas d'érection [SABBAGH, 1983].

-Les glandes annexes : Elles sont nombreuses, on peut distinguer :

- Une vésicule séminale impaire bilobée à son extrémité antérieure. Sa partie caudale fusionne avec les canaux déférents pour former un canal éjaculateur impair qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre au niveau du colliculus seminalis.

- Une glande vésiculaire située dorsalement à la vésicule séminale et à la portion antérieure de l'urètre. Elle possède 2 canaux excréteurs qui s'ouvrent latéralement au colliculus séminalis.
- Une glande prostatique avec 2 lobes distincts: un lobe antérieur et un lobe postérieur, en position dorsale de l'urètre. Elle possède 4 à 6 canaux qui s'ouvrent sur les parois du colliculus séminalis.
- Une glande de Cowper bilobée, postérieure à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par au moins 4 canaux [SABBAGH, 1983].

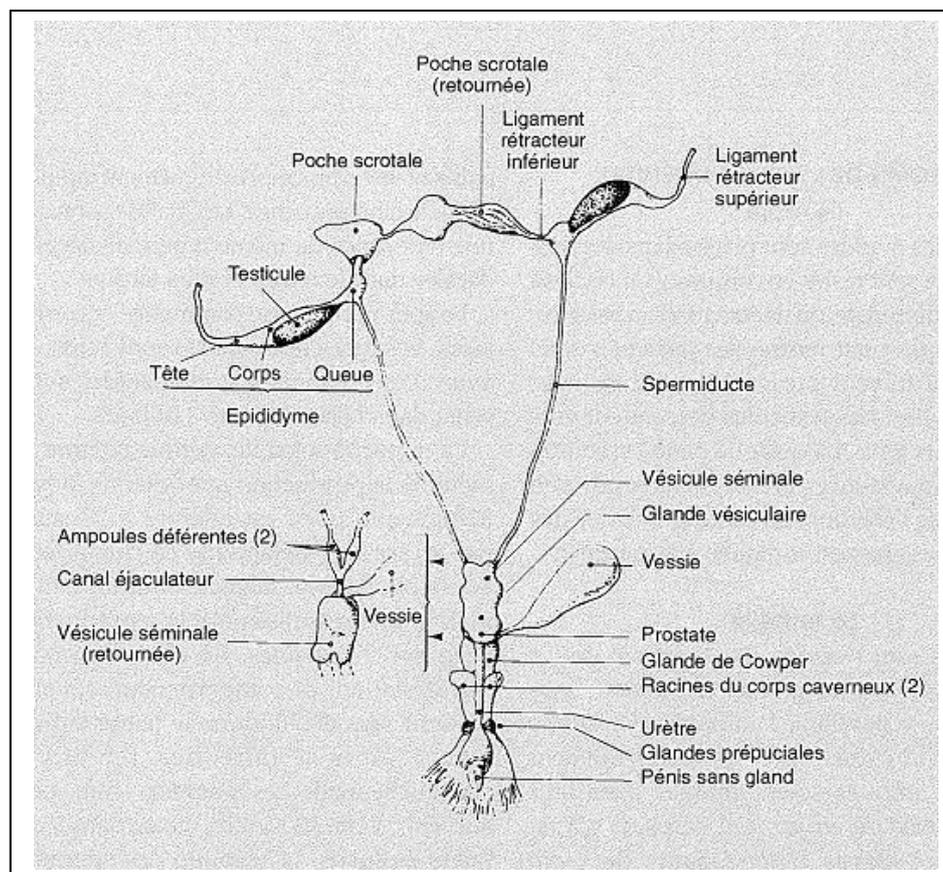


Figure1 : Appareil génital mâle [LEBAS et al, 1996].

I.1.2. Le développement des gonades et la puberté

La différenciation des gonades commence le 16^{ème} jour qui suit la fécondation. À la naissance les testicules sont dans la cavité abdominale, ils se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de cinq semaines. Ce n'est que lors de l'établissement de la puberté qu'ils migrent en direction des sacs scrotaux desquels ils peuvent remonter en position abdominale lors de combats avec d'autres mâles ou sous l'effet de la frayeur [LEBAS et al, 1996].

La puberté chez le mâle est définie comme le stade dans lequel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte, elle apparaît chez les lapins de races légères le plus souvent vers l'âge de 3 à 5 mois et chez les races de grande taille plus tardivement, vers 5 à 8 mois [SABBAGH, 1983].

I.1.3. La spermatogenèse

La spermatogenèse est le processus de division et de différenciation cellulaire par laquelle les spermatozoïdes sont produits à partir des spermatogonies situées dans les tubes séminifères des testicules [SOLTNER, 1989]. Chez le lapin la spermatogenèse commence à l'âge d'un mois à deux mois, elle dure environ 7 à 8 semaines et les premiers spermatozoïdes sont présents dans l'éjaculat vers l'âge de 3 mois [LEBAS et al, 1996].

I.2. La reproduction chez la femelle

La lapine est une espèce polytoque dont l'ovulation est provoquée par l'accouplement, sa fonction de la reproduction englobe différents processus: du développement folliculaire à l'ovulation, de la fécondation à l'embryogenèse, de l'implantation à la mise bas et la lactation. [THEAU, 2005].

I.2.1. Appareil génital (Figure 2)

L'appareil reproducteur de la lapine est constitué de deux ovaires, deux oviductes, deux utéri, deux conduits cervicaux, un vagin et une vulve [MACHET, 2006]:

- **Les ovaires** : Sont de formes ovoïdes (1 à 1,5 cm de longueur), localisés dans la partie dorsale et postérieure de l'abdomen [SABBAGH, 1983]. Ils produisent des cellules germinales (ovocytes) ainsi que les hormones sexuelles femelles (exemple : les œstrogènes) [MACHET, 2006].

- **Oviductes** : Chaque oviducte est constitué d'un pavillon, d'une ampoule et d'un isthme, il permet la connexion entre l'ovaire et l'utérus [MACHET, 2006].

- **Utérus** : Contrairement à beaucoup d'autres espèces de mammifères, la lapine possède un double utérus indépendants de 6 à 12 cm de long et de 2 à 7 mm de large, s'ouvrant séparément par deux conduits cervicaux dans le vagin [VAN, 2005; LEBAS et al, 1996].

- **Le vagin** : C'est un canal musculaire droit formé d'un épithélium squameux stratifié et contenant un grand nombre de glandes muqueuses. La partie terminale du vagin constitue le vestibule vaginal, lieu où s'ouvre l'urètre [MACHET, 2006].

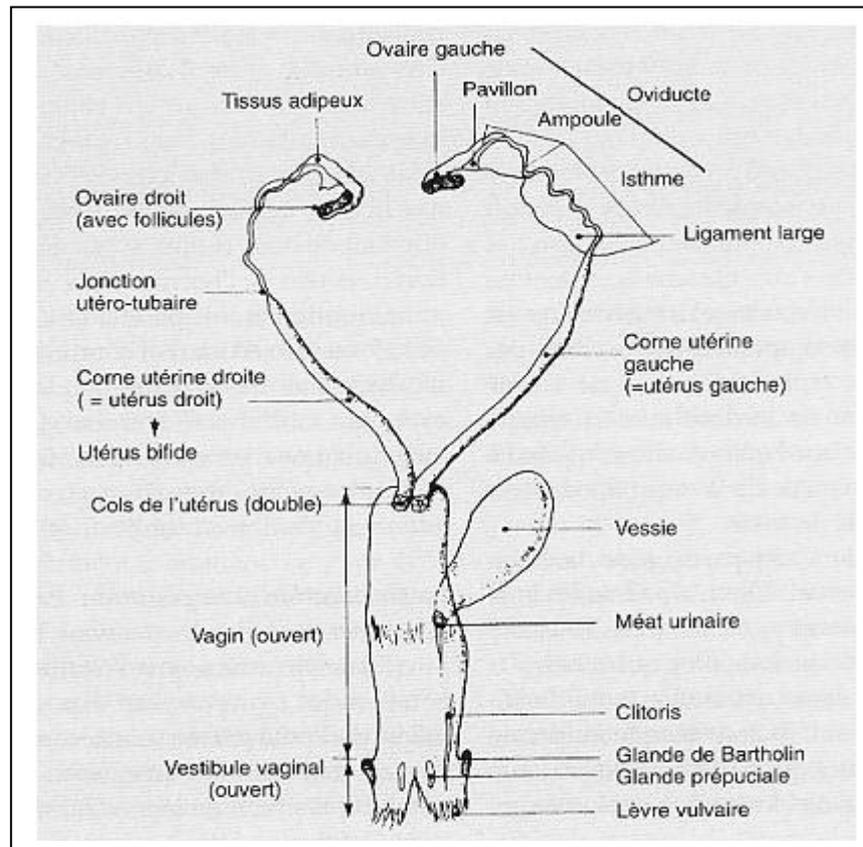


Figure 2 : Appareil génital de la lapine [LEBAS et al, 1996].

I.2.2. La folliculogénèse (Figure 3)

La folliculogénèse est un processus continu, initié à partir de la réserve de follicules primordiaux jusqu'à l'ovulation ou l'atresie des follicules en croissance. Elle se déroule en deux phases : Première phase où le développement des follicules est lent, dont les follicules passent de 100 à 200 μm en 76 jours et une deuxième phase au cours de laquelle la croissance s'accélère lorsque les follicules se creusent d'une cavité antrale pour arriver au stade pré-ovulatoire (durée de 21 jours).

En absence de stimuli (coït ou stimulation hormonale), les follicules pré-ovulatoires se maintiennent de 3 à 6 jours entraînant l'atresie de tout follicule en croissance atteignant un diamètre de 700 μm .

Concernant la reprise des cycles folliculaires après la mise bas, le 1^{er} cycle folliculaire débute pendant la phase finale de la gestation, parallèlement à la chute des taux de progestérone [SALVETTI, 2008].

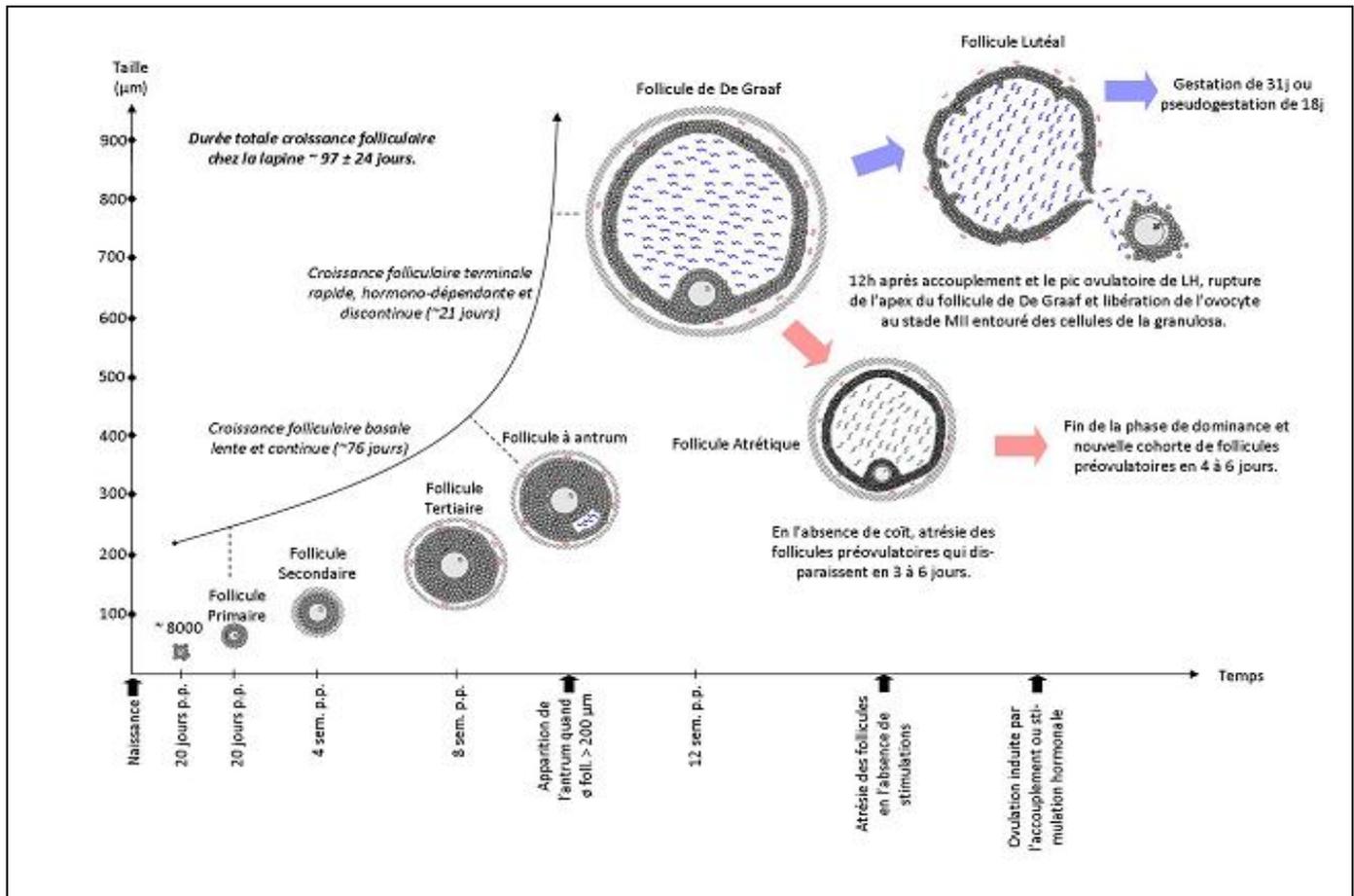


Figure 3: Schématisation du déroulement de la folliculogénèse chez la lapine [SALVETTI, 2008].

1.2.3. La puberté

La puberté correspond au moment où la lapine est capable d'ovuler et de conduire une gestation. Elle survient généralement quand la lapine atteint les deux tiers de son poids adulte. [GOUDJO, 2010].

