

Caractéristiques des cornes utérines et des fœtus dans deux lignées divergentes sélectionnées sur l'homogénéité du poids des lapereaux à la naissance

G. BOLET¹, M. THEAU-CLEMENT¹, C. PAUTOT², A. TIRCAZES-SECUA¹,
J.M. BONNEMERE³, D. LABATUT³, A. AUVERGNE²

¹INRA, UR 631 SAGA, 24 chemin de Borde Rouge, 31326, Auzeville, France

²ENSAT, UMR 1289 TANDEM, avenue de l'Agrobiopole, 31326, Auzeville, France

³INRA, UE 1322 PECTOUL, 24 chemin de Borde Rouge, 31326, Auzeville, France

Résumé. La souche INRA 2266 est constituée de deux lignées divergentes sélectionnées pour augmenter (homogène : HOM) ou diminuer (hétérogène : HET) l'homogénéité intra-portée du poids des lapereaux à la naissance. Pour analyser le déterminisme génétique et physiologique de la divergence entre les lignées, 110 femelles de la 14^{ème} génération ont reçu par transfert 8 embryons de la souche INRA 1777 dans une corne utérine, aucun dans l'autre, et ont été sacrifiées à 21 ou 28 jours de gestation. Cette expérience confirme que les cornes utérines de la lignée HOM sont plus longues et plus aptes à s'allonger. Par contre, elle met en évidence que, si les fœtus sont tous de même génotype, indépendamment des lignées sélectionnées, il n'y a pas de différence d'homogénéité des portées et les fœtus placés dans la lignée HET sont plus lourds. Il y a donc une interaction entre le milieu utérin et le génotype des lapereaux qu'il est nécessaire de davantage explorer.

Abstract. Characteristics of the uterine horns and foetuses in two divergent lines selected on the homogeneity of weight of rabbits at birth. The INRA 2266 strain consists of two divergent lines selected to increase (homogeneous HOM) or decrease (heterogeneous HET) the within-litter homogeneity of young weight at birth. To analyse the genetic and physiological determinism of the divergence between the lines, 110 females from the 14th generation received by transfer eight embryos of the INRA 1777 strain in a uterine horn, none in the other, and were sacrificed at 21 or 28 days of gestation. This experiment confirms that the uterine horns of the HOM line are longer and more extensible. On the other hand, it highlights that if the foetus are all of the same genotype, independent of the selected lines, there is no difference of homogeneity of litters and foetuses placed in the HET line are heavier. So there is an interaction between the uterine environment and genotype of rabbits it is necessary to further explore.

Introduction

La souche INRA 2266, issue de la souche AGP22 de Grimaud Frères Sélection, est constituée de deux lignées divergentes sélectionnées pour augmenter (homogène : HOM) ou diminuer (hétérogène : HET) l'homogénéité intra-portée du poids des lapereaux à la naissance. Une réponse directe significative à la sélection a été observée en 4^{ème} et 10^{ème} générations (Garreau *et al.*, 2008, Bodin *et al.*, 2010), ainsi qu'une réponse indirecte, en faveur de la lignée "homogène", sur la viabilité à la naissance et sous la mère. Par ailleurs, une différence significative entre les deux lignées pour la longueur et la capacité d'élongation des cornes utérines a été mise en évidence en 4^{ème} et 6^{ème} générations (Bolet *et al.*, 2007a, 2007b). En 9^{ème} génération, une étude a confirmé les différences de longueur des cornes utérines entre les deux lignées, et mis en évidence une différence entre lignées pour l'espacement entre les sites d'implantation (Layssol *et al.*, 2009).

L'ensemble de ces données suggère donc que les caractéristiques de l'utérus constituent un élément essentiel d'explication de la divergence entre lignées. Pour vérifier cette hypothèse, une nouvelle expérience a été réalisée dans le but de caractériser et de comparer les utérus des lapines des deux lignées divergentes à la fin d'une gestation avec des fœtus en

nombre identique et de même génotype, grâce au transfert d'embryons.

