

ETUDE COMPARATIVE DES STRUCTURES OVARIENNES DES LAPINES EN FONCTION DE LEUR RECEPTIVITE AU MOMENT DE L'ACCOUPEMENT ET DU STADE *POST COITUM*

Z. BOUMAHDI-MERAD¹, M. THEAU-CLEMENT², R. BELABBAS¹, R. KAIDI¹

¹Laboratoire des biotechnologies liées à la reproduction animale, Université de Saad Dahleb, Blida, Algérie

²INRA, UR631 SAGA, F-31326 Castanet-Tolosan, France

Résumé. L'objectif de notre travail était une étude comparative des ovaires de lapines en fonction de leur réceptivité sexuelle. Un total de 60 lapines d'une population locale algérienne ont été réparties en 3 lots selon l'expression de leur réceptivité au moment de la présentation à un mâle : réceptives (R⁺), non-réceptives avec saillie assistée (R⁺SA), non-réceptives avec saillie assistée et injection de GnRH (R⁺SA+GnRH). Elles étaient pesées puis sacrifiées de 0 à 14h *p.c.* afin d'étudier les structures ovariennes. Les lapines des lots R⁺ et R⁺SA ont un nombre de follicules préovulatoires plus élevé que celles du lot R⁺SA+GnRH (+60 %, P<0,05). La fréquence d'ovulation est significativement influencée par la réceptivité des lapines et le stade *p.c.* Toutes les lapines réceptives ont ovulé à 10h *p.c.* alors que pour les non-réceptives, des ovulations sont encore constatées entre 10 et 14h. Le diamètre des follicules antraux des lapines du lot R⁺SA+GnRH est significativement plus élevé (722 vs 567, 604 µm respectivement pour R⁺ et R⁺SA), conséquence de l'injection de GnRH. En conclusion, la réceptivité des femelles et l'apport de GnRH ont une influence sur les structures ovariennes et la fréquence d'ovulation chez la lapine nullipare de population locale algérienne.

Abstract. Comparative study of ovarian structures of rabbits according to their sexual receptivity at mating and *post coitum* stage. The aim of that work was a comparative study of the ovaries of rabbits, based on their sexual receptivity at mating. A total of 60 rabbits of a local Algerian population were divided into 3 groups according to the expression of their sexual receptivity at the time of presentation to a male: receptive (R⁺), non-receptive + assisted mating (R⁺SA), non-receptive + assisted mating + an injection of GnRH (R⁺SA+GnRH). They were weighed and then sacrificed 0 to 14h *p.c.* to study ovarian structures. Females from groups R⁺ and R⁺SA had a higher number of preovulatory follicles than does of group R⁺SA+GnRH (60%, P < 0.05). The frequency of ovulation was significantly influenced by the receptivity of rabbits and the *p.c.* stage. All receptive does ovulated at 10h *p.c.* while for non-receptive, ovulations were still observed between 10 and 14h. The diameter of antral follicles rabbits lot of R⁺SA+GnRH was significantly higher (722 vs. 567, 604 microns for R⁺ and R⁺SA respectively) due to the injection of GnRH. In conclusion, sexual receptivity and an injection of GnRH influence ovarian structures and frequency of ovulation of nulliparous of local Algerian rabbits.

Introduction

La lapine est une espèce à ovulation provoquée par l'accouplement. Theau-Clément (2008) a montré que la productivité des femelles réceptives est trois à quatre fois plus élevée que celle des femelles allaitantes et non-réceptives. Ce résultat, est la conséquence de la supériorité chez les lapines réceptives, de la fréquence et de l'intensité de l'ovulation, du taux de fécondation et de la viabilité embryonnaire. Les travaux concernant l'étude morphométrique des ovaires et la croissance folliculaire sont souvent anciens (Kranzfelder *et al.*, 1984).

L'objectif de ce travail, est une étude comparative des structures ovariennes des lapines en fonction de leur réceptivité au moment de l'accouplement, et du stade *post coitum* (0h, 2h, 6h, 8h, 10h, 10h30, 11h, 12h, 13h et 14h *p.c.*).