1.2.4. Le cycle sexuel de la lapine

La lapine ne présente pas un cycle œstral, On parle plutôt de période de réceptivité ou de non réceptivité [GOUDJO, 2010]. Elle est dite réceptive ou en période d'œstrus lorsqu'elle manifeste un comportement d'acceptation de l'accouplement. Au contraire, si la lapine refuse l'accouplement elle est dite non réceptive ou en période de dioestrus [SALVETTI, 2008].

La réceptivité chez la lapine est caractérisée par la coloration rouge de la vulve [MACHET, 2006] et par un comportement non habituel (elle remue plus que d'habitude, gratte au grillage de sa cage, frotte le nez contre le râtelier) [SCHIERE, 2004].

I.2.5. La régulation hormonale de l'ovulation (figure 4)

Dans les conditions naturelles, l'ovulation chez la lapine est provoquée par le coït [SABBAGH, 1983] qui agit comme un stimulus entraînant une cascade neuroendocrine aboutissant à la stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique [SALVETTI, 2008]. Ce réflexe ovulatoire fait intervenir deux voies, une voie nerveuse qui transmet au système nerveux central les stimuli associés au coït (lumière, la vue, l'odorat) et une voie hormonale qui permet l'achèvement de la maturation ovocytaire et l'ovulation [MACHET, 2006].

La sécrétion pulsatile de la Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) dans le système sanguin stimule la sécrétion de Luteinising Hormone (LH) et de Follicle Stimulating Hormone (FSH) par l'hypophyse antérieure. Ces deux hormones ont un rôle dans la maturation folliculaire (FSH) et dans l'ovulation (LH) [MACHET, 2006]. La LH stimule également le tissu ovarien qui sécrète alors de la progestérone [GOUDJO, 2010].

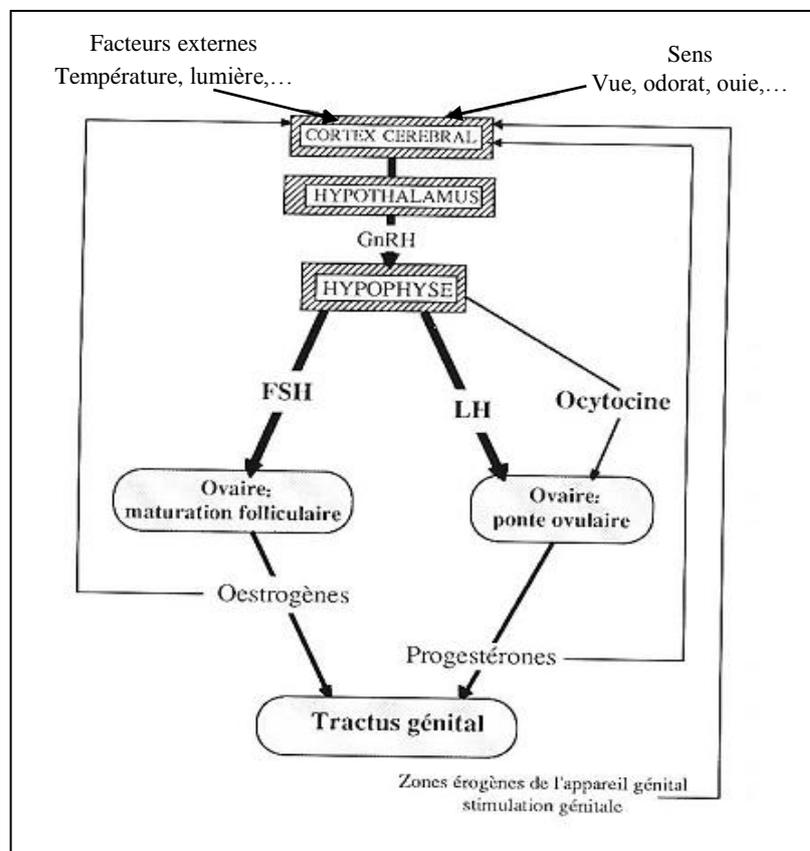


Figure 4: La régulation hormonale de l'ovulation chez la lapine [MACHET, 2006].

Le taux de LH circulant augmente dans les 10 minutes suivant la stimulation, il atteint son pic 90 minutes à 2 heures plus tard, puis retrouve son niveau basal 5 à 6 heures après le coït. L'ovulation est induite 10 heures après le pic du LH [MACHET, 2006] (Figure 5).

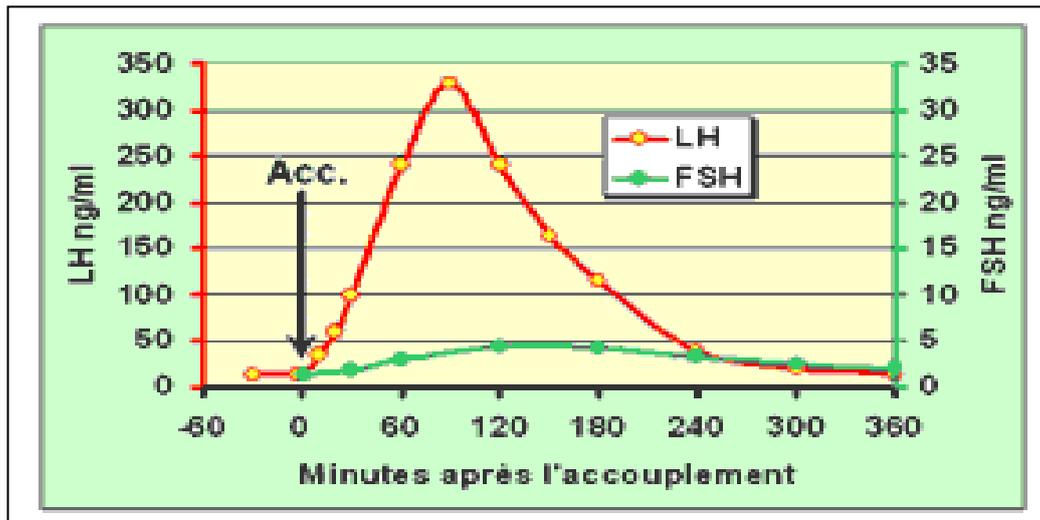


Figure 5: Evolution des sécrétions de FSH et LH suite à l'accouplement [LEBAS, 2011].

Hors accouplement, le niveau de sécrétion des hormones folliculo-stimulantes est relativement stable au cours du temps malgré la présence de follicules pré-ovulatoires sécrétant de l'œstradiol. Cette particularité physiologique de la lapine est totalement différente des processus existants chez les autres mammifères domestiques où la sécrétion d'œstrogènes par les follicules dominants entraîne, à partir d'un certain seuil, un feedback positif sur la sécrétion de LH, entraînant le pic pré-ovulatoire et l'ovulation.

L'absence d'ovulation spontanée chez la lapine serait ainsi principalement due à la déficience du rétrocontrôle positif des œstrogènes et donc à une difficulté à provoquer le pic de LH [SALVETTI, 2008].

I.2.6. La gestation et la mise bas

Deux semaines environ après la saillie, la lapine présente des comportements particuliers (elle devient calme, mange moins et s'installe de façon que son abdomen repose confortablement sur le sol) [SCHIERE, 2004] et dans les derniers jours qui précèdent la mise bas elle commence à préparer un nid à l'aide de litière de paille, de foin, ainsi que de poils qu'elle s'arrache du ventre. Il semblerait que ce comportement permettrait également de dégager les mamelles pour faciliter leurs accès aux jeunes [MACHET, 2006]. Après une durée de gestation de 29 à 35 jours, la lapine mis bas. Cet événement dure 10 à 20 minutes indépendamment de la taille de la portée qui peut varier de 1 à 15 lapereaux [DJAGO et KPODEKON, 2007].

II. Facteurs de réussite de l'insémination artificielle et méthodes d'induction de la réceptivité chez la lapine

II.1. Facteurs de réussite de l'IA chez la lapine

Puisque les deux sexes interviennent dans les différentes étapes de la reproduction, la réussite de l'insémination artificielle est dépendante de plusieurs facteurs [INGRID, 2008].

II.1.1. Facteurs influençant la production et la qualité du sperme

Dans le cadre de l'IA, un éjaculat d'un seul lapin peut inséminer 20 à 25 lapines [LAVARA et al, 2005], C'est pour cela que la fécondance des mâles constitue un point critique dans la réussite de cette technique [INGRID, 2008]. Différents facteurs tels que la fréquence de collecte, les programmes d'éclairages, l'âge, la santé ainsi que les stratégies d'alimentation peuvent influencer la production et la qualité de la semence [BOITI, 2005].

II.1.1.1. L'âge

L'âge des mâles influence significativement la concentration et le nombre des spermatozoïdes motiles obtenus par éjaculat. En effet les mâles adultes de 9 à 12 mois ont une semence de concentration et un nombre de spermatozoïdes motiles plus élevé que celle des mâles jeunes de 4 à 5 mois [THEAU et al, 2009].

II.1.1.2. La fréquence des collectes

Les caractéristiques biologiques de la semence, le nombre des femelles inséminées par éjaculat et les performances de reproduction du lapin sont influencées par la fréquence des collectes. En principe deux éjaculats de collecte une fois par semaine avec un intervalle d'au moins 15 minutes permettent la meilleure production du sperme [CASTELLINI, 2008]. Un rythme de collecte trop intense augmente le nombre des spermatozoïdes immatures et diminue les résultats de fertilité [JOLY et THEAU, 2000].

II.1.1.3. L'alimentation

Le système alimentaire des mâles affecte les caractéristiques de la semence lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant [JOLY et THEAU, 2000].

II.1.1.4. La température

La température a un grand effet sur le déroulement de la spermatogenèse, une température élevée (> 30°C) affecte la qualité du sperme, la concentration et le volume des éjaculats [JOLY et THEAU, 2000]. Les éleveurs doivent prendre la précaution de protéger leurs lapins des fortes chaleurs: éviter l'insolation directe, abriter les cages par un toit isolant et non par une simple tôle ondulée en métal qui transmet trop la chaleur [LEBAS et al, 1996].

II.1.1.5. La photopériode

La spermatogenèse du lapin est affectée par la photopériode, en effet la quantité des spermatozoïdes présents dans les gonades des mâles soumis à un éclairage artificiel 8 heures sur 24 heures est significativement plus importante que celle des mâles soumis à un éclairage de 16 heures sur 24 heures [LEBAS et al, 1996].

II.1.1.6. L'état sanitaire

Il a été largement vérifié que l'inflammation de l'appareil reproducteur masculin altère les fonctions testiculaires et séminales [BOITI, 2005]. Une forte concentration de leucocytes provoquée par une inflammation ou une infection peut altérer la spermatogenèse [CASTELLINI, 2008].

II.1.2. Facteurs de réussite de l'IA liés à la femelle

II.1.2.1. La parité

La parité est un facteur très important dans la réussite de l'insémination artificielle, généralement les lapines multipares ont des niveaux élevés de fertilité et de taille de portée (78,6% et 11,2 nés vivants). Par contre les femelles nullipares se caractérisent par une fertilité supérieure à 85% et une prolificité plus modeste (8,8 nés vivants) que les femelles primipares inséminées pendant leurs premières lactation dont la fertilité est inférieure à 70% mais la taille de portée est supérieure [THEAU, 2008].

II.1.2.2. La réceptivité sexuelle

L'état de la réceptivité de la lapine est déterminé par l'observation de son comportement en présence d'un mâle (l'adoption d'une position de lordose) ou par l'observation de la couleur et de la turgescence de la vulve [SALVETTI, 2008]. Une lapine réceptive se caractérise par la présence d'un grand nombre de follicules pré-ovulatoires sur l'ovaire, d'une concentration plus élevée d'œstrogènes plasmatiques et d'une prolificité plus élevée à la naissance qu'une lapine non réceptive [THEAU, 2005].

II.1.2.3. L'état d'allaitement au moment de l'insémination artificielle

L'état d'allaitement de la lapine est un facteur important à vérifier au moment de l'IA car la lactation déprime la réceptivité et les performances de reproduction des lapines [THEAU, 2007].

Dans les heures qui suivent la mise bas la réceptivité est maximal (100%), ceci peut être expliqué par l'inversion du rapport œstrogène / progestérone. Le 4^{ème} jour après la mise bas le taux de la réceptivité atteint son minimum (40-65 %), puis augmente progressivement jusqu'au 12^{ème} -14^{ème} jour de lactation pour retourner à son niveau initial après le sevrage [FORTUN et BOLET, 1995] (figure6).

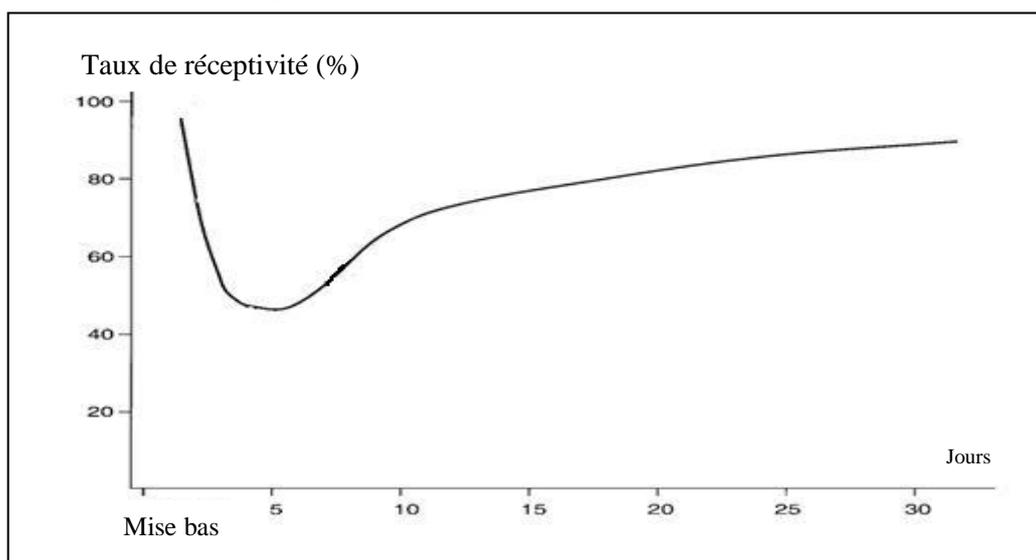


Figure 6: Evolution du taux de la réceptivité pendant la lactation [FORTUN et BOLET, 1995].