1. Matériel et méthodes

1.1. Animaux

Trois à cinq jours après le sevrage de la portée issue de leur 3^{ème} insémination artificielle, 110 femelles de la 14^{ème} génération de la souche INRA 2266, consistant en deux lignées divergentes sélectionnées sur l'homogénéité intra-portée du poids des lapereaux à la naissance (Garreau *et al.*, 2008) ont reçu une injection (i.m.) de 0,5 ml de GnRH (Réceptal[®], Intervet, France) afin de les préparer au transfert d'embryons. Simultanément, 140 femelles donneuses nullipares de la souche INRA 1777 ont été inséminées avec un mélange hétérospermique de semence de mâles INRA 1777. Elles ont été sacrifiées 48 heures après et les embryons ont été récupérés par perfusion des cornes utérines. Immédiatement après, 8 embryons étaient transférés par voie chirurgicale (incision latérale pour introduire les embryons par le pavillon après anesthésie) dans la corne utérine droite des receveuses, l'autre corne restant vide afin de constituer un témoin. Les inséminations des donneuses, la stimulation des donneuses et les transferts se sont déroulés sur deux séries de 3 jours, de janvier à mars 2013, afin de réaliser 15 à 18 transferts par jour.

La moitié des lapines receveuses ont été sacrifiées à J21 (21 jours après l'injection de GnRH), l'autre moitié à J28. Après sacrifice par éthernarcose et saignée, une incision de la paroi abdominale a été pratiquée pour retirer l'ensemble de l'appareil génital ; les deux cornes utérines ont été séparées et fermées par un clamps à leur extrémité vaginale. Les mesures suivantes ont été réalisées :

- Le tractus étant posé à plat sur une table lumineuse, dénombrement des vaisseaux sanguins par site d'implantation.

- Pesée des ovaires et comptage des corps jaunes.

- Ouverture de la corne utérine droite par incision longitudinale du côté opposé à l'attache au conjonctif, extraction de chaque ampoule fœtale avec son placenta soigneusement détaché du placenta maternel, détermination de l'état de chaque site et de chaque fœtus, pesée de chaque ampoule fœtale, du placenta seul puis du fœtus seul, mesure de la longueur totale du fœtus de la pointe du nez à l'attache de la queue puis de la longueur du tronc, de l'omoplate à l'attache de la queue.

- Les cornes utérines ont été scannées afin de mesurer ultérieurement leur longueur et leur surface à l'aide du logiciel ImageJ.

- Des tronçons des cornes utérines ont été prélevés : 5 cm de la partie centrale de la corne gauche vide et deux fragments de la corne droite gestante, le premier du 1er site côté vaginal au 2ème site inclus, le deuxième entre le bord externe des deux sites les plus centraux. Ils ont été placés dans un texturomètre ; chaque extrémité étant fixée entre les mors de la pince. On a utilisé un capteur de 50 Newtons, à une vitesse de déplacement de 50 mm/mn pour mesurer la force, l'énergie et l'allongement maximum des fragments de corne dans la phase élastique de l'allongement, puis la force et l'énergie nécessaires pour atteindre la rupture de la corne.

1.1. Analyses statistiques

Les données ont été analysées par analyse de variance à l'aide du logiciel SAS (Procédure GLM). Après des analyses préalables destinées à éliminer les interactions non significatives, les effets principaux suivants ont été retenus :

- Pour les caractéristiques des femelles et des fœtus : la lignée (HOM vs. HET), la série (1^{ère} vs. 2^{ème}), le stade (J21 vs. J28), et le nombre de fœtus vivants (1-2, 3-4, 5-6, 7-8).

- Pour les caractéristiques des fœtus, nous avons analysé l'effet de leur position dans la corne (côté vagin, côté oviducte, intermédiaire) sur le sous-échantillon des cornes avec au moins 3 fœtus vivants.

