



Cirad
Campus de Baillarguet

34 398 MONTPELLIER Cedex 5

Document interne

L'insémination artificielle de la lapine. Note bibliographique

Par *Christian Meyer*

UR18 Systèmes d'élevage et produits animaux, Dep. Environnement et Société, Cirad, TA
C18/A, BP 5035, 34 398 Montpellier Cedex 5, France

Avril 2009

Résumé

L'insémination artificielle est une technique qui présente des avantages mais aussi des contraintes et qui est très employée pour les lapines, surtout dans des élevages en bande en France. L'appareil reproducteur des lapines présente certaines particularités, par exemple la présence de 2 utérus et de 2 cols utérins. L'ovulation est provoquée par le mâle. La gestation dure environ 1 mois : 30 ± 1 jours. La reproduction est fortement liée à la photopériode.

La récolte du sperme se fait au moyen d'un vagin artificiel dans la cage du mâle. Le sperme est examiné (volume et concentration surtout) et peut être dilué. Il peut être mis en place classiquement après déclenchement de l'ovulation par une injection de HCG ou de GnRH, rapidement, dans les 24 heures (réfrigération) avec de la semence fraîche, ou plus rarement conservé très longtemps avec de la semence congelée, en évitant les chocs thermiques. Les résultats sont variables, souvent proches de ceux de la saillie naturelle. La lapine est prolifique et peut produire 7 à 8 fois par an 7 à 8 lapereaux.

Mots-clés : Reproduction, insémination artificielle, lapine

The artificial insemination of rabbit. Review note

Abstracts

The artificial insemination technique has advantages and constraints and is commonly used for rabbits, mainly in band breeding in France. The rabbit reproductive system presents particularities such as 2 uteri and 2 cervices. Ovulation is induced by the male. Gestation lasts about 1 month : 30 ± 1 days. Reproduction is highly linked to photoperiod.

Semen collection is performed with an artificial vagina in the male cage. Sperm is examined (mainly volume and concentration) and can be diluted. It can be inseminated classically after ovulation activation with an injection of HCG or GnRH, rapidly, within 24 h (freezing) with fresh semen, or sometimes kept a long time with frozen semen, avoiding thermal shocks. Results are variable, often near those obtained through natural mating. The rabbit is prolific and can produce 7 to 8 young 7 to 8 times a year.

Key-words : Reproduction, artificial insemination, rabbit

Introduction

Le lapin domestique est apprécié pour sa viande, maigre, très riche en protéines et de grande qualité organoleptique. Il est très prolifique. L'élevage rationnel peut faire appel à la technique de l'insémination artificielle.

En France , les premiers essais d'inséminations artificielles ont eu lieu en 1923 par Staple pour des études de tératologie. Adams a publié la première description à peu près complète en 1961. La technique a ensuite dans les années 1970 été utilisée par l'INRA pour faciliter l'amélioration génétique du lapin de chair au centre de testage des lapins mâles de Toulouse. L'Itavi a testé l'insémination artificielle à la station expérimentale cunicole de Rambouillet en 1990 et 1991. Les éleveurs l'ont adopté à la fin des années 1980. La technique s'adresse à des éleveurs de haut niveau (Montaillé, 1992). En France près de 86 % des éleveurs l'utilisent maintenant.

Les **avantages** de l'insémination artificielle comparée à la saillie naturelle sont par exemple :

- Sélection des reproducteurs et diffusion plus rapide du progrès génétique.
- Diminution du prix de revient des lapereaux produits, souvent de meilleure qualité.
- Diminution du nombre de mâles à conserver, à loger, à nourrir, à soigner, etc.
- Elimination des animaux les moins productifs.
- Suppression de la hiérarchie sociale du troupeau, les sexes étant séparés.
- Amélioration de la fécondité quand elle est faible,
- Sélection des mâles selon leur pouvoir fécondant,
- Eradication de certaines maladies, liées au contact direct et à la circulation des animaux, et meilleur contrôle sanitaire de l'élevage.
- Entretien des mâles et des femelles en cage.
- Atténuation des effets des saisons.
- Synchronisation des naissances et des opérations d'élevage. Beaucoup de lapines peuvent être fécondées le même jour, avec un nombre de mâles raisonnable.
- La conduite en bandes uniques permet des avantages sanitaires importants et une meilleure organisation du travail, de plus en plus employée en France.
- Cryopréservation du sperme pour la conservation de ressources génétiques en danger (Kabli, 1993)

Des **inconvenients** existent :

- Nécessité d'une main-d'œuvre spécialisée compétente.
- Augmentation des investissements : batteries de cages surtout.
- Risque de diminuer le nombre des mâles reproducteurs et d'augmenter la consanguinité.