II.2. Méthodes d'induction de la réceptivité chez la lapine

La réceptivité d'une lapine est évaluée par l'observation de la couleur de sa vulve et de son comportement en présence du mâle. Ces dernières années plusieurs méthodes sont utilisées pour induire et synchroniser le comportement d'œstrus chez la lapine de manière à augmenter et homogénéiser les performances de reproduction dans les élevages cynicoles [THEAU, 2005 ; SALVETTI, 2008].

II.2.1. Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (PMSG)

PMSG est une hormone utilisée depuis une quinzaine d'année par des éleveurs de lapin; qui ont fait le choix de conduire leurs troupeaux en IA avec un système de conduite en bande [THEAU et al, 1998]. Cette hormone est une glycoprotéine dimérique à double activité FSH et LH, extraite du sérum de jument gravide de poids moléculaire estimé entre 45 à 64 Kd [CASTELLINI, 1996]. Une administration sous-cutanée ou intramusculaire (i.m) de PMSG 48

heures avant l'IA (de 10 à 40 UI) à des lapines permet d'améliorer leurs réceptivités [PIOTR, 2009] en stimulant la croissance folliculaires, et donc la production des œstrogènes [FORTUN et BOLET, 1995].

II.2.2. Séparation de la mère et sa portée

Une séparation courte de 36 à 48 heures entre la mère et ses lapereaux pourrait être une alternative intéressante aux traitements hormonaux pour induire la réceptivité sexuelle des lapines [THEAU, 2005].

Au niveau physiologique, l'absence d'allaitement diminue la sécrétion de la prolactine [KOUTINHOIN et al, 2009], qui est suivit par la stimulation de la croissance folliculaire (la stéroïdogenèse) et de l'amélioration de la réceptivité sexuelle et de la fertilité [THEAU, 2005].

II.2.3. La proximité des mâles

Dans différentes situations physiologiques, l'équilibre hormonal et le comportement est influencé par la présence du mâle [JOLY et THEAU, 2000]. Chez la lapine, la présence de mâles contribue à l'augmentation du taux d'acceptation de l'accouplement et de l'amélioration de la fertilité [THEAU, 2007].

II.2.4. La photopériode

L'activité sexuelle de la lapine est liée à la durée de la lumière du jour. La valeur critique de la photopériode est de 12 heures. Lorsque le cycle lumière /obscurité passe de 12h/12h à 11h /13h, l'activité génitale décline. Ce phénomène est expliqué par l'intervention de l'épiphyse qui permet de convertir le signal photopériodique en signal endocrinien. Lorsque la durée de lumière régresse, les décharges de mélatonine par l'épiphyse augmentent, entraînant une diminution de la synthèse de la GnRH [MACHET, 2006]. La modification du programme d'éclairage est une voie potentielle pour créer un stress favorable à l'activité sexuelle des lapines, cette méthode consiste à réduire la durée de l'éclairage, puis à l'augmenter brusquement (passage de 8 à 16 heures par jour) quelques jours avant l'IA [JOLY et THEAU, 2000].

III. Insémination artificielle chez la lapine

L'insémination artificielle est une technique qui conduit à induire une gestation chez certaines femelles qui en saillie naturelle auraient refusé l'accouplement. Cette technique a connu un développement rapide et universel depuis le début des années 50, ce qui en fait la technique de reproduction la plus répandue dans le monde [INGRID, 2008].

L'IA est largement utilisée dans des élevages de lapins en Europe. Elle est réalisée soit avec de la semence fraîche, soit avec de la semence congelée [BENCHEIKH, 1995].

III.1. Définition et principe

L'insémination artificielle (IA) est une technique qui consiste à récolter du sperme par des moyens appropriés et à déposer une fraction de l'éjaculat après examen au moyen d'un instrument, au moment le plus opportun et à l'endroit le plus approprié du tractus génital femelle [BOUZEBDA, 2007; HANZEN, 2011-2012].

III.2. Historique

Si on attribue aux arabes l'initiative, peut être légendaire de la première IA appliquée aux chevaux (1322) [LECLERC, 1991]. L'insémination ne fut appliquée qu'en 1907 chez les lapins par le physiologiste Italien *Ivanov* [FOOTE, 2002].

L'IA s'est surtout développée après la seconde guerre mondiale (1947), pour devenir une pratique courante [HASKOURI, 2001]. Cette technique pris un essor considérable avec la découverte des caractéristiques cryoprotectantes du glycérol par *Poldge* et *Rowson* en 1952. Cette découverte a rendu possible la congélation des spermatozoïdes et a permis de différer parfois plusieurs années, la récolte et l'insémination du sperme [HANZEN, 2011-2012].

Dans les années 1980, la technique de l'IA a connu un développement rapide chez les lapins, à la suite des premiers travaux allemands prouvant la possibilité d'utilisation de la GnRH dans l'induction de la réceptivité chez cette espèce [DAL et al, 2011]. L'usage de cette technique est généralisé au cour des années 1990 dans les élevages européens avec création des centres d'insémination artificielle, en particulier en France et en Espagne et utilisation de plus en plus fréquente de la reproduction en bande unique [LEBAS, 1996].

III.3. Les étapes de l'insémination artificielle

III.3.1. Récolte du sperme

La récolte du sperme constitue la première opération de l'insémination artificielle, elle se fait avec un vagin artificiel.

1. Le vagin artificiel (VA) (figure 7)

C'est un appareil simple et pratique, comporte deux parties : Un cylindre extérieur en caoutchouc dur et épais (isolation thermique) ou en plastique muni d'une ouverture fermée par un bouchon [HANZEN, 2011-2012]. Sa longueur est d'environ 3 à 5 cm et son diamètre externe compris entre 2 et 7 cm. Une chemise intérieure en latex ou en caoutchouc est introduite dans le cylindre et ses extrémités rabattues et maintenues par un élastique [BREDDERMAN et al, 1964]. La cavité formée par le cylindre externe et la chemise interne est remplie d'eau de 40 à 45°C avant usage, de manière à être à 39°C au moment de son emploi [LEBAS et al, 1996]. La grande extrémité du vagin artificiel est lubrifiée, elle servira à introduire le pénis. Sur l'autre extrémité un tube en verre ou en plastic gradué de 1,5 à 2 cm de diamètre et de 11 cm de long est fixé pour recueillir le sperme [HANZEN, 2011-2012].



Figure 7: Les éléments du vagin artificiel [LEBAS, 2010].

2. Technique de récolte (Figure 8)

La récolte de la semence du lapin se fait après avoir préparé le VA et introduit une lapine dans la cage du mâle. L'opérateur insère le VA entre les pattes de la lapine (Figure 8 « a ») de façon que le pénis rentre dans l'extrémité lubrifiée du VA (Figure 8 « b ») [FRANCISCO et LUIS, 2003]. Après l'éjaculation le mâle se laisse glisser à côté de la lapine avec un soupir (cris) et y reste quelques secondes allongé [THEAU, 2005].

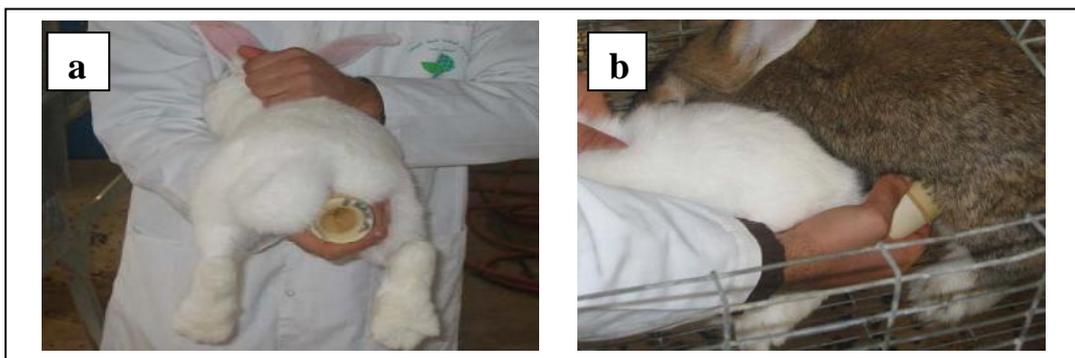


Figure 8: Images des techniques de récolte du sperme chez le lapin [LEBAS, 2010].

III.3.2. Analyse de la semence

Après la récolte, un contrôle minimal de la semence est effectué de manière à ne retenir que les meilleurs éjaculats: absence d'urine, du sang, concentration et motilité suffisantes, etc.

III.3.2.1. Examen macroscopique

Immédiatement après la récolte, un examen visuel du sperme est effectué dans le tube de récolte. Cette observation permet d'apprécier le volume, la couleur et la consistance de l'éjaculat.

a. Volume

La quantité du sperme varie au sein de l'espèce cunicole selon l'état physiologique de l'individu, la saison, la race ou encore les conditions sanitaires et alimentaires [HANZEN, 2011-2012].

Le volume de l'éjaculat recueilli est mesuré après élimination du gèle au moyen d'une pipette en verre, par une lecture directe sur le tube gradué [BENCHEIKH, 1995]. Le volume du sperme lapin varie entre les valeurs extrêmes de 0,25 à 1 ml avec une moyenne de 0,6 ml par éjaculat [FRANCISCO et LUIS, 2003].

b. Couleur

Un échantillon du sperme normal a une apparence homogène blanc opalescent [BOITI, 2005].

c. Viscosité ou consistance

La viscosité dépend de la concentration en spermatozoïdes, Comparée à l'eau distillée.

d. PH

La mesure du pH doit être immédiate après la récolte, il se fait à l'aide d'un PH mètre ou d'un papier indicateur. Dans un sperme de lapin normal la valeur du PH varie entre 6,8 à 7,3 [FRANCISCO et LUIS, 2003].

III.4.2.2. Examen microscopique

L'analyse microscopique permet une estimation de la concentration, la motilité, la morphologie et la présence d'éléments autres que les spermatozoïdes (autres cellules ou particules) [BOITI, 2005].

a. La motilité massale

L'emploi du terme motilité et non mobilité signifie que les spermatozoïdes meurent par eux-mêmes. L'examen de la motilité doit se faire le plus rapidement possible après la récolte du sperme en le gardant à une température voisine de 38°C [HANZEN, 2011-2012]. Elle s'évalue par observation microscopique à faible grossissement (10 x10) d'une goutte de sperme brute déposée sur une lame. L'intensité des vagues provoquées par le mouvement des spermatozoïdes est évaluée et une note de 0 à 9 (échelle de PEITJEAN, 1965) est attribuée à l'échantillon observé [BRUN et al, 2002]. La motilité massale dépend essentiellement de trois facteurs : la concentration, le pourcentage de spermatozoïdes motiles et leurs vitesses de déplacement [HANZEN, 2011-2012].

b. La motilité individuelle

L'évaluation de la motilité individuelle des spermatozoïdes est complémentaire de la note de la motilité massale. Cet examen vise à évaluer le pourcentage de spermatozoïdes motiles. L'examen de la motilité individuelle se fait après une dilution (10 à 40 fois) du sperme dans un sérum physiologique [HANZEN, 2011-2012]. La motilité sera déterminée au moyen d'un microscope optique au grossissement 10 x 40 en plaçant une goutte de sperme dilué entre lame et lamelle [CABANNES, 2008] et une note de 0 à 4 est attribuée d'après ADRIEU, 1974.

c. La concentration

La concentration exprime le nombre de spermatozoïdes par mm³. Elle peut être déterminée directement après une dilution du sperme de 1/100^{ième} ou 1/200^{ième} dans une solution de chlorure de sodium hypertonique à 3% qui engendre la mort des spermatozoïdes sans provoquer leurs lysent. Le comptage des spermatozoïdes se fait au moyen d'une cellule hématimétrique (lame de mallassez) au grossissement 10 x 40 après dépôt d'une goutte de sperme entre lame et lamelle [FRANCISCO et LUIS, 2003].

$$C = N \times 100 \times D \times 10^3 \text{ spz / ml}$$

-N : c'est le nombre moyen des spzs comptés dans les 5 grands carreaux diagonaux.

-D : c'est le degré de dilution.

d. La morphologie

Le spermatozoïde est une cellule très différenciée qui possède une structure effilée, divisée en trois régions distinctes : la tête, la pièce intermédiaire et le flagelle [LE ROUX, 2002]. Chez le lapin, (figure 9) un spermatozoïde fait environ 59 μm de longueur; la tête fait 14 μm , la pièce de connexion et le flagelle font 45 μm [LEBAS, 2010].

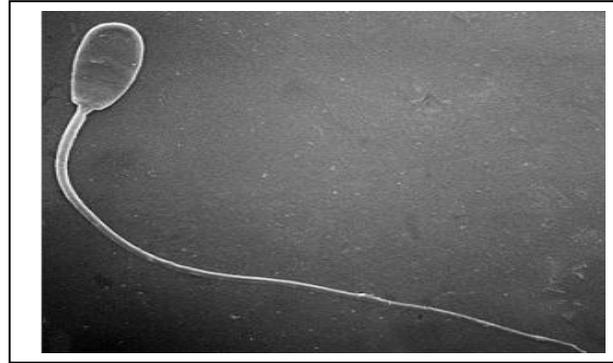


Figure 9 : Spermatozoïde du lapin [LEBAS, 2010].

L'analyse morphologique des spermatozoïdes de lapin est réalisée par microscope optique en utilisant des techniques de coloration différentes [BIOTI, 2005]. La coloration éosine-négrosine est classiquement utilisée. Une goutte de semence est mélangée à deux gouttes d'éosine-négrosine, en suite l'étalement est effectué au moyen d'une lame inclinée à 45° et la lame est séchée à l'air libre. L'observation du frottis se fait au grossissement 10 x 100 à immersion. Cette coloration permet d'apprécier les anomalies morphologiques qui sont classées en deux catégories : majeures et mineures (figure 10).