1. Matériel et Méthodes

1.1. Animaux

Un total de 100 femelles nullipares de population locale algérienne, âgées de 4,5 à 5 mois, de poids homogène (1,800 kg ± 300g) et 5 mâles âgés de 7 mois ont été utilisés. Les animaux étaient nourris *ad*

libitum avec un granulé du commerce, et soumis à un éclairage naturel.

1.2. Protocole expérimental

A partir de notre troupeau de base, trois lots de 20 lapines sont considérés en fonction du résultat du test de présentation au mâle (réceptives, non-réceptives) décrit selon Caillol *et al.* (1983). Les lapines réceptives sont saillies (lot R⁺). Toutes les lapines non-réceptives après 2 jours consécutifs de présentation à 2 mâles (maximum 15 min) subissent une saillie assistée (lot R⁺SA), la moitié d'entre elles reçoivent en plus une injection de GnRH (injection intra musculaire de 0,2 ml de GnRH au niveau du râble (Gonadoréline, laboratoires SYVA Espagne), pour induire l'ovulation (lot R⁺SA+GnRH). Préalablement au test, les lapines sont pesées puis introduites dans la cage du mâle. Deux lapines par lot sont sacrifiées à dix stades *post coitum* (0h, 2h, 6h, 8h, 10h, 10h30, 11h, 12h, 13h et 14h *p.c.*). Une étude macroscopique des ovaires des 3 lots est réalisée aux différents stades. Dès leur exérèse, les ovaires sont pesés, on dénombre à leur surface les follicules préovulatoires de diamètre supérieur à 1 mm (technique de Lorenzo *et al.*, 1996), les follicules hémorragiques et les corps jaunes avec stigma

turgescent, nous permettant d'analyser la fréquence et l'intensité d'ovulation. Tous les ovaires sont fixés dans une solution de formaldéhyde à 10% pour la réalisation ultérieure des coupes histologiques. L'étude microscopique permet de mesurer le diamètre des follicules antraux (contenant plusieurs petites cavités antrales ou une grande cavité antrale unique), selon la technique de Gougeon et Chainy (1987). Les corps de Call et Exner sont dénombrés au sein de la granulosa. Ils ont été décrits chez la lapine par Motta (1965) et Gosden *et al.* (1989). Sous leur aspect le plus typique, ils sont constitués d'une couronne de cellules de la *granulosa* disposée autour d'une cavité pleine d'un liquide semblable au liquide folliculaire.

1.3. Analyse statistique

Le poids des lapines au moment de la présentation a été analysé au moyen d'une analyse de variance en prenant l'effet fixé du lot (3 niveaux : lots R⁺, R⁻+SA et R⁻+SA+GnRH). Le poids des ovaires, le nombre de follicules préovulatoires, hémorragiques, corps jaunes avec stigma turgescent, corps de Call et Exner et le diamètre des follicules antraux, ont été étudiés au moyen d'une analyse de variance prenant en compte l'effet fixé du lot (3 niveaux : lots R⁺, R⁻+SA et R⁻+SA+GnRH), du stade *post coïtum* (10 niveaux : 0h, 2h, 6h, 8h, 10h, 10h30, 11h, 12h, 13h, et 14h) ainsi que l'interaction lot x stade. La fréquence d'ovulation a été analysée selon le même modèle d'analyse en considérant que l'ovulation suit une loi de Bernoulli (variable 0-1).