I. Bases anatomiques et physiologiques

A. L'appareil reproducteur

Chez la femelle

Les **ovaires** sont dans la cavité abdominale. Ils mesurent 1 à 1,5 cm sur 4-5 mm. Les vésicules de De Graaf et les corps jaunes sont très nombreux, et sur toute la surface de l'ovaire.

Les **2 utérus**, séparés, de 7 cm environ, débouchent par 2 cols jumeaux sur le vagin long de 6 à 10 cm (Aycardi, 1971 ; Lebas, 1996) (Figure 1).

Chez le mâle

Les **testicules** sont en position variable, internes, intra-abdominaux ou externes, dans un sac scrotal qui communique avec la cavité de l'abdomen. Le lapin peut les rentrer ou les sortir. Ils sont relativement gros et ovoïdes.

La **vésicule séminale**, unique, à la face supérieure de la vessie a des parois minces. La verge est courte (Aycardi, 1971 ; Lebas, 1996).

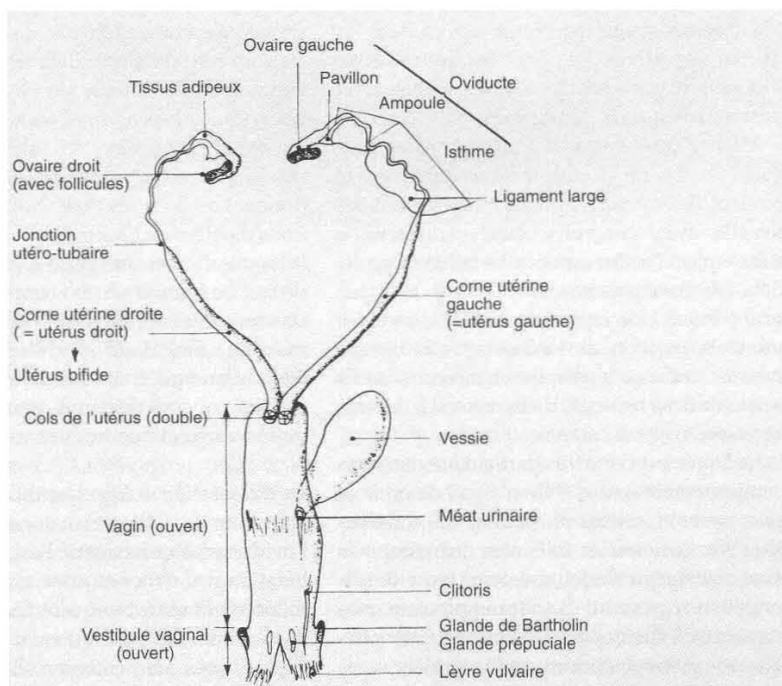


Figure 1 : L'appareil reproducteur de la lapine (Lebas, 1996)

B. Le sperme

Le volume du sperme est petit et le sperme est très concentré.

C. La fécondation

Le lapin est une espèce à ovulation provoquée. C'est la saillie du mâle qui déclenche l'ovulation de la lapine, en moyenne 48 heures (entre 10-12 et 72 heures) après. L'œuf arrive dans l'oviducte 72 heures après l'ovulation. Les spermatozoïdes doivent avoir séjourné plus de 8 heures dans les voies génitales femelles pour devenir fécondants (capacitation). La durée de fertilité maximale des spermatozoïdes est de 32 heures. Le temps de survie de l'ovule est de 5 à 8 heures. Il en résulte que la fécondation serait possible entre 10 et 30 heures après le coït (Gianinetti, 1984 cité par Kabli, 1993).

