

Relation entre les caractéristiques de la semence de lapin et sa fécondance

M. THEAU-CLEMENT, E. AILLOUD, A. SANCHEZ, R. DUZERT, G. SALEIL, J.M. BRUN

INRA. UR 631 Station d'Amélioration Génétique des Animaux BP 52627 - 31326 Castanet Tolosan, France

Résumé. L'objectif de cette étude est d'analyser les relations qui existent entre les caractéristiques de la semence de lapin et son pouvoir fécondant après insémination. Les caractéristiques de la semence sont estimées sur 275 éjaculats de 128 mâles INRA1001, répartis en 5 lots successifs. Un total de 2021 inséminations est réalisé. La fertilité est influencée par la motilité massale estimée par observation visuelle et par le pourcentage de cellules motiles, de cellules rapides et le déplacement latéral de la tête des spermatozoïdes estimés par analyse d'images. Dans une moindre mesure, la prolificité est influencée par le pourcentage de cellules motiles et de cellules rapides. Dans nos conditions d'expérimentation, un gain moyen de 1 lapereau né vivant par portée est obtenu quand la semence présente au moins des amorces de mouvement de vague ou un pourcentage de cellules vivantes supérieur à 84%. Cependant, un pourcentage de spermatozoïdes rapides supérieur à 82 % semble déprimer le pouvoir fécondant de la semence, conséquence, peut-être, d'un métabolisme trop intense.

Abstract. Relationships between rabbit semen characteristics and fertilising ability. The aim of this study was to analyse the relationship between rabbit semen characteristics and semen fertilising ability after insemination. Semen characteristics were evaluated on 275 ejaculates of 128 INRA1001 bucks, distributed into 5 successive batches. A total of 2021 inseminations were performed. Estimated by visual observation, the massal motility significantly influenced fertility as well as the percentage of motile or rapid spermatozoa and the Amplitude of lateral head displacement (Alh) estimated by a Computer Assisted Semen Analysis system. To a lesser extent, the prolificacy was influenced by the percentage of motile or rapid cells. Consequently in our experimental conditions, one more born alive per litter was obtained when semen displayed at least a beginning of waves or a percentage of motile cells greater than 84%. However, a percentage of rapid spermatozoa greater than 82% seems to depress the semen fertilizing ability, a possible effect of an intense metabolism.

Introduction

Le développement de l'insémination artificielle (IA) des lapines en Europe s'est accompagné d'une meilleure connaissance des facteurs de succès de l'insémination liés à la femelle et au mâle. Aujourd'hui de nouveaux systèmes d'analyse de la semence permettent de mesurer plus objectivement la production spermatique. Mais les travaux concernant les relations entre les caractéristiques de la semence de lapin et sa fécondance sont rares. Brun *et al.* (2002) ont montré que la fertilité est influencée par la motilité massale (observation au microscope) alors que le nombre de nés totaux est plus lié à la concentration et aux variables qui en dépendent. Par ailleurs, Lavara *et al.* (2005) obtiennent une corrélation de +0,31 entre le pourcentage de spermatozoïdes motiles évalué par analyse d'images et la fertilité.

L'objectif de cette étude est d'analyser les relations qui existent entre les caractéristiques de la semence de lapin et son pouvoir fécondant après IA, afin de rechercher des critères prédictifs de la fécondance.

1. Matériel et méthodes

1.1. Animaux et conduite d'élevage

Les mâles appartiennent à la souche INRA1001, issue d'une souche lourde d'un sélectionneur privé (Grimaud Frères Sélection). Ils se répartissent en 5 lots de 36 mâles au maximum, étudiés entre 2004 et 2008. Pour constituer un lot, environ 80 mâles sont mis en place à l'Unité Expérimentale INRA-SAGA à l'âge de 28 jours. A l'âge de 21 semaines, ils entrent dans une phase d'entraînement au prélèvement au

vagin artificiel durant 2 semaines, à l'issue de laquelle 36 mâles sont sélectionnés sur leur aptitude à donner de la semence, pour la phase expérimentale qui dure 21 semaines. Les mâles sont alors prélevés une fois par semaine à raison de deux éjaculats à 15 minutes d'intervalle. La semence est contrôlée 1 semaine sur 2. Nous n'avons retenu dans cette analyse que les semences inséminées. Trois cohortes successives de 220 lapines des souches INRA 1077 et 1777 sont utilisées. Elles sont inséminées tous les 42 jours et conduites en bande unique. Intra cohorte, les lapines mortes ou réformées sont remplacées par des lapines de renouvellement INRA 1077 ou 1777 ou 2266. Aucun traitement d'induction de la réceptivité n'est utilisé. L'ovulation est induite par l'injection intramusculaire de 0,1 ml de Réceptal (Intervet). Après la mise bas, l'allaitement est libre, les portées ne sont pas homogénéisées mais les lapereaux rachitiques sont éliminés. Les animaux sont placés sous un éclairage continu de 16h de lumière par jour. Ils reçoivent quotidiennement un aliment commercial titrant 175g/kg de protéines et 145g/kg de fibres et sont nourris et abreuvés à volonté.