2. Résultats

Les résultats analysés proviennent de 80 femelles gestantes

2.1. Caractéristiques des lapines et des cornes utérines

Les femelles HOM sont significativement moins lourdes que les femelles HET (-378 ± 100 g). Le

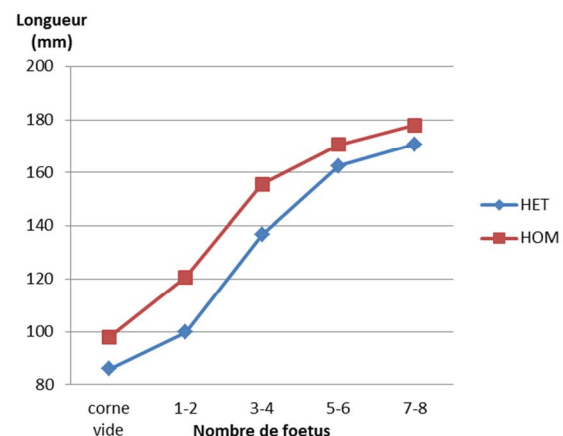
poids des ovaires est significativement plus élevé alors que le nombre de corps jaunes par ovaire est significativement plus faible. Après transfert de 8 embryons dans l'oviducte droit, le nombre de fœtus à 21 ou 28 jours ne diffère pas significativement entre les deux lignées (tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des lapines et des cornes utérines (estimées des moindres carrés de l'effet lignée à J21 et J28 \pm écart-type)

	HOM	HET	P
Poids lapine (g)	4597 \pm 66	4976 \pm 72	***
Nombre fœtus	4,3 \pm 0,3	4,0 \pm 0,4	NS
Poids ovaire (g)	0,55 \pm 0,01	0,47 \pm 0,01	***
Corps jaunes/ovaire	6,8 \pm 0,2	7,8 \pm 0,3	**
Corne utérine droite gestante			
Poids pleine (g)	160 \pm 12	182 \pm 13	NS
Poids vide (g)	30 \pm 2	32 \pm 2	NS
Longueur vide (mm)	158 \pm 4	143 \pm 5	*
Surface (mm ²)	6737 \pm 154	6293 \pm 175	*
Corne utérine gauche non gestante			
Longueur (mm)	98 \pm 3	86 \pm 3	*
Poids (g)	7,4 \pm 0,3	8,3 \pm 0,4	*
Longueur (mm)	98 \pm 3	86 \pm 3	*
Surface (mm ²)	2556 \pm 81	2571 \pm 89	NS

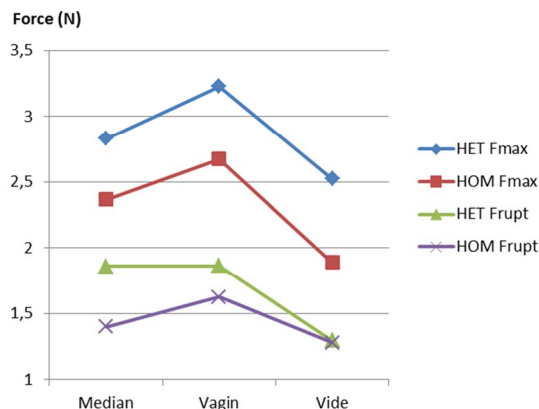
Les cornes utérines sont significativement plus longues dans la lignée HOM que dans la lignée HET. Ceci est vrai pour la corne gauche vide et la corne droite gestante, sans interaction significative avec le nombre de fœtus dans la corne (figure 1). La surface de la corne droite gestante est aussi supérieure dans la lignée HOM (6737 vs 6293 mm²).

Figure 1. Longueur des cornes en fonction de la lignée et du nombre de fœtus implantés (estimées des moindres carrés de l'effet lignée à J21 et J28)



La force à appliquer pour provoquer l'élongation élastique maximale ou la rupture de la corne est significativement plus faible dans la lignée HOM que dans la lignée HET (figure 2). L'allongement maximum du fragment de corne ne diffère pas significativement entre les deux lignées.

Figure 2. Forces maximales (Fmax) et forces de rupture (Frupt) selon la lignée et le tronçon de corne utérine (estimées des moindres carrés de l'effet lignée à J21 et J28).



2.2. Caractéristiques des ampoules fœtales et des fœtus

Les fœtus, qui appartiennent tous à la souche INRA1777 ont été transférés à raison de 8 dans

l'oviducte droit. La variabilité intra-portée du poids et de la longueur des fœtus, mesurée par leur écart-type ne diffère pas significativement entre les femelles des deux lignées.