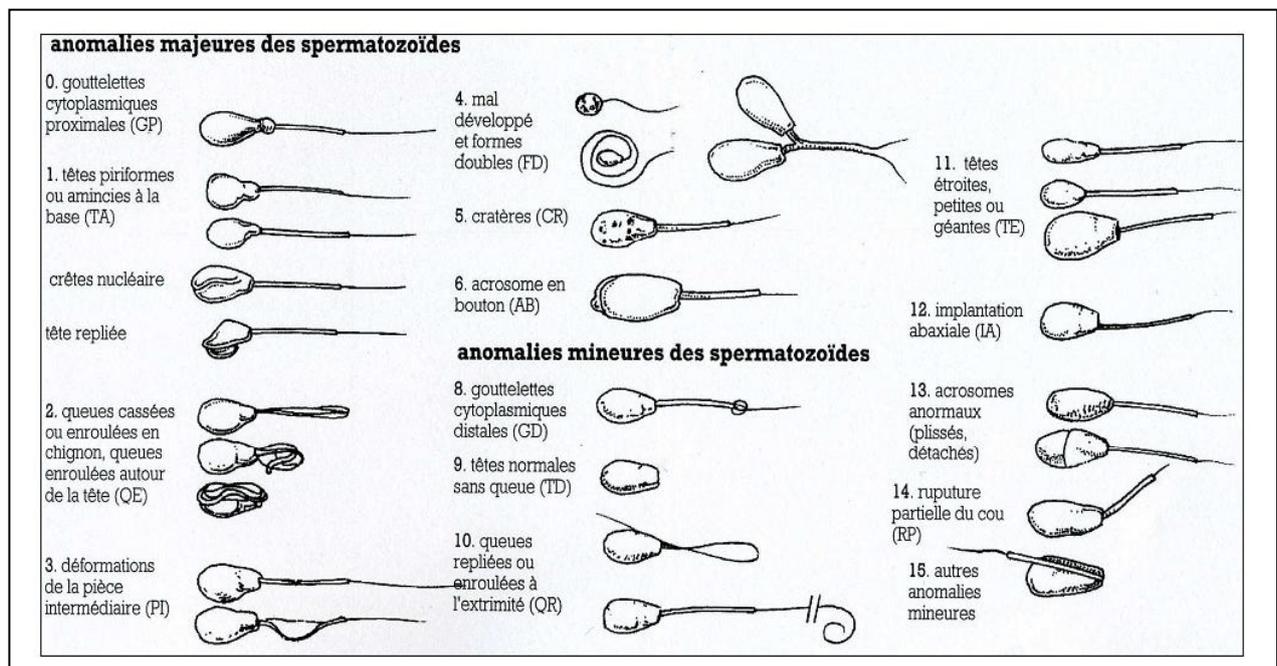


Figure 10: Anomalies majeures et mineures des spermatozoïdes [CABANNES, 2008].

En dernier lieu, le nombre total de spermatozoïdes par éjaculat est multiplié par le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux afin d'obtenir le nombre de spermatozoïdes normaux présents dans l'éjaculat considéré [CABANNES, 2008].

e. La vitalité

La coloration à l'éosine-négrosine est la méthode de référence utilisée depuis les années 50 pour estimer la viabilité des spermatozoïdes [LE ROUX, 2002]. Elle s'agit d'une coloration d'exclusion, car les membranes des spermatozoïdes vivants ne laissent pas pénétrer le colorant (restent blancs) alors que celles des spermatozoïdes morts laissent entrer le colorant (deviennent roses). C'est un test simple, facile à réaliser puisqu'il suffit de mélanger une goutte de semence pure ou diluée avec deux gouttes d'éosine-négrosine, le tout à 37°C, puis de réaliser un frottis à partir du mélange obtenu. Une fois la lame est séchée, le pourcentage des spermatozoïdes vivants est apprécié au microscope optique 10 x 100 à immersion [CABANNES, 2008].

III.3.3. Induction de l'ovulation

L'ovulation chez la lapine est déclenchée par l'accouplement. Cette stimulation naturelle peut être remplacée en insémination artificielle en intervenant à différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophysaire par différentes méthodes qui permettent d'aboutir au pic de LH pré-ovulatoire [JOLY et THEAU, 2000; SALVETTI, 2008].

III.3.3.1. Méthodes hormonales

III.3.3.1.1. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH)

Parmi les méthodes hormonales d'induction d'ovulation les plus fréquemment utilisées chez la lapine est l'injection i.m. de la GnRH ou de ses analogues synthétiques [GOUDJO, 2010]. La GnRH est un décapeptide connu successivement sous les noms de LRF (lutéinizing Releasing Factor), LHRH (lutéinizing Hormone Releasing Hormone), et GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) [KNOUF, 2002]. Une IA avec une dose de 0,5 ml de la semence nécessite l'injection de 0,2 ml de la GnRH par voie i.m [DIMITROVA et al, 2009]. Différents analogues de la GnRH (gonadoréline, buséréline, triptoréline et leuprolérine) ont été utilisés à des doses différentes en fonction de la force de la GnRH analogique pour induire l'ovulation chez la lapine [DAL et al, 2011].

1. buséréline

La buséréline est un nonapeptide, utilisé pour induire l'ovulation des lapines. Une addition de 16 µg de buséréline dans la semence induit l'ovulation plus précocement (60-90 minutes après l'IA) que la GnRH [SALVETTI, 2008; DAL et al, 2011].

2. Gonadoréline

C'est un décapeptide synthétique identique à l'hormone naturelle (GnRH) qui stimule la synthèse et la libération des gonadotrophines (LH et FSH). Une injection i.m. de 0,2 ml au moment de l'IA induit l'ovulation chez la lapine [QUINTELA et al, 2004 ; 2008].

Human Chorionic Gonadotropin (hCG)

L'hCG est une hormone placentaire de la famille des glycoprotéines encor appelée Pregnant Urine gonadotropin (PU) qui a une activité de type LH. Cette hormone se compose de deux sous unités α (92 acides aminés) et β (145 acides aminés) et son poids moléculaire est de 25 à 60 Daltons [DRION et al, 1998]. L'injection intraveineuse (i.v) après l'IA de 50 UI d'hCG provoque l'ovulation chez une lapine [LOPEZ et al 1993; LEBAS, 2011].

III.3.3.2. Mâle vasectomisé

La limitation progressive de l'utilisation d'hormones dans les élevages a conduit la communauté scientifique à mener des recherches pour s'affranchir de ces traitements, plusieurs essais ont montrés que l'ovulation chez la lapine pouvait être déclenchés par un mâle vasectomisé (saillie non fécondante) [SALVITI, 2008].

III.3.3.3. Stimulation mécanique

Une autre technique peut être utilisée pour provoquer l'ovulation de la lapine, elle s'agit du stimuler mécaniquement le vagin par un coton-tige ou le col-utérin par un écouvillon ou par une tige de verre rodée, mais les résultats sont très aléatoires [LEBAS, 2011]. Cette opération est réalisée on introduisant un coton-tige dans le vagin jusqu'à ce que la lapine réagit et essaye de s'échapper [VANNIER, 2008].

III.3.4. Insémination Artificielle au sens strict

Il existe deux techniques d'insémination artificielle de la lapine dont la première consiste à maintenir la lapine en position verticale par un seul opérateur et l'inséminer à l'aide d'un pistolet recouvert d'une gaine à usage unique et équipé d'une paillette (figure 11).



Figure 11: Le déroulement de l'IA de la lapine par un seul opérateur [DAVAOUST, 2010].

La deuxième technique est réalisée par deux opérateurs, un qui tient la lapine sur le dos et présente la vulve à l'insémineur qui dépose à la fin du vagin la semence à l'aide d'une canule coudée (figure 12) [FROMANT et TANGUY, 2001].



Figure 12: Le déroulement de l'IA de la lapine par deux opérateurs [DAVAOUST, 2010].

Dans le même temps l'insémineur pratique l'injection intramusculaire de la GnRH ou de son analogue pour provoquer l'ovulation [FROMANT et TANGUY, 2001],

III.3.4.1. Caractéristiques de la semence du lapin

La semence du lapin se compose de deux parties principales, une partie gélatineuse qui empêche la semence de s'écouler hors du vagin après l'éjaculation [MUKHERJEE et al, 1951], une partie fluide qui se caractérise par une faible concentration en spermatozoïdes (500 millions spz/ml) et par la présence de petites granules de 0,5 à 6µm de diamètre produites par la prostate. Ces particules séminales contribuent à retarder la capacitation prématurée et la réaction acrosomique des spermatozoïdes par la libération du cholestérol [CASTELLINI, 2008].

III.3.4.2. La fécondation (figure 13)

La durée de remontée des spermatozoïdes jusqu'à la partie distale de l'ampoule est de 30 minutes à 8 heures après le coït [LEBAS et al, 1996]. Les ovocytes libérés par les ovaires sont aspirés par le pavillon, leur fécondation a lieu 12 à 15 heures après le coït et à partir de 19 heures elles commencent à se dégénérer [SALVETTI, 2008].

Sur les 150 à 200 millions de spermatozoïdes éjaculés, 2 millions (1 %) seront présents dans l'utérus mais seulement un seul capable de traverser la membrane ovocytaire pour assurer la fécondation [LEBAS et al ,1996]. Après fécondation, les œufs présentent dans l'isthme 24 h après le coït. Ils terminent leurs premier cycle cellulaire 26 heures p.c, puis poursuivent leurs divisions jusqu'à atteindre le stade blastocyste [SALVETTI, 2008]. Parallèlement à leurs développements, les embryons migrent le long de l'oviducte pour atteindre la corne utérine [MACHET, 2006].

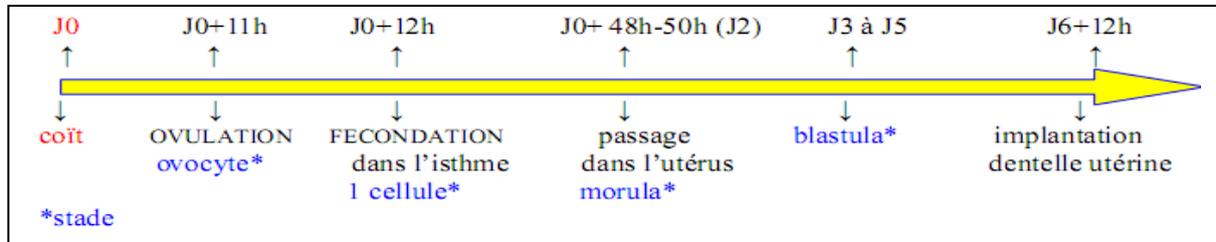


Figure 13 : Du coït à l'implantation du blastocyste [MACHET, 2006].

III.4.3.3. Diagnostic de réussite de l'insémination artificielle

III.4.3.3.1. Palpation abdominale

Le diagnostic de gestation se fait par palpation abdominale 10 à 14 jours après la saillie fécondante. L'opérateur sent rouler les fœtus sous ces doigts et les embryons se trouvent comme une grappe de raisins [FROMANT et al, 2001].

III.4.3.3.2. Dosage de la progestérone (Figure 14)

Le diagnostique de gestation peut se faire par un dosage de progestérone à partir du 3^{ème} jour suivant le coït où le taux de cette hormone augmente de 5ng/ml pour atteindre le 12^{ème} jour 17ng/ml, puis diminue progressivement jusqu'à la mise bas [LOPEZ et al, 1993].

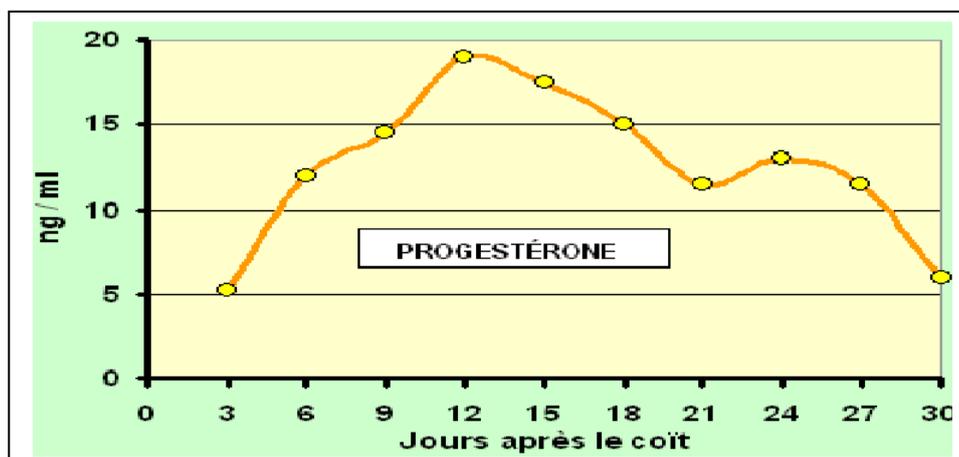


Figure14: Evolution du taux de progestérone au cours de la gestation chez la lapine [LEBAS, 2011].

III.4.3.3. L'échographie

L'échographie chez la lapine permet de détecter la gestation dès le 7^{ième} jour [THEAU, 2005]. Au 13^{ième} jour, l'embryon est visible et mesure en moyenne 7,3 à 8,9 mm de longueur et à partir du 15^{ième} jour, la tête, le corps et le cœur sont visibles et mesurables [MACHET, 2006].

III.4. Intérêts de l'insémination artificielle

III.4.1. Avantage économique

Le recours à l'IA permet de diminuer le nombre de lapin mâle nécessaires à la conduite de la reproduction dans un élevage [LOPEZ et al, 1998]. Cette diminution du nombre de lapin permet de réaliser des économies en matière d'achat, de coût de logement et de coût alimentaire [LE ROUX, 2002]. L'IA de la lapine permet d'obtenir un nombre de lapereaux important. Par exemple, dans de bonnes conditions d'élevage, une bonne lapine peut donner environ 40 lapereaux par an, soit 50 à 60 kg de viande par an à commercialiser [DJAGO et KPODEKON, 2007]. Cette technique permet également d'inséminer plusieurs femelles à partir d'un même éjaculat [INGRID, 2008].