1.2. Protocole de contrôle de la semence

Immédiatement après la récolte, sont mesurés l'ardeur sexuelle du mâle, la présence de gel, le pH, le volume de l'éjaculat et la motilité massale. La motilité des spermatozoïdes est analysée par un système d'analyse d'images assisté par ordinateur (HTMA-IVOS Hamilton-Thorne Research, Beverly, MA/USA, paramétrage décrit dans Brun *et al.*, 2006). La concentration est mesurée en différé, sur un

hématimètre de Thoma (dilution 1/200). Les conditions opératoires et les mesures sont décrites par Brun *et al.* (2006).

1.3. Inséminations

Les inséminations sont réalisées au plus tard 6 heures après les collectes. Seuls les éjaculats non contaminés d'urine, de volume supérieur à 0,4 ml et de motilité supérieure à 5 sont dilués 20 fois dans du Galap et conservés pour les IA. La semence de chaque mâle est conditionnée en paillettes de 0,5 ml en fin de matinée et stockée à température ambiante. La réceptivité des lapines est testée avant le chantier des inséminations (présentation à un mâle) afin d'attribuer à chaque mâle des lapines de différents états physiologiques (allaitante ou non-allaitante : AI+ ou AI-, réceptive ou non-réceptive : R+ ou R-).

1.4. Variables analysées

Ce sont l'ardeur sexuelle (sec), la présence ou l'absence de gel (0 ou 1), le pH, le volume de l'éjaculat (Vol, ml), la motilité massale (Motm), la concentration (Conc, 10^6 x spermatozoïdes/ml) et par analyse d'images : le pourcentage de cellules motiles (Pmot), rapides (Prap, >40 μ /sec) et progressives (Pprog, vitesse >40 μ /sec et rectitude $>80\%$), la vitesse moyenne des cellules (VAP, μ /sec), la vitesse progressive linéaire (VSL, μ /sec), la vitesse curvilinéaire (VCL, μ /sec), le déplacement latéral moyen de la tête des spermatozoïdes (Alh, μ), la fréquence des battements du flagelle (Bcf, μ /sec), la rectitude (Str, VSL/VAP, %), la linéarité (Lin, VSL/VCL, %). Quelques variables synthétiques sont calculées : le nombre total de spermatozoïdes par dose (NspzTD) et le nombre total de spermatozoïdes motiles par dose (NspzMD).

1.4. Analyses statistiques

Pour analyser la relation entre les caractéristiques de la semence et la fertilité, la prolificité et la productivité, nous avons utilisé une analyse de variance intégrant l'effet fixé de l'état physiologique des lapines au moment de l'insémination (11 niveaux : 3 niveaux de parité ; nullipare, primipare et multipare, 2 niveaux de réceptivité et 2 niveaux d'allaitement), de la série d'insémination (17 niveaux), du génotype des lapines (2 niveaux), de leur statut de renouvellement (lapine d'origine ou de remplacement) et l'effet fixé de chaque caractéristique de la semence prise une par une. A l'exception de la présence de gel et de la motilité massale, elles sont regroupées en 3 classes d'effectif similaire afin d'évaluer s'il existe une relation non linéaire entre les caractéristiques de la semence et sa fécondance. La motilité massale est répartie en 2 classes, selon la présence (note >6) ou l'absence (note = 6) de vagues.

2. Résultats et discussion

Les résultats concernent 1970 inséminations réalisées sur 674 lapines à partir de 275 éjaculats provenant de 128 mâles. En moyenne 15 inséminations ont été réalisées par mâle (7 IA /éjaculat).

2.1. Performances de reproduction en fonction de facteurs physiologiques, environnementaux et génétiques

La fertilité moyenne est de $66,5 \pm 47,3$ % et la taille de portée moyenne de $8,8 \pm 3,8$ nés vivants. En conséquence la productivité n'est que de $5,9 \pm 5,2$ nés vivants par femelle inséminée, reflet de l'absence d'induction de la réceptivité et d'un épisode de problèmes sanitaires.