Les lapines n'acceptent l'accouplement que 2 à 3 jours tous les 6 à 7 jours. 1 mâle pour 10 femelles suffit pour la saillie naturelle (Aycardi, 1971).

D. La gestation

La durée est courte : 30 ± 1 jours. Elle est fonction du nombre de lapereaux.

Signes de gestation :

- refus du mâle 10-15 jours après la saillie,
- la femelle prend la même position que lorsqu'elle refuse le mâle,
- elle se met en boule si on lui caresse le dos,
- souvent, elle pousse de petits cris,
- elle mange plus.

Le diagnostic de gestation par palpation est possible dès 12 à 14 jours après la saillie, en palpant la femelle dans sa cage. Mais après 25 jours, une mise bas prématurée peut être déclenchée.

Une pseudo-gestation, qui dure 15 à 18 jours, se produit si les ovules ne sont pas fécondés (Kabli, 1993). Dans ce cas, la lapine prépare son nid et y amasse des poils 18 jours après la saillie. Elle n'est pas fécondable pendant cette période. La fréquence de pseudo-gestations diminue les résultats de l'insémination artificielle.

Le lapin est très prolifique. Avec 7 à 8 lapereaux par portée (extrêmes 1 à 20), la lapine peut mettre bas 7 à 8 fois par an (Kabli, 1993). La mise bas a souvent lieu la nuit (Aycardi, 1971 ; Kabli, 1993).

E. Influence de la lumière et de la température

L'influence de la lumière est très forte chez le lapin. Pour une bonne réceptivité, la femelle a besoin de 16 heures d'éclairement par jour. Pour les mâles un rythme de 8 heures par jour est préférable. Lorsqu'ils sont dans les mêmes bâtiments, le compromis de 12 heures par jour donne un résultat intermédiaire. En pratique les locaux sont souvent éclairés 15 ou 16 heures sur 24 (Kabli, 1993 ; Lebas, 1996).

A température élevée (30°C), la quantité et la qualité du sperme diminuent ainsi que la libido. La lapine mange moins et la prolificité diminue. Il convient d'éviter les fortes chaleurs.

F. Rythmes de reproduction

Les jeunes lapines peuvent être mises à la reproduction généralement lorsqu'elles ont atteint 80 % du poids moyen des adultes de leur race.

On distingue classiquement 3 rythmes de reproduction (Figure 2).

Rythme de reproduction extensif

Les saillies ont lieu tous les 2,5 mois environ, soit 1,5 mois après la mise bas. La lapine est en repos pendant 10 % du temps. Mais la productivité est faible.

Rythme de reproduction semi-intensif

Les saillies ont lieu tous les 1,5 mois environ, soit 10-20 jours après la mise bas. Le sevrage est fait à 4-5 semaines. La lapine est alors tout le temps en production, avec une phase pendant laquelle gestation et lactation sont combinées (41 % du temps environ). Elle doit être très bien nourrie. L'acceptation du mâle est délicate.

Ce rythme est préféré par les éleveurs en France, avec une conduite en bande unique et un intervalle de 42 jours = 6 semaines, réalisé par des saillies 11 jours après la mise bas (Theau-Clément, 2008).

Rythme de reproduction intensif

Les saillies ont lieu presque tous les mois environ, soit juste après la mise bas. La lapine est alors tout le temps en production, avec une phase très longue pendant laquelle gestation et lactation sont combinées (78 % du temps environ). Aussi, ce rythme épuise les lapines qui ont une durée de production moins longue augmentant le taux de réforme. Le poids au sevrage et la résistance des lapereaux sont diminués (Montaillé, 1992 ; Lebas, 1996).

Le **rythme post-partum aménagé** est très utilisé. En fonction de la taille de la portée précédente, la mise au mâle est faite entre le jour de la mise bas (petite portée) et le 10^e jour. L'acceptation du mâle est parfois difficile (Montaillé, 1992).