III.4.2. Avantage génétique

L'IA est un outil puissant pour l'amélioration génétique des animaux, elle permet de multiplier la capacité de reproduction des mâles. Une semence de mâles de haute qualité génétique permet d'améliorer le résultat, sans le risque d'introduire des maladies [THEWIS, 2002].

III.4.3. Avantage sanitaire

Les avantages sanitaires du prélèvement de semence à la ferme sont liés à la diminution du nombre de lapins dans les élevages, ce qui réduit d'autant le risque d'introduction des maladies vénériennes [HASKOURI, 2001]. De plus la suppression des contacts rapprochés entre les lapins et les lapines, la possibilité de contrôles de la semence, l'utilisation de matériel à usage unique, le nettoyage désinfectons des vulves des lapines avant l'IA et l'addition d'antibiotiques permettent de limiter la diffusion des pathologies [LE ROUX, 2002].

2^{ième} Partie

Étude expérimentale

Le lapin est un animale très utilisé dans le domaine de la biotechnologie de la reproduction. L'utilisation de l'insémination artificielle (IA) dans les élevages cunicoles est devenue une pratique courante dans plusieurs pays du monde comme la France et l'Espagne. Alors qu'elle est en voie de développement en Algérie [LEBAS et al, 1996].

Dans notre travail, nous avons réalisé une expérimentation complète des différentes étapes de la mise en pratique de l'IA chez la lapine, à partir de la collecte du sperme, de son analyse, des choix des reproducteurs, d'induction de l'ovulation par une méthode hormonale et une méthode mécanique et jusqu'à la pratique de l'IA proprement dite.

I. Objectif de l'étude

Notre étude a pour but :

- L'analyse du sperme des lapins de race Californienne et Néo-Zélandaise et comparer ses caractéristiques notés avec ceux rapportés par la bibliographie.
- Inséminer des lapines après avoir induit leurs ovulations par deux méthodes, une méthode hormonale qui consiste à l'utilisation de la GnRH pour les femelles non réceptives et une méthode mécanique qui consiste à stimuler le vagin des lapines réceptives par un coton-tige.

L'objectif que nous voulons atteindre à la fin de notre étude est de maîtriser la technique d'analyse du sperme et celle de l'insémination artificielle chez la lapine.

II. Description de la zone d'étude

Notre étude expérimentale c'est déroulée au niveau de l'Institut Nationale de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA), qui se situe à Oued Ghir à 20 Km du centre de la wilaya de Béjaïa. Le centre s'étend sur une Surface Agricole Totale (SAT) de 22,06 ha dont : 15,5 ha de Surface Agricole Utile (SAU), 5,5 de terres incultes et 1,5 ha de surface bâtie. Parmi les élevages du centre, on peut trouver l'élevage des ovins, des caprins, des abeilles (apicultures) et ainsi que l'élevage des lapins (cuniculture).

III. Matériel et méthodes

III.1. Collecte de la semence de lapin

III.1.1. Matériel de la collecte : Le matériel nécessaire à la récolte de la semence est simple :

a. Matériel biologique

Notre travail est réalisé sur 4 lapins adultes domestiques, appartenant au centre d'INRAA de Oued-Ghir. Ces animaux issus d'une population consanguine, sont de races différentes, d'un poids qui varie de 2,5 kg à 3,5 kg et qui présentent un bon état sanitaire (tableau I).

Les animaux étudiés sont élevés sur grillage, en cage individuelle (Figure 15), dans un bâtiment conventionnel clos (clapier), avec fenêtres (Figure 16). Ils se nourrissent avec un aliment granulé complet du commerce et ils avaient toujours de l'eau fraîche à volonté.

Tableau I : Les caractéristiques des mâles reproducteurs étudiés.

Mâle (M)	Age	Race	Poids
M1	18 mois	Californienne (Cal)	3,335 kg
M2	5 mois	Californienne (Cal)	2,595 kg
M3	6 mois	Néo-Zélandaise (NZ)	2,6 kg
M4	24 mois	Néo-Zélandaise (NZ)	3,55 kg



Figure 15: Image de l'intérieur du clapier, les cages rouges sont des mâles et les cages marquées sont des femelles



Figure 16: Image de l'extérieur du clapier du Centre d'INRA de Oued-Ghir.

b. Matériel non biologique

- Une seringue
- Eau chaude
- Vagin artificiel (figure17): qui est constitué du
 - *Cylindre externe
 - * Tube de récolte
 - * Bouchon
 - *Gant en plastique
 - *Les élastiques

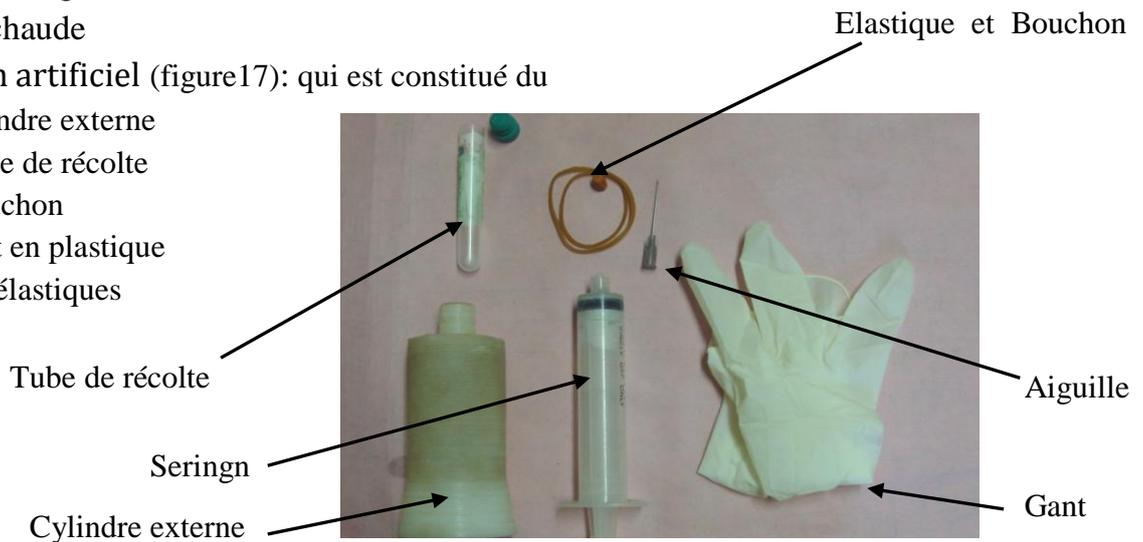


Figure 17:Les différents constituants du vagin artificielle.

III.1.2. Méthode de la collecte

III.1.2.1. Préparation du vagin artificiel (VA) (Figure 18)

Après retournement du gant nous l'introduisons dans le vagin (a), la petite extrémité est retournée sur le vagin du coté de la petite ouverture et attaché avec un élastique (b). La grande extrémité est repliée et attaché avec des élastiques, du coté de la grande ouverture, après avoir fait un ¼ de tour pour retenir le gel lors de la récolte (c et d). A l'aide d'une seringue nous injectons de l'eau chaude dans la cavité formée entre le vagin et le gant (e) et à la fin nous plaçons le tube de récolte sur le vagin dans sa petite ouverture (f).

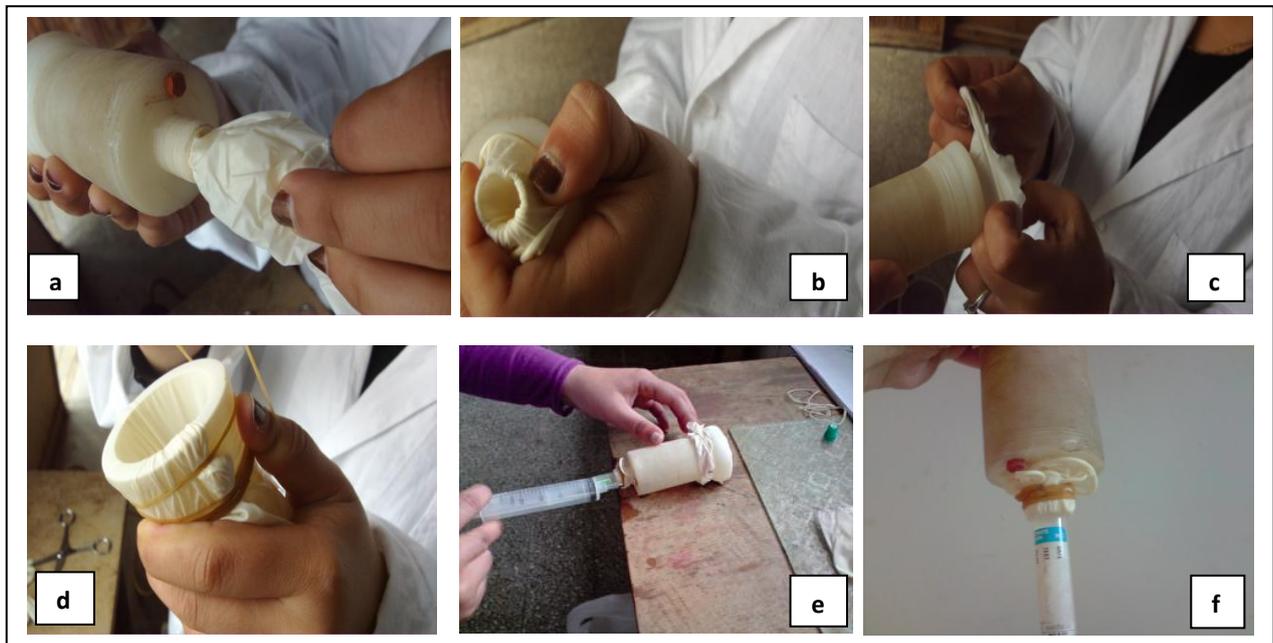


Figure18: Les différentes procédures de la préparation du vagin artificielle.

III.1.2.2. Technique de la récolte

Après avoir préparé le VA est maintenu à une température de 39°C, nous introduisons une lapine de la race Néo-Zélandaise dans la cage du mâle. Au moment où le mâle essaye d'accoupler la femelle, nous insérons rapidement le VA entre les animaux de façon que le pénis entre dans la grande extrémité du VA (Figure 19 a). Une fois que le pénis est entré dans la grande extrémité, l'éjaculation se produit (Figure 19 b). Par la suite le mâle se laisse glisser à coté de la lapine avec un soupir (cris) et y reste quelques secondes allongé.

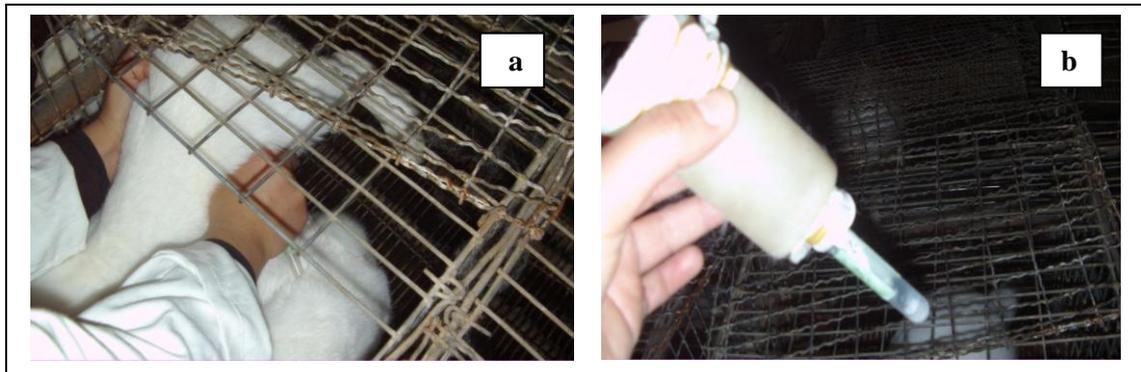


Figure 19: Récolte de la semence du lapin.

III.2. Analyse du sperme

III.2.1. Matériel (figure20)

- Semence récolté
- Un microscope optique
- Des lames (76 x 26 mm)
- Des lamelles (20 x 20 mm)
- Une micropipette (100 µl)
- Une lame de mallassez
- Tubes
- Tube gradué
- huile à immersion



Figure 20: Matériel d'analyse du sperme.

- Des colorants: Éosine à 1%, Nigrosine à 10%.
- Des solutions : Eau physiologique (NaCl à 0,9 et à 3%).

III.2.2. Méthode d'analyse

Immédiatement après la récolte, les prélèvements ont été maintenus dans la main de façon à les garder à 37°C afin de procéder à l'évaluation des différents paramètres biologiques des semences:

-**Le volume (V)** du sperme est déterminé par une lecture directe sur le tube gradué après élimination du gel.

-**La Motilité Massale (MM)** est évaluée au microscope optique (10 x10) conformément à une échelle subjective de 0 à 9 (voir l'annexe n°1), après dépôt d'une goutte du sperme brute de 10 µl entre lame et lamelle. Cette évaluation est effectuée immédiatement après la récolte.

-**Mobilité Individuelle (MI)** est évaluée après dépôt d'une goutte de sperme dilué (1/10^{ème}) dans NaCl à 0,9 % entre lame et lamelle et observer avec un microscope optique 10 x 40. Une note de 0 à 4 est attribuée aux mouvements des spermatozoïdes selon l'échelle de ADRIEU, 1974 (voir l'annexe n°2).

-**La Concentration spermatique (C)** est mesurée sur une cellule de mallassez après dilution 1/200^{ème} avec du NaCl à 3%. À l'aide d'une pipette, nous avons déposé une goutte de semence diluée à la bordure de la lamelle. Après avoir laissé la préparation reposer quelques minutes, nous avons calculé le nombre des spermatozoïdes dans les 5 grands carreaux diagonaux sous un microscope optique 10 x 40. La concentration est calculée en utilisant la formule suivante :

$$C = N \times 100 \times D \times 10^3 \text{ spz / ml}$$

C : Concentration des spermatozoïdes par ml

N : La moyenne des spermatozoïdes comptés dans les cinq grands carreaux diagonaux.