Tableau 1. Statistiques élémentaires de l'ardeur sexuelle et des variables de la semence

	Moyenne \pm écart type	Mini-maxi
Observations visuelles		
Ardeur sexuelle (sec)	26,2 \pm 19,6	6-119
Gel	0,34 \pm 0,47	0-1
pH	6,9 \pm 0,3	5,9-7,7
Volume (ml)	0,7 \pm 0,2	0,4-1,8
Motm	6,7 \pm 0,7	6,0-9,0
Conc ($\times 10^6$ spz/ml)	778 \pm 340	28-1884
Analyse d'images		
Pmot (%)	85,5 \pm 11,3	31,5-98,5
Prap (%)	76,8 \pm 11,7	24,0-94,0
Pprog (%)	50,6 \pm 11,9	3,5-73,5
VAP (μ /sec)	97,8 \pm 16,5	57-141
VSL (μ /sec)	77,5 \pm 15,3	30-120
VCL (μ /sec)	186 \pm 26	125-275
Alh (μ)	6,3 \pm 0,9	3,9-9,0
Bcf (Hz)	41,2 \pm 3,9	29,1-49,4
Str (%)	77,9 \pm 6,3	51,5-93,0
Lin (%)	42,4 \pm 6,5	24,0-68,5
Critères synthétiques		
NspzTD ($\times 10^6$ spz/ml)	26,8 \pm 14,2	0,6-85,2
NspzMD ($\times 10^6$ spz/ml)	23,5 \pm 13,3	3,7-69,5

Les performances de reproduction varient en fonction de l'état physiologique des lapines, de la série d'IA (qui prend en compte les facteurs environnementaux), du génotype des lapines et de leur statut de renouvellement (résultats non présentées dans cette publication).

2.2. Influence des caractéristiques de la semence sur sa fécondance

Le tableau 1 donne les statistiques élémentaires des caractéristiques étudiées. Le tableau 2 présente les performances de reproduction moyennes pour chaque classe des caractéristiques de la semence qui influencent au moins l'une des composantes de la productivité des lapines.

L'ardeur sexuelle des mâles, la présence éventuelle de gel dans la semence, le volume, le pourcentage de spermatozoïdes progressifs, la fréquence de battements du flagelle, la rectitude et la linéarité du déplacement des spermatozoïdes n'influencent ni la fertilité, ni la prolificité des lapines. La fertilité est fortement influencée ($P < 0,001$) par la motilité massale observée au microscope (+ 8 points de fertilité quand la semence contient au moins des

Tableau 2. Influence des caractères de la semence sur sa fécondance

	<i>Effectif</i>	Fertilité (%)	Nés vivants	Productivité (NV/IA)
pH	1925	NS	T	NS
5,86 - 6,71	662	67,5	8,8 ^a	5,9
6,72 - 6,91	674	67,7	8,2 ^b	5,5
6,92 - 7,7	670	63,4	8,4 ^{ab}	5,3
Motm	1970	**	T	***
6	898	61,9 ^a	8,2 ^a	5,0 ^a
6 +	1072	69,9 ^b	8,7 ^b	6,0 ^b
Pmot (%)	1925	**	*	***
31,5 - 83,5	643	60,1 ^a	8,0 ^a	4,8 ^a
84 - 92,5	637	68,3 ^b	8,6 ^b	5,9 ^b
93,0 - 98,5	645	67,4 ^b	8,7 ^b	5,8 ^b
Prap (%)	1925	***	*	***
24 - 74,5	654	59,6 ^a	8,0 ^a	4,8 ^a
75 - 82,5	608	71,7 ^b	8,7 ^b	6,3 ^b
83 - 94	663	65,1 ^c	8,6 ^b	5,6 ^c
VAP (%)	1925	NS	T	NS
56,5 - 90,4	638	64,9	8,1 ^a	5,3
90,5 - 102,8	650	65,7	8,8 ^b	5,7
83,2 - 120,06	637	65,8	8,5 ^{ab}	5,6
VSL (%)	1925	NS	T	NS
30,0 - 71,0	644	63,9	8,1 ^a	5,2 ^a
71,1 - 83,1	643	66,7	8,8 ^b	5,8 ^b
83,2 - 120,0	638	65,6	8,5 ^{ab}	5,5 ^{ab}
Alh (μ)	1925	*	NS	NS
3,9 - 5,95	631	70,7 ^a	8,4	5,9
6,00 - 6,75	647	63,3 ^b	8,4	5,3
6,80 - 9,00	647	62,2 ^b	8,8	5,4
Conc (x10⁶ spz/ml)	1514	T	NS	T
28 - 609	504	63,0 ^a	8,3	5,2 ^a
610 - 881	514	70,2 ^b	8,5	6,0 ^b
882 - 1884	496	67,6 ^b	8,5	5,8 ^{ab}
NspzTD (x10⁶ spz/ml)	1473	NS	NS	*
0,56 - 19,29	491	63,9	8,2	5,2 ^a
19,30 - 29,59	489	68,4	8,4	5,8 ^{ab}
29,60 - 85,19	493	69,4	8,8	6,1 ^b
NspzMD (x10⁶ spz/ml)	1407	T	T	T
3,71 - 16,69	473	62,8 ^a	8,1 ^a	5,0 ^a
16,70 - 26,73	462	65,1 ^a	8,9 ^b	5,8 ^b
26,74 - 69,50	472	70,6 ^a	8,6 ^{ab}	6,1 ^b