Pour les fœtus qui se sont développés après transfert, l'ampoule fœtale et le placenta sont significativement plus lourds à J21 et J28 dans la lignée HET ; les fœtus sont significativement plus lourds et plus longs dans la lignée HET à J28, mais pas à J21 (tableau 2 pour J28).

La position du fœtus dans la corne utérine n'a aucun effet significatif à J21 ; elle a un effet significatif sur le poids de l'ampoule, du placenta et du fœtus à J28 : les poids côté oviducte sont significativement supérieurs à ceux des fœtus en position médiane, ceux côté vagin étant intermédiaires. Le nombre de vaisseaux sanguins par ampoule fœtale ne diffère pas significativement entre les deux lignées, ni entre les positions des fœtus dans la corne utérine. Pour toutes ces variables, il n'y a aucune interaction significative entre la lignée et la position des fœtus dans la corne.

Tableau 2. Caractéristiques des ampoules fœtales et des fœtus à 28 jours de gestation

	Lignée			Position			
	HOM	HET	P	Vagin	Médian	Oviducte	P
Nombre vaisseaux	7,6 ± 0,3	7,6 ± 0,5	NS	7,4 ± 0,5	7,4 ± 0,4	8,0 ± 0,5	NS
Poids ampoule (g)	50,5±0,9	58,1 ± 1,1	***	54,1±1,3 ^{ab}	52,0±0,9 ^a	56,9±1,3 ^b	**
Poids placenta (g)	5,3 ± 0,2	6,4 ± 0,2	***	6,0 ± 0,2 ^{ab}	5,4 ± 0,2 ^a	6,1± 0,2 ^b	**
Poids fœtus (g)	41,3±0,7	45,9 ± 0,8	***	43,7±1,0 ^b	42,2±0,7 ^a	44,9±1,0 ^b	*
Longueur fœtus (mm)	93,3±0,6	97,2 ± 0,8	***	95,2 ± 0,9	94,6± 0,6	95,9± 0,9	NS
Longueur tronc (mm)	68,7±0,5	70,4 ± 0,6	*	70,0 ± 0,8	69,0± 0,5	70,0± 0,8	NS

3. Discussion

Ces résultats ne confirment que partiellement les résultats obtenus dans les générations précédentes de cette expérience de sélection divergente et conduisent à des hypothèses supplémentaires sur le déterminisme génétique et physiologique de la divergence entre les deux lignées.

On retrouve bien les différences entre lignées de certaines caractéristiques des cornes utérines: la longueur initiale des cornes utérines de la lignée HOM est supérieure à celle de la lignée HET, quel que soit l'état physiologique (Bolet *et al.*, 2007a, 2007b, Layssol-Lamour *et al.*, 2009). Par rapport aux expériences précédentes, les propriétés des cornes ont été mesurées avec plus de précision grâce au texturomètre. La nécessité d'appliquer une force plus élevée dans la lignée HET pour obtenir l'allongement élastique maximum est cohérente avec les différences d'élongation observées précédemment en appliquant un poids croissant (Bolet *et al.*, 2007a, 2007b). Ceci peut être mis en relation avec leur plus faible teneur en collagène (Manse *et al.*, données non publiées).

Par contre, on observe une importante différence de poids entre les femelles des deux lignées, en faveur de la lignée HET (+ 378g). Ce résultat n'avait pas été observé jusqu'à présent et demande à être vérifié.

Quel que soit le stade de développement des fœtus, on n'observe aucune différence significative de variabilité de poids intra-portée entre les lapines receveuses des deux lignées, malgré des caractéristiques différentes des cornes utérines décrites ci-dessus. Ce résultat ne confirme pas les observations antérieures effectuées à la naissance, quand les fœtus ne sont pas issus d'un transfert et appartiennent donc à la même souche que la mère (Garreau *et al.*, 2008, Bodin *et al.*, 2010).

Les fœtus transférés dans les femelles de la lignée HET sont significativement plus lourds à 28 jours de gestation, de même que les placentas. Ce résultat est confirmé même quand on introduit le poids de la lapine en covariable, pour tenir compte de la différence de poids des deux lignées ; cela ne semble donc pas dû à un effet maternel lié au poids supérieur des receveuses HET.