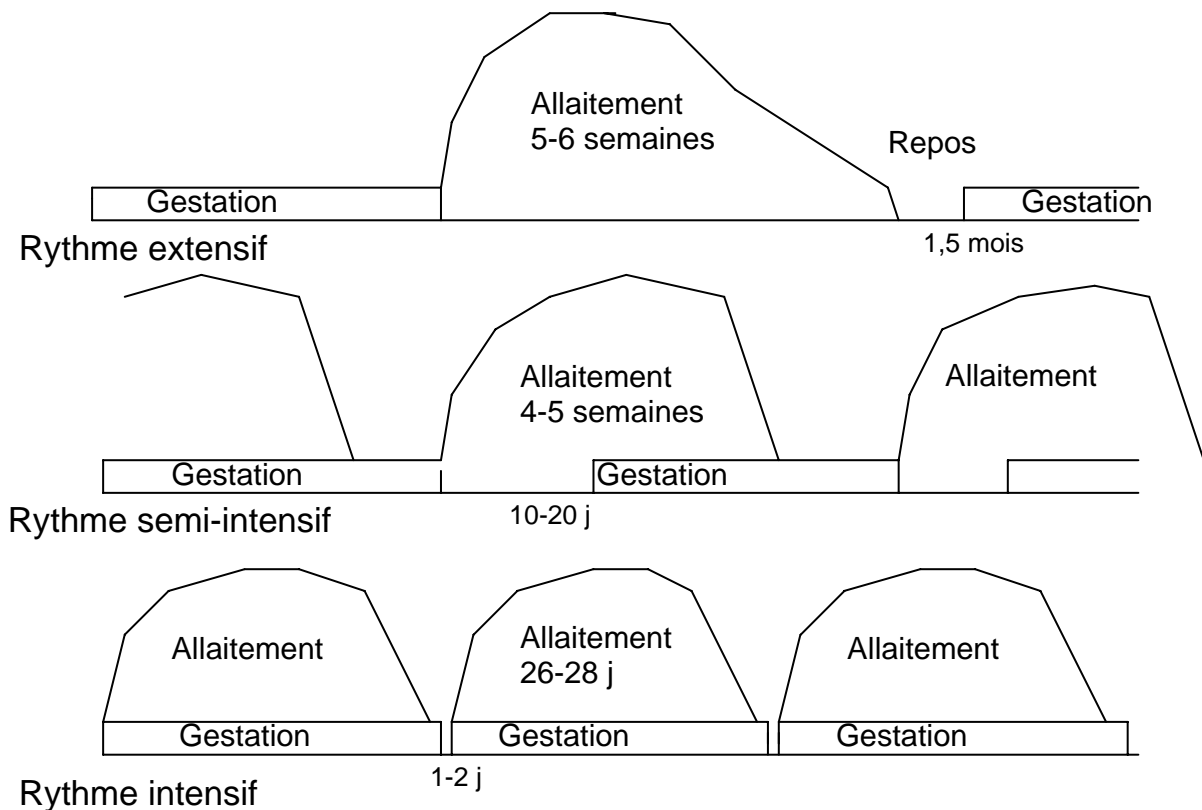


Figure 2 : Les rythmes de reproduction de la lapine

II. La technique de l'insémination artificielle

Elle suit 3 étapes :

- la récolte du sperme,
- la dilution du sperme et le conditionnement de la semence,
- l'examen et la mise en place de la semence.

1. La récolte du sperme

On utilise un vagin artificiel de taille adaptée. Cet appareil comprend de l'eau chaude de 40 à 45°C entre 2 membranes (pour être proche de 39°C au moment de la récolte, la température normale du vagin). Un tube collecteur gradué à fond conique est fixé à une extrémité.

La lapine boute-en-train est introduite dans la cage du mâle, le vagin artificiel placé sous son ventre en arrière. Lorsque le mâle s'appuie sur la lapine, on dirige son pénis vers le vagin artificiel de l'index (Morin, 1976 ; Lebas, 1996). Pour certains mâles, une peau de lapin fixée au bras de l'opérateur peut servir de leurre (Vaissaire, 1977).