2. Résultats

Au moment de la présentation, les lapines pesaient en moyenne $2,028 \pm 0,125$ kg. Les lapines réceptives sont légèrement plus lourdes que les non-réceptives (2,010 vs 1,979 kg, $P < 0,05$). Le poids des ovaires ne varie pas en fonction du lot et du stade *p.c.* et n'interagit pas avec l'expression de la réceptivité sexuelle des lapines. Le nombre de follicules préovulatoires varie significativement en fonction de la réceptivité sexuelle ($P < 0,05$, tableau 1). En effet, les lapines réceptives et non-réceptives ayant subi une saillie assistée ont un nombre de follicules préovulatoires plus élevé que les lapines non-réceptives ayant subi une saillie assistée suivie d'une injection de GnRH (respectivement +68% et +27%, $P < 0,05$). Le nombre de follicules préovulatoires varie significativement en fonction du stade ($P < 0,05$). En effet, à partir de 12 h *p.c.*, ce nombre diminue généralement et à 14h *p.c.*, il chute de manière drastique sauf chez les lapines réceptives (interaction lot*stade). Ce résultat suggère qu'après l'ovulation, les lapines réceptives ont encore une réserve non négligeable de follicules préovulatoires. Le nombre de follicules hémorragiques n'est influencé ni par la réceptivité, ni par le stade physiologique des lapines dans la phase *p.c.* La fréquence d'ovulation varie selon la réceptivité des lapines et le stade *p.c.* Les lapines réceptives ovulent plus fréquemment que les

non-réceptives non traitées à la GnRH (60 vs 30% ; $P < 0,05$). Toutes les lapines réceptives ont ovulé à 10h *p.c.* alors que pour les non-réceptives des ovulations sont encore constatées entre 10 et 14h. Le traitement avec GnRH n'a pas permis d'améliorer significativement la fréquence d'ovulation des lapines non-réceptives, bien qu'on observe une différence de 10 % en faveur des lapines traitées (respectivement 40 et 30%). Le nombre de corps jaunes avec stigma rouge et turgescent correspondant à des ovulations récentes, n'est pas influencé par la réceptivité sexuelle des lapines. En revanche, il diffère significativement avec le stade *p.c.* En effet, la première ovulation n'est observée qu'à partir de 10h *p.c.* A 12h et 14h *p.c.*, le nombre de corps jaunes est significativement plus élevé qu'aux autres stades. Le diamètre des follicules antraux (tableau 2) diffère significativement en fonction du lot. Il est plus élevé chez les lapines non-réceptives R⁻ ayant subi une saillie assistée et traitées avec la GnRH (respectivement 722 vs 567 et 604µm, pour les R⁺ et R⁻ SA, $P < 0,001$). En revanche il ne varie pas significativement en fonction du stade *p.c.* Les lapines non-réceptives, avec saillie assistée et GnRH ont un nombre de corps de Call et Exner significativement plus élevé (respectivement 3,99 vs 2,81 et 3,20 pour les R⁺ et R⁻+SA). Cependant, le lot et le stade *p.c.* interagissent sur le nombre de corps de Call et Exner ($P < 0,001$). En effet on remarque chez les seules lapines R⁻ traitées à la gonadoréline, que le nombre de corps de Call et Exner est supérieur dans les heures qui suivent l'accouplement (de 0 à 2h *p.c.*).

3. Discussion

Le poids moyen des lapines de population locale kabyle à l'âge adulte est de 2,490 kg selon Berchiche et Kadi (2002) avec une très grande variabilité selon les régions de l'Algérie, dans notre essai, il est inférieur dû à leur âge (4,5-5 mois). Les lapines nullipares réceptives sont légèrement plus lourdes que les non-réceptives. Le poids des ovaires en moyenne de 0,28g, est comparable à celui enregistré par Belabbas *et al.* (2011) chez des femelles de même âge et de même parité. Le nombre de follicules préovulatoires évalué macroscopiquement est plus élevé chez les femelles en oestrus comparé notamment aux non-réceptives traitées à la GnRH. L'interaction lot*stade *p.c.* résulte de la chute du nombre de follicules préovulatoires après l'ovulation chez les réceptives. Lefèvre et Caillol (1978) et Kermabon *et al.* (1994), ont montré que le nombre de follicules préovulatoires est plus élevé chez les femelles réceptives comparé aux non-réceptives, nous ne retrouvons pas clairement ce résultat. La fréquence d'ovulation est doublée chez les réceptives. Outre les défauts d'ovulation, les non-réceptives se caractérisent aussi par des défauts de fécondation et/ou de mortalité embryonnaire totale (Theau-Clément, 2008). Le traitement des non-réceptives à la GnRH a légèrement amélioré leur fréquence d'ovulation (40%), cependant la différence n'est pas

Tableau 1. Etude macroscopique. Poids des ovaires, nombre de follicules, fréquence d'ovulation et nombre de corps jaunes au cours des 14 heures post coïtum. Résultat de l'analyse de variance (moyennes estimées).