NS : effet non significatif, T, *, ** et *** : effet significatif respectivement à 10%, 5%, 1% et 1%,

Dans une même colonne, pour une même caractéristique de la semence, les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).

amorces de mouvement de vagues), par le pourcentage de cellules motiles observé par analyse d'images (+ 8 points de fertilité quand il augmente de 84 à 93 %), par le pourcentage de cellules rapides (+12 points de fertilité quand il croît de 75 à 83 %). Alh influence la fertilité dans un sens inattendu (-7 points de fertilité pour une augmentation de 6 à 6,8 μ). En effet, le déplacement latéral de la tête est supposé être en relation avec la force avec laquelle les spermatozoïdes pénètrent la zone pellucide de l'oocyte (Verstegen *et al.*, 2002). La fertilité n'est que plus faiblement influencée (P<0,10) par la concentration et le nombre de spermatozoïdes motiles dans la dose d'insémination. Cependant, elle augmente de +7,8 points quand le nombre de

spermatozoïdes vivants dans la dose augmente de 17 à au moins 27 x 10⁶ spz. Ce résultat est conforme aux conclusions de Castellini et Lattaioli (1999) et Theau-Clément *et al.* (2003). More O'Ferral et Meacham (1968), Bencheikh (1995), Brun *et al.* (2002) et Tussel *et al.* (2011) ont mis en évidence une liaison négative et significative entre le pH et la fertilité. En effet, lié à une activité métabolique plus importante, un pH plus faible est généralement favorable à l'expression de la fertilité. Dans notre expérience, un pH élevé s'accompagne bien d'une fertilité plus faible, cependant la différence n'est pas significative. La prolificité (nés vivants) est significativement influencée (P<0,01) par le pourcentage de cellules motiles et rapides. Ainsi au-delà de 84 % de

spermatozoïdes motiles ou 75 % des spermatozoïdes rapides, un gain de 0,6-0,7 né vivant est obtenu. Ce gain ne s'exprime que sous forme de tendance ($P < 0,10$) pour la motilité massale, VAP, VSL et le nombre de spermatozoïdes motiles contenus dans la dose d'IA. Comme pour la fertilité, une élévation de pH se traduit par une diminution de la prolificité. Ni Alh, ni la concentration, ni le nombre de spermatozoïdes totaux n'influencent significativement la taille de portée à la naissance.

En conséquence, la motilité massale et le pourcentage de cellules motiles influencent significativement la productivité des lapines. Ainsi quand la semence présente au moins des amorces de mouvements de vague, ou quand le pourcentage de cellules motiles est supérieur à 84 %, il est obtenu en moyenne un gain de 1 né vivant par portée. Malgré le tri initial de la semence, notamment sur la motilité massale, une marge de progrès est donc encore possible. Il est intéressant de noter un gain de 1,5 lapereau quand le pourcentage de cellules rapides passe de 75 à 83 % alors que la productivité chute significativement au-delà de ce seuil, traduisant une liaison non linéaire. Un métabolisme trop important pourrait entraîner une diminution trop rapide des réserves nutritives et/ou une accumulation des déchets du métabolisme défavorables au pouvoir fécondant. Le nombre de spermatozoïdes totaux ou motiles contenus dans la dose d'IA influence la productivité (respectivement : + 0,9, $P < 0,05$ et 1,1 né vivant/portée, $P < 0,10$). Sur un troupeau contenant des lapines réceptives et non-réceptives, au-delà de 20 millions de spermatozoïdes totaux ou 17 millions de spermatozoïdes motiles par dose, la productivité n'augmente pas significativement. Ni le pH, ni VAP, ni VSL, ni Alh n'influencent la productivité.