D : Le taux de la dilution (2x10²)

-**La vitalité** est mesurée dans les 30 minutes après la récolte de la semence, elle est effectuée après dilution ($1/200^{\text{ième}}$) et coloration à l'éosine négrosine:

- Une goutte de sperme est déposée sur une lame.
- Ajout d'une goutte de la solution d'éosine à 1%.
- Mélanger avec un embout et laisser quelques secondes.
- Ajout de 2 gouttes de Nigrosine à 10% et mélanger.
- Effectuer un frottis à l'aide d'une lame.
- Laisser sécher à l'aire libre.
- Observation du frottis sous un microscope optique 10 x100 à immersion.

Le calcul du pourcentage des spermatozoïdes vivants et morts est effectué sur 200 spermatozoïdes dont les morts se teintent en rose et les vivants restent incolores.

-**La morphologie** des spermatozoïdes est évaluée après préparation d'un frottis et coloration à l'éosine-Négrosine (même protocole que pour la vitalité) au microscope optique 10 x100 à immersion. Sur deux cent spermatozoïdes observés, nous avons classé les spermatozoïdes selon les anomalies de leurs tête, pièce intermédiaire et de la queue. Puis nous avons calculé le pourcentage de chaque anomalie pour déterminer à la fin le pourcentage des spermatozoïdes normaux.

Nombres totale des spermatozoïdes(200)	—————→	100%
Nombre des spermatozoïdes avec anomalie de la tête	—————→	% des anomalies de la tête

Remarque: La même règle de trois est optée pour calculer le pourcentage des anomalies de la pièce intermédiaire et de la queue.

III.3. Choix des reproducteurs

III.3.1. Matériel

a. **Matériel biologiques:** 10 lapins qui appartiennent à des races différentes (6 femelles et 4 mâles) du centre d'INRA de Oued-Ghir.

III.3.2. Méthodes

III.3.2.1. Choix des mâles reproducteurs

Parmi les quatre mâles étudiés, nous avons choisi deux lapins : M1 et M4 qui présentent les meilleures caractéristiques spermatiques (Figure 21).



Figure 21 : Images des deux mâles reproducteurs choisis.

III.3.2.2. Choix des femelles reproductrices

Les lapines du centre d'INRA sont élevées dans le même clapier et dans les mêmes conditions d'élevage que celles des lapins mâles étudiés.

Sur un nombre total de 13 lapines nous avons choisi six lapines reproductrices saines, dont trois (F1, F2 et F3) sont réceptives, elles présentent une vulve rouge (Figure 22) et un comportement de lordose en présence du mâle. Ces lapines sont de la même race avec un âge et un poids différent. Les femelles 1 et 3 sont des multipares non allaitantes avec une prolificité moyenne de 5 et 3.5 respectivement et la F2 est multipare allaitante d'une prolificité moyenne de 4.22.

Les trois autres femelles sont des lapines non réceptives (F4, F5 et F6), se caractérisent par une vulve blanche pâle (Figure 23) et elles refusent l'accouplement en présence du mâle. Elles sont de races, d'âge et de poids différent. Les femelles 4 et 6 sont des multipares dont la F4 est allaitante et la F6 non allaitante par contre la femelle 5 est primipare non allaitante (tableau II).



Figure 22 : Lapine réceptive avec coloration rouge de la vulve



Figure 23 : Lapine non réceptive avec coloration blanche pâle de la vulve

Tableau II : Caractéristiques des lapines reproductrices utilisées

Femelle (F)	Race	Age	Poids (kg)	Parité	Prolificté (nombre de porté)	Statut physiologique	Réceptive/ Non réceptive
F1	NZ	26 mois	3,405	Multipare (2 fois)	5	Non allaitante	Réceptive
F4	Cal	29 mois	3,885	Multipare (6 fois)	3,17	Allaitante	Non réceptive
F5	NZ	7 mois	2,91	Primipare	4	Non allaitante	Non Réceptive
F2	NZ	29 mois	3,35	Multipare (9 fois)	4,22	Allaitante	Réceptive
F3	NZ	24 mois	3,735	Multipare (2 fois)	3,5	Non allaitante	Réceptive
F6	NZ	25 mois	3,775	Multipare	4	Non allaitante	Non réceptive

Dans notre travail nous avons partagé les lapines en deux groupes selon leurs réceptivités : le premier groupe comporte trois lapines non réceptive et le deuxième groupe inclut les trois autres lapines réceptives.

III.4. Insémination artificielle

III.4.1. Matériel de l'IA

a. **Matériel biologiques:** Ce sont les meilleurs reproducteurs que nous avons choisi :

- * Le mâle 1 (Cal) et le mâle 4 (NZ).
- * Les six femelles que nous avons répartie en deux groupes de trois chacun.

b. **Matériel non biologiques:** (Figure 24)

- Un hétérosperme (mélange des semences des deux mâle choisis)
- Des gaines de l'IA
- Seringue de 2,5 ml
- Seringue de 1 ml
- Hormone (GnRH)
- Des cotons-tiges
- Des lames

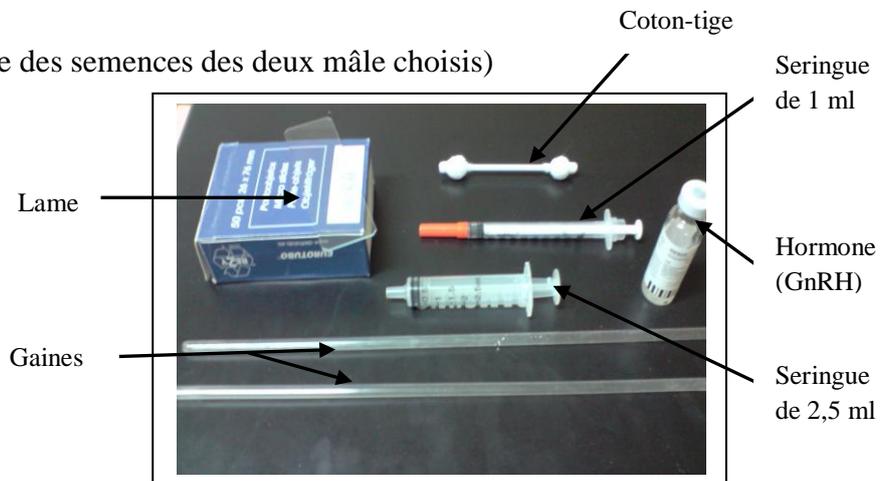


Figure 24: Matériel de l'IA de la lapine.

III.4.2. Méthode de l'IA chez la lapine (Tableau III)

Après avoir récolté et mélangé les semences des deux lapins, nous avons introduit les seringues de 2,5 ml aux gaines et aspirer 0,5 ml d'hétérosperme pour chacune.

- **Insémination artificielle chez une lapine réceptive**

Pour réaliser l'insémination chez une lapine non réceptive, nous avons tenu la lapine en position verticale, puis nous avons introduit la gaine dans la vulve jusqu'à la fin du vagin où nous avons déposé la semence à l'aide de la pression exercer par la seringue (figure 25.a). Juste après l'IA nous avons injectées 0,2 ml de la GnRH par voie intramusculaire pour induire l'ovulation (figure 25.b).



a/ Acte de l'IA chez la lapine

b/ Injection de 0,2 ml de la GnRH

Figure 25: Insémination artificielle d'une lapine non réceptive.

- Insémination artificielle chez une lapine non réceptive

Le deuxième groupe (lapines réceptives) est inséminé avec la même méthode que le premier groupe (Figure 26.a) et avec le même volume d'hétérosperme, mais nous avons essayé d'induire l'ovulation mécaniquement en introduisant un coton-tige dans la vulve tout en effectuant des mouvements de rotations en sorte qu'il stimule le vagin (Figure 26.b).



Figure 26: Insémination artificielle d'une lapine réceptive.

Tableau III : Insémination artificielle chez les deux groupes de lapines.

Le groupe	Méthode d'induction de l'ovulation	Les femelles	Statut physiologique	La date d'insémination
1 ^{er} groupe	Injection de la GnRH (0,2ml)	4	Non réceptive	06/05/2012
		5	Non réceptive	06/05/2012
		6	Non réceptive	03/05/2012
2 ^{ème} groupe	Stimulation mécanique (avec un coton-tige)	1	Réceptive	06/05/2012
		2	Réceptive	06/05/2012
		3	Réceptive	03/05/2012

IV. Résultats et discussion

IV.1. Analyse des semences des quatre lapins étudiés

Dans cette partie, nous analyserons et nous discuterons les résultats macroscopiques et microscopiques des différentes semences étudiées :

IV.1.1. Analyse macroscopique

Le tableau IV indique les caractéristiques macroscopiques des semences récoltées des quatre lapins étudiés.

Tableau IV : Caractéristiques macroscopiques du sperme des lapins étudiés

Analyse macroscopique animaux	Densité	Couleur	Volume sans gèle (ml) -V-
M 1 (Cal)	dense	Blanc nacré	0,5ml
M 2 (Cal)	transparente	Blanc	0,4ml
M 3 (NZ)	dense	Blanc nacré	0,5ml
M 4 (NZ)	dense	Blanc nacré	0,7ml

a. Le volume (V) : A partir de ce tableau nous observons que la moyenne des V des éjaculats après élimination du gel est de 0.45 ml et 0.6 ml pour la race Californienne et New-Zélandaise respectivement.

Nos résultats sont similaires aux résultats de ABD-EL-HAKEAM A.A. et al, 1992, et aux résultats de MERCIER P. et RIDEAU P., 1990, qui ont trouvés une moyenne générale de volume sans gel de l'ordre de 0.6 ml chez la race NZ. Chez la race Cal, ABD-EL-HAKEAM A.A. et al, 1992, ont trouvés une moyenne de 0.47 ml (volume sans gel) et ce volume est proche du V que nous avons trouvé chez la même race.

Par contre, ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E.M., 2011, ont obtenu des moyennes de volume sans gel de l'ordre de 0.74 ml chez la race Cal et de 0,8 ml chez la race NZ, ce qui est supérieure à nos résultats.

Cette différence est probablement due aux fréquences de collecte. Dans notre travail, nous avons collecté les mâles étudiés deux fois par semaine par contre ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E.M., 2011, ont récolté leurs mâles une fois par semaine. En effet JOLY T. et THEAU C.M., 2000, ont démontré que le volume des éjaculats diminue avec l'augmentation de la fréquence de collecte.

b. La densité : A partir du même tableau nous remarquons que la semence est dense pour les mâles 1, 3, 4 et transparente pour le mâle 2. Cette densité reflète directement la couleur des semences qui est du blanc nacré pour les M1, M3 et M4 et blanche pour le M2. La couleur et la densité nous donne une idée sur la concentration en spermatozoïdes dans l'éjaculat.

IV.1.1. Analyse microscopique

Le tableau V regroupe les caractéristiques microscopiques du sperme des quatre mâles étudiés.

Tableau V: Caractéristiques microscopiques du sperme des lapins étudiés

Caractéristiques Animaux	Mobilité massale (MM%)	Mobilité individuelle (MI%)	Concentration $\times 10^6$ Spz /ml	La vitalité(%)	
				% Spz vivants	% Spz morts
M1	58	47	409	60	40
M2	55	44	270	56.5	49.5
M3	52	40	331	50.5	41.5
M4	63	59	350	73.5	26.5

a. La Mobilité: Comme ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E.M., 2011, nous avons noté une mobilité massale meilleure chez les mâles de race Néo-Zélandaise par rapport à la race Californienne avec une moyenne respective de 57,5% et de 56,5%. Ces moyennes sont bien inférieures à celles obtenues par ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E.M., 2011 et d'ABD-EL-HAKEAM et al, 1992, qui ont noté respectivement une MM de 68.21 % et 60.27 % pour la race NZ et de 63.10 % et 66.22 % pour la race Cal.

Cette différence peut être liée à l'âge des mâles et à la fréquence de collecte.

L'âge des mâles influence significativement le nombre de spermatozoïdes mobiles. En effet THEAU C.M. et al, 2009, ont démontrés dans leur étude que le nombre de spermatozoïdes mobiles est plus important chez les lapins adultes que chez les lapins jeunes.

La Fréquence de collecte à un effet négative sur le volume des éjaculat. JOLY T. et THEAU C.M., 2000, et CESARE C., 2008 on démontrés qu'une fréquence de collecte trop intense augmente le nombre de spermatozoïdes immatures et diminue la mobilité massale des spermatozoïdes.

b. La concentration : A partir du même tableau (VII), nous remarquons que la moyennes des concentrations en spermatozoïdes est de 339,5 et 340,5 millions spz /ml pour la race Cal et NZ respectivement.

Ces concentrations sont similaires à celles obtenues par ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E.M., 2011, qui sont de l'ordre de 340×10^6 /ml pour la race Cal et de 340.59×10^6 /ml pour la race NZ et proches, mais légèrement inférieures, de celles trouvées par ABD-GHAFFAR, 1992, (349.06×10^6 spz/ml chez la race Cal et 355.41×10^6 spz/ml chez la race NZ).

-La relation entre la concentration en spermatozoïdes et l'âge des mâles

La figure 27 indique le nombre des spermatozoïdes par ml en fonction de l'âge des lapins étudiés.