	Effectif	Poids ovaire (g)	Follicules préovulatoires	Follicules hémorragiques	Fréquence ovulation(%)	Corps jaunes
<i>Moyenne générale</i>	60	0,275	3,4	0,5	43,3	2,5
Lot		NS	P<0,05	NS	P<0,05	NS
R ⁺	20	0,280	5,1 ^a	0,8	60,0 ^a	3,3
R ⁻ +SA	20	0,254	3,7 ^a	0,6	30,0 ^b	1,6
R ⁻ +SA+GnRH	20	0,292	1,6 ^b	0,1	40,0 ^{ab}	2,5
Stade p.c.		NS	P<0,05	NS	P<0,05	P<0,05
0h	6	0,275	6,2 ^a	0,8	0,0 ^a	0,0 ^a
2h	6	0,243	4,2 ^{ab}	0,0	0,0 ^a	0,0 ^a
6h	6	0,292	6,3 ^a	0,8	0,0 ^a	0,0 ^a
8h	6	0,250	5,3 ^{ab}	0,0	0,0 ^a	0,0 ^a
10h	6	0,238	2,7 ^{ab}	0,5	66,7 ^b	2,2 ^{ab}
10h30	6	0,297	3,7 ^{ab}	0,5	50,0 ^{ab}	3,2 ^{ab}
11h	6	0,327	2,2 ^{ab}	1,7	83,3 ^b	4,7 ^{ab}
12h	6	0,253	1,3 ^b	0,0	83,3 ^b	5,2 ^b
13h	6	0,267	1,8 ^{ab}	0,2	50,0 ^{ab}	2,8 ^{ab}
14h	6	0,308	0,8 ^b	0,0	100 ^b	6,5 ^b
Lot *stade		NS	P=0,020	NS	NS	NS

a, b désignent des différences significatives entre les moyennes au seuil de 5%.

Tableau 2. Etude microscopique. Diamètre des follicules antraux et dénombrement des corps de Call et Exner. Résultat de l'analyse de variance (moyennes estimées).

	Effectif	Diamètre follicules antraux (µm)	Nombre corps Call et Exner
<i>Moyenne générale</i>	422	640	3,32
Lot		P<0,001	P<0,001
R ⁺	156	567 ^a	2,81 ^a
R ⁻ +SA	123	604 ^a	3,20 ^a
R ⁻ +SA+GnRH	143	722 ^b	3,99 ^b
Stade p.c.		NS	P<0,001
0h	50	532 ^a	4,03 ^a
2h	45	714 ^b	3,64 ^a
6h	43	608 ^{ab}	2,64 ^{bc}
8h	43	718 ^b	3,51 ^{ac}
10h	38	595 ^{ab}	2,68 ^c
10h30	34	630 ^{ab}	3,70 ^a
11h	29	606 ^{ab}	2,72 ^c
12h	57	669 ^b	3,74 ^a
13h	42	542 ^a	3,95 ^a
14h	41	700 ^b	2,67 ^c
Lot*stade		NS	P<0,001

a, b, c désignent les différences significatives entre les moyennes au seuil de 5%.