Aucune différence de poids moyen des lapereaux entre souches n'avait été mise en évidence auparavant (Garreau *et al.*, 2008). Layssol-Lamour *et al.* (2009) avaient obtenu le résultat inverse pour les fœtus à 28 jours de gestation appartenant à la lignée de leur mère (sans transfert).

La supériorité de poids des fœtus du côté des ovaires confirme les données bibliographiques (Lebas, 1982, Santacreu *et al.*, 1994; Poigner *et al.*, 2000). Cependant, contrairement à Santacreu *et al.* (1994), nous n'observons aucune différence significative d'irrigation sanguine des fœtus, estimée par le nombre de vaisseaux au site d'implantation, en fonction de leur place dans la corne utérine.

Conclusion

Dans les analyses précédentes de cette expérience, nous concluons que la réponse à la sélection sur l'homogénéité du poids des lapereaux intra-portée était due aux caractéristiques de la corne utérine, plus longue et s'allongeant davantage dans la lignée HOM. Si cette expérience confirme bien cette observation sur les cornes utérines, elle met par contre en évidence que, si les fœtus sont tous de même génotype, indépendant des lignées sélectionnées, il n'y a pas de différence d'homogénéité des portées. Il y a donc une interaction entre le milieu utérin et le génotype des lapereaux qu'il est nécessaire de davantage explorer.

Remerciements

Nous remercions H. Rémignon et X. Fernandez pour leur participation à l'élaboration du protocole, E. Balmisse, directrice de l'UE PECTOUL ainsi que J. Ruesche.

Références bibliographiques

- BODIN L., GARCIA M., SALEIL G., BOLET G., GARREAU H., 2010. Results of 10 generations of canalising selection for rabbit birth weight. *9th World Congress on genetics applied to livestock production*, Leipzig, Allemagne, 1-6 août 2010, 0391.
- BOLET G., GARREAU H., HURTAUD J., SALEIL G., ESPARBIE J., FALIERES J., THEAU-CLEMENT M., BODIN L., 2007a. Sélection sur la variabilité du poids des lapereaux à la naissance. Réponses à la sélection et caractéristiques de l'utérus des lapines. *12èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Le Mans, 27-28 novembre 2007, ITAVI pp. 133-136.
- BOLET G., GARREAU H., JOLY T., THEAU-CLEMENT M., FALIERES J., HURTAUD J., BODIN L., 2007b. Genetic homogenisation of birth weight in rabbits: Indirect selection response for uterine horn characteristics. *Livest. Sci.*, 111, 28-32.
- GARREAU H., BOLET G., LARZUL C., ROBERT-GRANIE C., SALEIL G., SANCRISTOBAL M., BODIN L., 2008. Results of four generations of a canalising selection for rabbit birth weight. *Livest. Sci.*, 119, 55-62.
- LAYSSOL-LAMOUR C., HURTAUD J., SALEIL G., LAPERRUQUE F., TIRCAZES A., RUESCHE J., BOLET G., 2009. Suivi par échographie et sacrifice à J28 du développement embryonnaire et foetal dans deux lignées divergentes de lapins sélectionnées sur l'homogénéité du poids des lapereaux à la naissance. In *Proc : 13èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Bolet G. (Ed.) ITAVI, publ. 17-18 Novembre 2009, Le Mans, France, 145-148.
- LEBAS F., 1982. Influence de la position in utero sur le développement corporel des lapereaux. In *Proc : 3èmes Journées de la recherche cunicole*, ITAVI, Paris.
- POIGNER J., SZENDRO ZS., LEVAI A., BIRO-NEMETH E., RADNAI I., 2000. Weight of new-born rabbits in relation to their number and position within the uterus in unilaterally ovariectomised does. *World Rabbit Sci.*, 8, supp. 1, A231-237.
- SANTACREU M.A., CLIMENT A., ARGENTE M.J., BLASCO A., 1994. Caractéristiques, irrigation sanguine et survie des fœtus dans deux lignées de lapins sélectionnées de façon divergente pour l'efficacité utérine. In *Proc. : 6èmes Journées de la recherche cunicole*, J.M. Perez (Ed.) ITAVI, publ. 6-7 décembre 1994, La Rochelle, France, vol1, pp. 247-253.