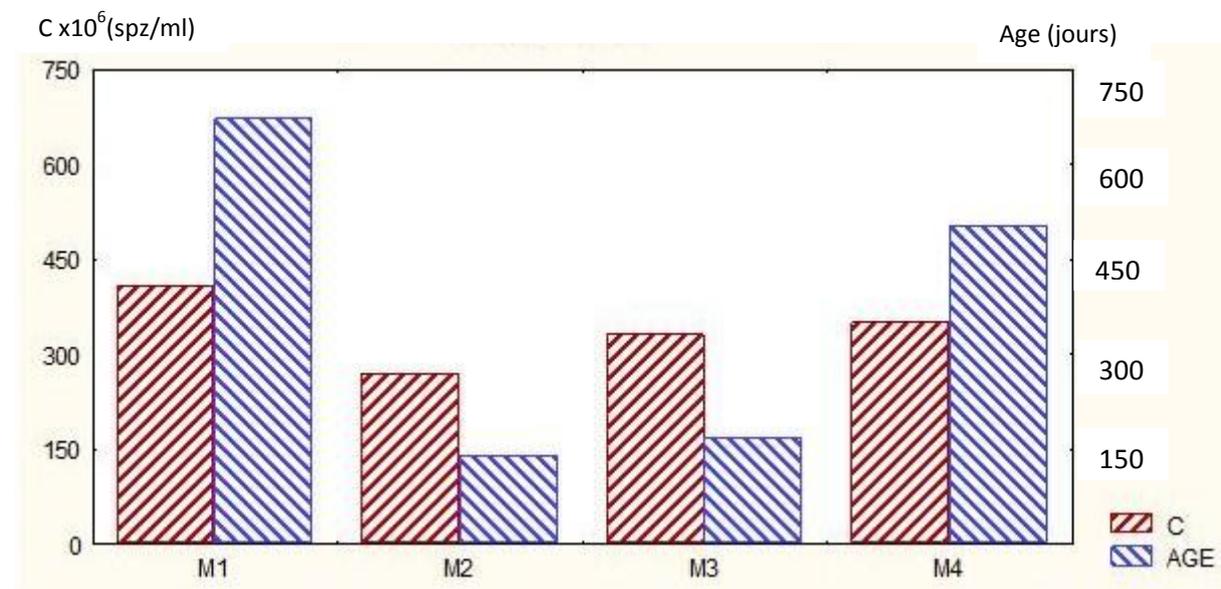


Figure27 : Concentration en spermatozoïdes par ml en fonction de l'âge des mâles étudiés
C : Concentration en spermatozoïdes (ml).

Nous remarquons sur cette figure que la concentration en spermatozoïdes est dépendante de l'âge des mâles. Elle est plus importante chez les mâles 1 et 4 qui ont un âge de 18 et 24 mois respectivement que chez les mâles 2 et 3 qui ont un âge de 5 mois et 6 mois respectivement. En effet cette dépendance entre la concentration en spermatozoïdes et l'âge des mâles a été démontrée par GOGOL P, et al, 2002 et CESARE C, 2008, qui ont prouvés que les mâles adultes ont une semence de concentration en spermatozoïdes plus élevée que celle des jeunes adultes.

c. La vitalité : Nous avons noté 58,25 % de spermatozoïdes vivants dans les semences des mâles Cal et 62 % chez les mâles NZ.

Ces résultats sont similaires à ceux de ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E M., 2011, qui ont démontrés que le nombre de spermatozoïdes vivants trouvés dans les semences de la race NZ est supérieur à celui des semences de la race Cal.

Par contre ils sont inférieurs à ceux de ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E M., 2011, et d'EL-SHEIKH A.I., 1991, qui ont noté dans leurs travaux, respectivement, une vitalité moyennes de 82.20 % et 78,15% pour la race Cal et 86.17% et 76,25% pour la race NZ. Il est possible que cette différence est liée aussi à l'âge des mâles.

d. Les anomalies des spermatozoïdes : Le tableau VI présente le pourcentage des différents types d'anomalies morphologiques (les anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire et de la queue) des lapins étudiés. A partir de la figure 28 nous remarquons un taux important des malformations morphologiques chez les quatre mâles étudiés, avec un pourcentage plus élevé chez les M2 et M3 que chez les M1 et M4.

Tableau VI : Caractéristiques morphologiques du sperme des quatre lapins étudiés.

Anomalies Spz Mâle	Anomalie de la tête(%)	Anomalie de la pièce intermédiaire(%)	Anomalie du flagelle (%)	Spz anormaux (%)	Spz normaux (%)
M1	10	5.5	16	31.5	68,5
M2	22.5	13	5	40.5	59.5
M3	17	12	13	42	58
M4	12	3.5	14.5	30	70

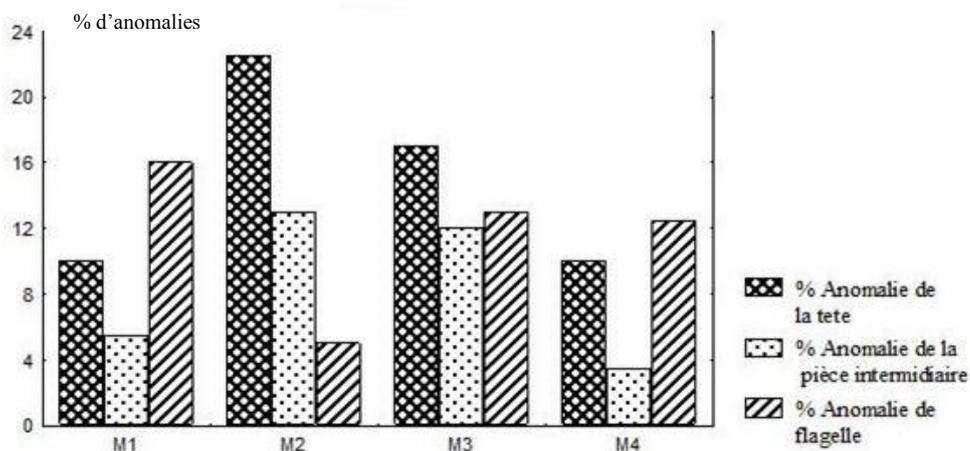


Figure 28 : Tracé en bâtonnets des malformations des spermatozoïdes des quatre mâles étudiés.

KUZMINSKY G. et al, 1996, ont trouvés que les valeurs moyennes des anomalies totales chez la race NZ sont de 18.2%, dont 2.9% sont des anomalies de la tête, 13.6% de flagelles anormaux et 1.7% de spermatozoïdes présentant des gouttelettes cytoplasmiques. Nous avons relevé des taux d'anomalies spermatiques supérieurs par rapport à ces résultats ainsi qu'à ceux rapportés par ABD-EL-GHAFFAR, 1992, (16.19% pour la race Cal et 13.84 % pour la race NZ). Nos résultats sont aussi supérieurs à ceux retrouvés par ABD-EL-AZIM A. et EL-KAMASH E M., 2011, et par IRAQI M.M. et al, 2012.

Le taux élevé des anomalies morphologiques que nous avons noté chez les lapins étudiés de l'INRA, est probablement lié à la consanguinité élevée qui existe entre ces animaux.

IV.2. Analyse d'hétérosperme utilisé en insémination artificielle

Le tableau VII nous montre les caractéristiques biologiques d'hétérosperme (mélange de deux semences des meilleurs mâles choisis) que nous avons utilisé en insémination artificielle.

Tableau VII: Les résultats de l'analyse d'hétérosperme.

Caractéristiques de l'hétérosperme (M1 +M4)	V (ml)	MM (%)	MI (%)	Vitalité (%)	C ($\times 10^6$ Spz /ml)	Spz normaux (%)
	1,03	60	55	70	395	70

A partir de ce tableau nous remarquons que le volume d'hétérosperme est suffisant pour réaliser l'insémination artificielle de deux lapines. Selon BRUN J.M et al, 2002, et LOPEZ G., 2005, une mobilité massale et individuelle supérieure à 60% et à 50% respectivement est suffisante pour effectuer une insémination artificielle.

IV.3. Insémination artificielle

Le tableau VIII nous montre les résultats d'insémination artificielle chez les deux groupes de lapines :

Tableau VIII: Résultats d'insémination artificielle chez les deux groupes

Le groupe	Méthode d'induction de l'ovulation	Les femelles	Résultats	Taux de réussite	Durée de gestation	Nombre des lapereaux
1 ^{er} groupe « non réceptives »	Injection de la GnRH (0,2ml)	4	négatif	66,66%
		5	positif		29 jours	7
		6	positif		34 jours	6
2 ^{ème} groupes « réceptives »	Stimulation mécanique (avec un coton-tige)	1	négatif	0%
		2	négatif	
		3	négatif	

a. Les femelles réceptives

A partir de ce tableau nous remarquons que toutes les femelles du deuxième groupe n'ont pas été gestante malgré qu'elles sont des lapines réceptives. HULOT F. et POUJARDIEU B., 1976, ont démontrés dans leurs travaux que seulement 5 sur 33 lapines (15%) stimulées mécaniquement ovulent. Donc ces diverses constatations montrent qu'il est difficile de reproduire artificiellement l'ensemble des stimuli à l'origine du réflexe d'ovulation chez la lapine et que le taux de réussite est très faible.

b. Les femelles non réceptives

A partie du même tableau nous constatons que le taux de réussite de l'IA chez le premier groupe est de 66,66%. Ce résultat est supérieur à ceux obtenus par REPOLLAR P. G. et al, 1994, qui ont rapporté un taux de mise bas de 58,5% parmi 130 lapines NZ, après induction de leurs ovulations par une injection intramusculaire de 0,2 ml de la GnRH.

THEAU C.M., et al, 1990, ont noté un taux d'ovulation de 72 % chez les lapines non réceptives traitées par 0,2 ml de la GnRH, LOPEZ M. et al, 1993, ont noté aussi un taux élevé d'ovulation qui de 95%. Ces deux constatations sont supérieures à nos résultats chez le premier groupe. Ces résultats prouvent que l'injection de la GnRH, induit chez des femelles la ponte ovulaire de façon automatique et le traitement hormonal améliore la réceptivité et la fertilité de ces lapines. Ce qui était la conclusion de DIMITROVA I. et al, 2009. A partir du même tableau on constate aussi que la durée de gestation et la prolificité sont variables entre les lapines de la même race.

Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, sur la mise en place de l'insémination artificielle chez la lapine, nous avons constaté que le taux de réussite de l'IA dans le premier groupe des lapines ovulées par l'injection intramusculaire de la GnRH est de 66,66%.

L'évolution prévisible sur l'utilisation des hormones exogènes nous engage à rechercher de nouvelles approches non hormonales, dont l'objectif est de garantir une production de lapins régulière, saine et économique. D'après nos résultats, la stimulation mécanique du vagin n'a pas été efficace pour induire l'ovulation chez le deuxième groupe, mais elle reste toujours une méthode alternative pour induire l'ovulation chez cette espèce, dont l'efficacité est à vérifier sur un nombre plus élevé de lapines et en utilisant un écouvillon au lieu du coton tige afin de stimuler le col utérin et non pas le vagin.

Dans les années à venir, il serait souhaitable, à notre sens, de prendre en considération les propositions suivantes afin de généraliser l'IA dans les élevages cunicoles en Algérie :

- Vulgariser et développer la pratique de l'insémination artificielle chez les lapins en Algérie.
- Approfondir les études sur les différents paramètres pouvant influencer négativement la réussite de l'insémination artificielle.
- Améliorer les capacités organisationnelles, fonctionnelles et financières des différents secteurs de la filière cunicole.
- Améliorer et développer des techniques comme la stimulation mécanique du col utérin et l'utilisation d'un male vasectomisé pour provoquer l'ovulation chez la lapine.

Tous ces efforts permettront au secteur cunicole d'être plus intensif, plus cohérent et de trouver sa véritable place dans les productions animales et dans l'économie Algérienne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABD EL-AZIM A. et EL-KAMASH E.M., 2011.** Evaluation of semen quality and its relation to mating system for some breeds of rabbits under environmental conditions in the middle of Egypt. *Poult. Sci.* Vol (31) (II): pp467-480.
- ABD EL-GHAFFAR A.E., 1992.** Some studies on the artificial insemination in rabbits. Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University (Benha), Egypt.
- ABD EL-HAKEAM A.A., ABD EL-MOTY A.K.I., EL-BOGDADY A.H. et HASSANEIN H.H., 1992.** Some physical characteristics of rabbit semen as affected by breed, lighting systems and ejaculation sequences. *Egypt. J. Rabbit Sci.*, 2 (1): 33-37.
- BENCHEIKH N., 1995.** Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin, INRA, station d'amélioration génétique des animaux, Auzeville, France.
- BOITI C., 2005.** Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Sci*, WRSA, UPV, 2003. pp72-80.
- BOUZEBDA M.Z., 2007.** Gestion zootechnique de la reproduction dans des élevages bovins laitiers dans l'Est algérien, Université Mentouri Constantine 90.
- BREDDERMAN P.J., FOOTE R.H. et YASSEN A.M., 1994.** An improved artificial vagina for collecting rabbit semen. Department of Animal Husbandry, Cornell University, Ithaca, New York, U.S.A. pp401-403.
- BRUN J.M., THEAU C.M. et BOLET G., 2002.** Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics, INRA, EDP Sciences , p334.
- BRUN J.M., THEAU C.M. et BOLET G., 2002.** The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*70(2002), pp139-149.
- CABANNES C.R.A., 2008.** Comparaison des méthodes d'évaluation de la qualité de la semence dans les espèces bovines, canine et humaine. Thèse : 03 – TOU 3 – 4108 à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse. p37-44.
- CASTELLINI C., 1996.** Recent advances in rabbits artificial insemination. *World Rabbit Congress*, Toulouse, 1996, vol, 2. p 16.
- CASTELLINI C., 2008.** Semen production and management of rabbit bucks. Dept. of Applied Biology, University of Perugia, Italy, 9thWorld Rabbit Congress-June 10-13.
- DAL BOSCO A., REBOLLAR P.G., BOITI C., ZERANI V. et CASTELLINI C., 2011,** Ovulation induction in rabbit does: Current knowledge and perspectives, *Animal Reproduction Science*, p107-109.
- DAVOUST C., 2010.** Quelles sont les phases critiques d'un cycle de production?. Association Scientifique Française de Cuniculture.
-