significative. Sur l'intérêt de traiter les lapines non-réceptives avec la gonadoreline, nos résultats ne sont pas en accord avec les travaux de Theau-Clément *et al.* (1991). Ce résultat pourrait être la conséquence dans notre expérience d'un effectif trop faible. Par ailleurs, sur des lapines de chair de souche européenne, Theau-Clément *et al.* (1990), ont observé que plus de 95% des femelles réceptives au mâle ovulent après une saillie naturelle ou à la suite d'une injection de GnRH. Les lapines de cette population locale algérienne réceptives ont donc une fréquence d'ovulation faible (60%). Dans notre expérience, chez

les lapines ayant ovulé, le nombre de corps jaunes chez les femelles R⁺ et R⁻ non traitées à la GnRH sont proches (5,4 et 5,3). Ce taux d'ovulation est faible comparé aux femelles de même origine et de même parité (Belabbas *et al.*, 2011: 7 corps jaunes; Zerrouki *et al.*, 2009 : 10,7 corps jaunes). Ceci pourrait être la conséquence d'un système de conduite ne permettant pas l'expression de potentialités optimales des lapines.

La littérature ne nous renseigne pas sur la relation entre la réceptivité sexuelle, le diamètre des follicules

antraux, ou du nombre des corps de Call et Exner. Le diamètre des follicules antraux égal à 640µm est proche de celui obtenu par Zitny *et al.* (2004; 682µm) mais inférieur à celui obtenu par Kranzfelder *et al.*, (1984; 800µm). Il apparaît que les femelles du lot R⁻+SA+GnRH présentent des follicules antraux dont le diamètre est plus grand que celui des 2 autres lots. Ce résultat suggère que la sécrétion de FSH et LH induite par l'injection de GnRH, a augmenté la croissance folliculaire et probablement la prolifération de vésicules de Call et Exner au sein de la granulosa, conduisant à l'augmentation du volume du liquide folliculaire.

A 14h *p.c.*, le nombre de follicules préovulatoires chute de manière drastique, probablement dû à l'augmentation des taux circulants de LH sécrétée par l'hypophyse induisant l'ovulation. Toutes les lapines réceptives ont ovulé 10 heures après la saillie, alors que les non-réceptives ovulent entre 10 et 14 heures (respectivement 6 et 8 lapines sur 12 pour le lot R⁻+SA et le lot R⁻+SA+GnRH). Ce résultat est original, et ce délai d'ovulation pourrait expliquer des défauts de fécondation ou de mortalité embryonnaire totale des lapines non-réceptives. En effet, Thibault (1967) montre chez la lapine, que la fécondation avec des gamètes âgés (accouplement trop tôt ou trop tard après l'ovulation) pourrait être responsable d'anomalies chromosomiques responsables notamment d'avortements précoces. Ce retard d'ovulation pourrait être lié au nombre plus faible de follicules préovulatoires à la surface de l'ovaire et/ou à l'absence de récepteurs de LH à la surface des cellules de la granulosa susceptibles de répondre au pic préovulatoire de LH. Le diamètre des follicules antraux est élevé aux heures précédant l'ovulation, lié à l'augmentation rapide de la croissance folliculaire dans la phase pré-ovulatoire. A notre connaissance aucune étude n'a mis en relation le nombre de corps de Call et Exner avec la réceptivité sexuelle et le stade *post coitum*.

Conclusion

Ce travail original ne met pas en évidence de liaison entre la réceptivité sexuelle des lapines de population locale algérienne au moment de l'accouplement avec le poids des ovaires, le nombre de follicules hémorragiques, le nombre de corps jaunes dans les 14h *p.c.* En revanche, les lapines réceptives sont plus légèrement lourdes et ovulent plus fréquemment et plus rapidement que les non-réceptives. Une injection de GnRH peut légèrement augmenter la fréquence d'ovulation des lapines non-réceptives ainsi que le diamètre des follicules antraux et le nombre de corps de Call et Exner. Le rôle de ces derniers est aujourd'hui peu connu, leur présence et leur multiplication en nombre et en volume au sein de la granulosa des follicules antraux pourrait contribuer à l'augmentation du liquide folliculaire. Il conviendrait d'étudier sur un effectif beaucoup plus important,

l'intérêt d'une injection de GnRH sur des lapines refusant l'accouplement.