Dans une étude antérieure, Brun *et al.* (2002) observaient que les critères qualitatifs de la semence (motilité) influençaient plutôt la fertilité alors que les critères quantitatifs (concentration) étaient plutôt liés à la taille de portée. Nos observations confirment l'influence des caractères qualitatifs (Motm, Pmot, Prap et Alh) sur la fertilité, mais pas l'influence de la concentration sur la taille de portée. A défaut de système sophistiqué d'analyse d'images pour évaluer la motilité de la semence, une simple observation au microscope apporte une bonne information puisque la corrélation entre les deux mesures présente une corrélation élevée ($r = 0,76$).

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'analyser les relations qui existent entre les caractéristiques de la semence de lapin et son pouvoir fécondant après insémination. La fertilité est influencée par la motilité massale estimée par une simple observation au microscope et par le pourcentage de cellules motiles, rapides et le déplacement latéral de la tête des spermatozoïdes estimés par analyse d'images. Dans une moindre mesure, la prolificité est influencée par le pourcentage de cellules motiles et rapides. En conséquence, un

gain moyen de 1 lapereau né vivant par portée est obtenu quand la semence présente au moins des amorces de mouvement de vague ou un pourcentage de cellules vivantes supérieur à 84%. Cependant, nous mettons en évidence des effets de seuil au-delà duquel la fertilité n'augmente plus (Pmot, NspzVD), voire diminue (Prap).

De par la corrélation génétique élevée de Pmot avec la plupart des autres caractéristiques de la semence, quelles soient quantitatives ou qualitatives et du fait de son héritabilité élevée, Brun *et al.* (2009) concluaient que Pmot était un critère de choix pour sélectionner la semence. La connaissance de la corrélation génétique entre Pmot et la fécondance, nous permettra d'évaluer la pertinence de sélectionner sur ce caractère.

Remerciements

Les auteurs remercient les techniciens de l'élevage expérimental lapin d'Auzeville ainsi que J. Falières et B. Pena-Arnaud pour leur précieuse collaboration tout au long de cette expérimentation.

Références

- BENCHEIKH N. 1995. Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. *Ann. Zoot.*, 44: 263-279.
- BRUN JM, THEAU-CLÉMENT M, ESPARBIÉ J, FALIÈRES J, SALEIL G, LARZUL C. 2006. Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63-d body weight. *Theriogenology*, 66:2165-2172.
- BRUN JM, THEAU-CLEMENT M, BOLET G. 2002. The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 70,139-149.
- BRUN JM, SANCHEZ A, DUZERT R, SALEIL G, THEAU-CLEMENT M. 2009. Paramètres génétiques des caractéristiques de la semence de lapin. *13èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Le Mans, France, 17-18 Novembre 2009, 133-136.
- CASTELLINI C. and LATTAIOLI P. 1999. Effect of motile sperms inseminated on reproductive performance of rabbit does. *Animal Reproduction Science*, 57, 111-120.
- LAVARA R, MOCE E, LAVARA F, VIUDES DE CASTRO MP, VICENTE JS. 2005. Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits?. *Theriogenology*, 64: 1130-1141.
- MORE O'FERRAL G.J, MEACHAM TN. (1968). Relationships between pH, other semen traits and fertility in rabbits. In : *6ème Congrès International de Reproduction Animale et Insémination artificielle*. 22-26 juillet 1968. Paris, INRA, Vol 2, 1279-1281
- THEAU-CLEMENT M., DELHOMME G., VALTEAU C., RIDEAUD P., FALIERES J., MERCIER P. 2003. Influence du nombre de spermatozoïdes inséminés sur les performances de reproduction des lapines en fonction de leur état physiologique. *10èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 nov. 2003, Paris, 73-76.
- TUSSEL L, LEGARRA A, GARCIA-TOMÁS M, RAFEL O, RAMON J, PILES M. 2011. Different ways to model biological relationships between fertility and pH of the semen in rabbits. *Journal of Animal Science*, Vol. 89(5): 1294-1303.
- VERSTEGEN J., IGUER-OUADA M., ONCLIN F. 2002. Computer assisted semen analyses in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, 57: 149-179.