- DIMITROVA I., ANGELOV G., TENEV A.A. et UZEV P., 2009.** Artificial insemination of rabbit. *Biotechnology in Animal Husbandry* 25 (5-6), Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun, ISSN 1450-9156. pp1249-1253.
- DJAGO A.Y et KPODEKON M., 2007.** Méthodes et Techniques d'Élevage du Lapin : Élevage en Milieu tropical. Editeur : Association "Cuniculture" 31450 Corronsac – France.
- DRION P.V., RIMY B., HOUTAIN J.Y., NAMARRA M.M.C., BARIL G., HAYMEN Y., COGNIE Y., THEAUT C.M., LEBOEUF B., ECTORS F., SEGERS K., BECKERS J.F., 1998.** Utilisation répétées des gonadotrophines exogène dans le contrôle de la reproduction : justification, relation structure –activité biologique effets secondaire potentiels. pp375-396.
- EL-SHEIKH A.I., 1991.** A genetic study of some semen characteristics in rabbits, Alexandria Univ.
- FOOTE R.H., 2002.** The history of artificial insemination: Selected notes and notables, Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853-4801. p2.
- FORTUN L.L., BOLET G., 1995.** Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine, INRA Station de Recherches Cunicol, p50- 51.
- FRANCISCO D.A.A. et LUIS A.R.F., 2003.** Analysis of seminal quality, a tool in fertility experimental toxicology study. p44-46.
- FROMONT A. et TANGUY M., 2001.** L'élevage de lapin tome 1, Educagri édition, 2001, Dijon. ISBN978-2-84444-128-7. p49-50.
- GIDENNE T. et LEBAS F., 2005.** Le comportement alimentaire du lapin. 11èmes Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris. p130.
- GOGOL P., 2009.** Effet of prostaglandin f2 α on reproductive performance in rabbit does. Department of Biotechnology of Animal Reproduction, National Research Institute of Animal Production, 32-083 Balice n. Kraków, Poland, p396.
- GOUDJO E.A., 2010.** à %_o valuation des performances de reproduction des lapines en sélection et des femelles croisées avec des males de souche INRA 1777 au CECURI (centre Cunicole de recherche et d'information) Benin, Université d'Abomey- Calavi-Master professionnel 2010.
- HANZEN Ch., 2011-2012.** La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants. Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogenologie des animaux de production. p12-25.
- HASKOURI H., 2001.** Insémination artificielle et détection des chaleurs chez la vache, institut agronomique et vétérinaire HASSENE II, département de la reproduction animale et de l'insémination artificielle, p1.
- HULOT F. et POUJARDIEU V., 1996.** Induction artificielle de l'ovulation et fertilité chez la lapine (*Oryctolagus Cuniculus*) allaitante ou non. *Ann. Biol. anim. Bioch. Bophy.*16 (5), pp635-643.

- INGRID D., 2008.** Analyse génétique et modélisation de la production de semence et de la réussite de l'insémination artificielle en ovin, Thèse Pour obtenir le grade de Docteur d'Agroparistech Discipline : Génétique animale, p16-28.
- IRAQI M.M., RADWAN A.A., GADOM S., EL-SAYAD A.I. et ELOKIL A.A., 2012.** Evaluation of semen characteristics in a project of synthesizing new line of rabbits in Egypt. Benha University, Moshtohor and Hurghada Egypt, pp18-22.
- JOLY T. et THEAU C.M., 2000.** Reproduction et Physiologie de la Reproduction au 7ème Congrès Mondial de Cuniculture, ISARA–FESIA, 31 place Bellecour - 69288 Lyon.
- KNOUF C., 2002.** Mise en évidence d'une libération spontanée, pulsatile et cyclique de monoxyde d'azote (NO) par l'éminence médiane au cours du cycle œstral. Implication des capillaires du plexus port hypothalamo-hypophysaire dans la libération de la GnRH. Thèse Présentée à l'université de Lille pour l'obtention du grade de Docteur de l'université en Science de la Vie et de la Santé. p7.
- KOUTINHOIN G.B., YOUSAO A.K.I., KPODEKON T.M., DJAGO Y. et HOUENON R., 2009.** Incidence de la séparation mère-portée sur la fertilité des lapines allaitantes et la taille de la portée au Sud du Bénin. p15-16.
- KUZMINSKY G., FAUSTO A.M. et MORERA P., 1996.** Morphological abnormalities of rabbit spermatozoa studied by scanning electron microscope and quantified by light microscope. *Reprod Nutr Dev* (1996), 36, pp565-575.
- LAVARA R., EVA M., LAVARA F., PILAR M., VIUDES C. et JOSE S.V., 2005.** Do parameters of seminal quality correlate with the results of on farm inseminations in rabbits? *Volume 64, Issue 5, 15 September 2005, pp1130–1141.*
- LEBAS F., 2010.** Intérêt de l'insémination artificielle pour les élevages cynicoles en Algérie. Atelier de travail sur la création d'une souche synthétique, Baba Ali (Algérie) 14-15 juin 2010.
- LEBAS F., 2011.** La Biologie du Lapin. Cuniculture : Sous Chapitre 3.7 « reproduction de la femelle ».
- LEBAS F., COUDERT P., ROCHAMBEAU H. et THEBAULT R.G., 1996.** Le lapin: Elevage et Pathologie. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture Rome, ISBN 92-5-203441-2, Code FAO: 21 AGRIS: LOI. p54-55.
- LECLERC A., 1991.** Manuel technique d'insémination artificielle bovines, Edi; française, p3
- LE ROUX A.N., 2002.** La réforme des verrats de C.I.A pour baisse de qualité de semence: Approche anatomopathologique et histologique, Thèse : 2002, Ecole National Vétérinaire de Toulouse.
- LESTRAT C., 2008.** Identification et caractérisation de la protéine Atad2, un facteur du remodelage de la chromatine acétylée au cours de la spermatogenèse. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier – Grenoble 1. p13-19.
-

- LOPEZ F.J., ALVARINO J.M.R., 1998.** Artificial insemination of rabbits with diluted semen stored up to 96 hours. Department Production Animal E.T.S.I. Agronomy, 28040 Madrid, Spain. p251.
- LOPEZ M., FORCADA F., RODRIGUER J.A., MARTIN M. et ZARAGAZA L., 1993.** Embryo recovery under anesthesia after hCG or GnRH treatments in the rabbit and survival when a reduced number of embryos is transferred. Université de Zaragoza. p130.
- MACHET E.A.L., 2006.** Thèse pour le Doctorat vétérinaire « caractérisation de la croissance foétale in utero par échographie » chez la lapine. p4-73.
- MERCIER P. et RIDEAU P., 1990.** Bactériologie du sperme frais du lapin, INRA Prod, Anim , pp215 -221.
- MICHAUT S.M.C.C., 2006.** Homéopathie préventive en élevage cunicole. Etude zootechnique et économique. Thèse, Ecole national vétérinaire de Lyon. p42.
- MORISSE J.P. et MAURICE R., 1994.** Bien-être et production intensive de lapins, Laboratoire central de recherches avicole et porcine, Beausemaine, B.P. 53,22440 Ploufragan, France, Rev. sci. tech. Off. int. Epiz, 13 (1), pp131-141.
- MUKHERJEE B.P., JOHARI M.P. et BHATTACHARYA P., 1951.** The Gelatinous Mass in Rabbit Semen. ISSN: 0028-0836.volume 168. p422-423.
- PAREZ M. et DUPLAN J.M., 1987.** L'insémination artificielle bovine. Ed. ITEB et UNCELA, Paris, p225.
- PERRET J.P., 2004.** Physiologie de la reproduction. I.U.T.A Génie Biologique, 1^{ère} année. p4.
- QUINTELA L.A., ANA I.P., VEGA M.D., GULLÓN J., PRIETO M.C., BARRIO M., BECERRA J.J., MASEDA F. et HERRADÓN P.G., 2004.** Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial Insemination by adding buserelin to the seminal dose. INRA, EDP Sciences, DOI: 10.1051/rnd: 2004015. p79-88.
- QUINTELA L.A., PENA A.I., VEGA M.D., GULLON J., PRIETO C., BARRIO M., BECERRA J.J. et HERRADON P.G., 2008.** Ovulation induction in rabbit does by Intra-vaginal administration of GnRH analogue [des-Gly10, D-Ala6]–LHRH Ethylamide: Field Trial. 9th World Rabbit Congress –June 10-13, – Verona – Italy. pp 427-430.
- REBOLLAR P.G., ALVARINO J.M.R. et UBILLA E., 1994.** Grouping of rabbit reproduction management by means of artificial insemination. World Rabbit Science, 2(3), pp87-91.
- SABBAGH M., 1983.** Thèse « Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevée en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et fonctionnement thyroïdien et surrénalien en Période d'adaptation au stress thermique ». Université de Dakar Ecole Inter-état des Science et Médecine Vétérinaires. p12-50.
-

- SALVETTI P., 2008.** Production des embryons et cryoconservation des ovocytes chez la lapine: Application à la gestion des ressources génétiques, Thèse de l'Université de Lyon, diplôme de doctorat, N° d'ordre:265-2008. p23-41.
- SCHIERE J.B., 2004.** L'Elevage des lapins dans les zones tropicales. ISBN : 90-77073-34-5
NUGI : 835, 2004. p15-20.
- SOLTNER D., 1989.** la reproduction des animaux d'élevage, p281.
- SOPHIE, 2008.** Quenottes.net - L'univers du lapin nain « L'anatomie ».
- THEAU C.M., 2005.** Cuniculture Magazine « Reproduction et physiologie de la reproduction au 8ème Congrès Mondial de Cuniculture » vol.32, INRA, Station d'Amélioration Génétique des Animaux, BP 52627, 31326 Castanet-Tolosan Cedex.
- THEAU C.M., 2005.** Préparation de la lapine à l'insémination : analyse bibliographique, 11^{ème} Journées de la Recherche Cunicole, 29-30 novembre 2005, Paris. p67-77.
- THEAU C.M., 2007.** Preparation of the rabbit does to insemination: A review, INRA. Station d'Amélioration Génétique des Animaux BP 52627-31326. p61-76.
- THEAU C.M., 2008.** Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes D'induction de l'œstrus, NRA, UR631 Amélioration Génétique des Animaux, F-31326 Castanet-Tolosan, France. p221-227.
- THEAU C.M., SANCHEZ A., DUZERT R., SALEIL G. et BRUN M.J., 2009,** Etude de Facteurs de variation de la production spermatique chez le lapin, 13^{ème} journée de la recherche cunicole, 17-18 novembre 2009, le Mans, France.
- THEWIS A., 2002.** Filière avicole et cunicole-N°4, Belgique-België. P.P9/3341, 4400 Flemalle. p10-11.
- VAN E., 2005.** Appareil Uro-génital du lapin : Appareil reproducteur de la lapine. « Midi Rabbit.com ».
- VANNIER F., 2008.** Essai d'une nouvelle technique de catheerisme du col utérin de la chatte en vue d'une application à l'insémination artificielle-utérine. Thèse doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. p68.
-

ANNEXES

Annexe n°1: Echelle utilisé pour déterminer la MM d'après PETITJEAN H., 1965

La note de **0** → 0 à 5 %, **1** → 10 %, **2** → 20 %, **3** → 30, **4** → 40 %, **5** → 50 %, **6** → 60 %, **7** → 70 %, **8** → 80 %, **9** → 90 à 100 % [BRUN et al, 2002]

Note	description
0	- Pas de spermatozoïdes
1	-Spermatozoïdes immobiles
2	-Quelques spermatozoïdes agités, oscillants surplace
3	-Beaucoup de spermatozoïdes agités sans déplacement notable
4	-Quelques spermatozoïdes immobiles, quelques spermatozoïdes surplace, quelques spermatozoïdes mobiles
5	-Comme (4) mais plus de spermatozoïdes mobiles, mobilité assez bonne mais pas homogène
6	-La quasi-totalité des spermatozoïdes se déplacent, motilité bonne et homogène
7	-Comme (6) avec amorce de mouvements de vagues
8	-Comme (7) avec mouvements de vagues lentes
9	-Vagues énergiques, aspect de tourbillons, motilité excellente

Annexe n°2: Echelle utilisé pour déterminer la MM d'après ADRIEU, 1974.

La note de **0** → 0 à 15%, **1** → 15 à 30%, **2** → 30 à 55 %, **3** → 55 à 75, **4** → 75 à 100 % [CABANNES, 2008]

Note	Description
0	-Spermatozoïdes immobiles.
1	-Les spermatozoïdes ont des mouvements de flagelles sans déplacement.
2	-Les spermatozoïdes se déplacent lentement, les mouvements circulaires dominant.
3	-Les spermatozoïdes ont des mouvements heurtés, leurs déplacements s'effectuent le long d'une hélice de diamètre sensiblement égale à leur longueur.
4	-Les spermatozoïdes se déplacent rapidement le long d'une hélice de faible diamètre.

Résumé : Dans le cadre de la recherche sur l'IA chez la lapine, il est devenu important de maîtriser les méthodes d'induction d'ovulation chez cette espèce et de réussir la mise en place du sperme. Dans cette étude, six lapines NZ et Cal ont été réparties en deux groupes selon la couleur de la vulve et inséminés par **0,5 ml** d'un hétérosperme avec induction de l'ovulation soit par injection de **0,2 ml** de la GnRH (premier groupe) ou par stimulation mécanique du vagin en utilisant un coton tige (deuxième groupe). Les résultats de ce travail montrent que le taux de réussite de l'IA chez le 1^{er} groupe est de 66,66% et aucun résultat positif n'est obtenu pour le 2^{ième} groupe.

Mots-Clés : Insémination Artificielle, Lapine, Ovulation provoqué, Réceptivité, GnRH.

Summary: In the objective of developing research on AI in rabbits, it has become important to master methods of ovulation induction in this species. In this study, six rabbits of NZ and Cal were divided into two groups, according to the vulva color, inseminated with 0,5 ml of hétérosperm and induced ovulation in the first group (no receptive rabbits) by injection of 0,2 ml of GnRH and the second group (receptive rabbits) by mechanic stimulation of vagina. The results of this work shows that the rate of success of AI in the first group is 66,66 % and no positive results in the second group.

Key words: Artificial Insemination, Rabbit, Ovulation induced, Receptivity, GnRH.