Références bibliographiques

- BELABBAS R., AINBAZIZ H., ILES I., ZENIA S., BOUMAHDI Z., BOULBINA I., TEMIM S., 2011. Etude de la prolificité et de ses principales composantes biologiques chez la lapine de population locale algérienne (*Oryctolagus cuniculus*). *Livestock Research for Rural Development*. V.23, n° 3.
- BERCHICHE ET KADI. 2002. The Kabyle rabbits (Algeria). In rabbit genetic resources in Mediterranean countries, *Options Méditerranéennes* série B CIHEAM Zaragoza N° 38: 11-20.
- CAILLOL M., DAUPHIN-VILLEMANT C., MARTINET L., 1983. Oestrogen behaviour and circulating progesterone and oestrogen levels during pseudopregnancy in the domestic rabbit. *J. Reprod. Fert.* V.69: 179-186.
- GOUGEON A., CHAINY G.B.N., 1987. Morphometric studies of small follicles in ovaries of women at different ages. *J. Reprod. Fert.*, 81, 433-442.
- Gosden, R.G., Brown, N., et Grant, K., 1989. Ultrastructural and histochemical investigations of Call Exner bodies in rabbit Graafian follicles. *J. Reprod. Fert.* V.85: 519-526.
- KERMABON A.Y., BELAIR L., THEAU-CLÉMENT M., SALESSE R., DJIANE J., 1994. Effects of anoestrus and bromocriptine treatment on the expression of prolactin and LH receptors in the rabbit ovary during lactation. *J. Reprod. Fert.* V. 102 : 131-138.
- KRANZFELDER D., KORR H., MESTWERDT W., MAURER-SCHULTZE B. 1984. Follicle growth in the ovary of the rabbit after ovulation-inducing application of human chorionic gonadotropin. *Cell. Tissue. Res.* V.238: 611-620.
- LEFEVRE B., CAILLOL M., 1978. Relationship of oestrus behaviour with follicular growth and sex steroid concentration in the follicular fluid in the domestic rabbit. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* V.18 n°6: 143-144.
- LORENZO P.L., REBOLLAR P.G., ILLERA M.J., ILLERA J.C., ILLERA M., ALVARINO J.M.R., 1996. Characterization of rabbit follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. *Arch. Zootec.* V.45: 25- 35.
- MOTTA, P., 1965. "Sur l'ultrastructure des corps de Call et d'Exner dans l'ovaire du lapin". *Cell and tissue research*, V.68, n°3 : 308-319.
- THEAU-CLEMENT, M., 2008. Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes d'induction de l'oestrus. *INRA Prod. Anim.*, V.21 n° 3 : 221-230.
- THEAU-CLEMENT M., THEBAULT R.G., BOLET G., DE ROCHAMBEAU H. 1991. La reproduction du lapin Angora de souche française: ovulation chez la femelle, production de semence chez le mâle. *Reprod. Nutr. Dev.* V.31 : 667-673.
- THEAU-CLEMENT M., BOLET G., ROUSTAN A., MERCIER P., 1990. Comparaison de différents modes d'induction de l'ovulation chez les lapines multipares en relation avec leur stade physiologique et la réceptivité au moment de la mise à la reproduction. *5^{ème} Journées de la Recherche Cunicole*. Paris (France), communication n° 7.
- THIBAUT C. 1967. Analyse comparée de la fécondation et de ses anomalies chez la brebis, la vache et le lapin. *Ann. Biol. Anim. Bioch., Biophys.* 7 (1): 5-23.
- ZERROUKI N., BOLET G., THEAU-CLÉMENT M. 2009. Etude des composantes biologiques de la prolificité des lapines de population locale algérienne. *13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 17-18 novembre, Le Mans France.
- ZITNÝ J., MASSÁNYI P., TRAKOVICKÁ A., RAFAJ J., TOMAN R. 2004. Quantification of the ovarian follicular growth in rabbits. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* V.48 : 37-40.