Le lapin peut être collecté 1 à 7 fois par semaine (Montaillé, 1992). Lorsqu'on compare un rythme de collecte intensif (lundi, mercredi et vendredi), un rythme intermédiaire (mardi et vendredi) et un rythme extensif (1 jour par semaine, le jeudi), la meilleure combinaison entre les caractéristiques du sperme, la production de spermatozoïdes par semaine et la fertilité est obtenue avec le rythme extensif, serait une fois par semaine (Bencheich et de Rochambeau, 1993). Pour d'autres auteurs, le meilleur rythme serait de 3 fois par semaine avec 2 sauts à 15 minutes d'intervalle chaque fois (Montaillé, 1992).

L'utilisation d'un électroéjaculateur fournit un volume de sperme inférieur : 0,33 ml contre 0,72 ml avec un vagin artificiel (Montaillé, 1992).

2. La dilution du sperme et le conditionnement de la semence

a. Evaluation du sperme (spermogramme)

La couleur : blanche, du blanc crémeux au blanc aqueux (absence d'urine, de sang, etc.) ou non.

Le **volume** est mesuré dans le tube (env. 0,3-0,8 ml selon les mâles pour un prélèvement quotidien) (Vaissaire, 1977) ou même 0,2-1,5 ml en races moyennes (Montaillé, 1992).

La **concentration** peut être mesurée à l'hématimètre (cellule de Thomas) après dilution avec une solution formolée à 1%. L'évaluation de la concentration avec un photolorimètre donne de mauvais résultats. Chez le lapin, des granules particuliers, contenus en quantité variable, perturbent cette mesure (Colomb, 1972). Toutefois, si on effectue une correction en fonction du rapport particules séminales/ spermatozoïdes, la corrélation entre densité optique et concentration est très améliorée, ce qui permet d'utiliser un spectrophotomètre pour la mesure de routine de la concentration (Castellini *et al.*, 2007).

La concentration est voisine de 150-200 à 400-500 millions de spermatozoïdes / ml avec un éjaculat par jour (Colomb, 1972 ; Lebas, 1996).

Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat est de 80 à 100 millions (Vaissaire, 1977) ou 200 à 300 millions (Adams, 1961 cité par Vaissaire, 1977). Le taux de dilution du sperme est déduit du volume et de la concentration. Il est souvent proche de 1 pour 10.

La production atteint 150 à 300 millions de spermatozoïdes par jour (Lebas, 1996).

La **qualité des spermatozoïdes**

In vitro, la motilité massale du sperme peut être appréciée. Une goutte est mise sur une lame et examinée au microscope à 2 grossissements : 100 (appréciation des vagues) et 256 (coagulation). La note va de 0 à 5 ou de 0 à 10 (Colomb, 1972).

La proportion de spermatozoïdes mobiles est plus difficile à évaluer.

b. Le sperme frais

Le sperme peut être dilué jusqu'à 50 % (Morin, 1976) ou 25 % (FAO, 1998). Le sperme peut être **dilué 5 à 10 fois** dans du sérum physiologique (pour insémination dans la demi-heure) ou dans un dilueur spécial (pour insémination dans les 12 heures) (Lebas, 1996). La dose contient **10 à 20 millions de spermatozoïdes** selon la vitalité et la motilité. Si le sperme est plus dilué, le taux de gestation et le nombre de nés vivants par portée diminuent (Montaillé, 1992).

Pour inséminer dans les 12 heures (conservation à +18°C), la dilution doit être faite dans la demi-heure qui suit la collecte au goutte-à-goutte jusqu'au taux de 1/2. Si la conservation est faite à +5°C ou +15°C par exemple, il faut un cryoprotecteur dans le dilueur (Lebas, 1994). Il est possible aussi de conserver à +15°C la semence à l'état solide (en ajoutant de la gélatine) jusqu'à 5 jours avec une bonne fertilité (Lopez-Gatius *et al.*, 2005).

Pour la semence conservée pendant 26 à 30 heures à 16-18°C, une dose de 12 millions de spermatozoïdes donne des résultats satisfaisants avec une fertilité de 78,9 ou de 80,6 % (Viudes de Castro *et al.*, 1999).

Exemples de **dilueurs** :

Un sérum physiologique (NaCl 0,9 %) et 20 % de jaune d'œuf. Ce milieu, riche, est propice à la multiplication de bactéries.

Une solution de Ringer modifiée :

NaCl	0,65 g
KCl	0,014 g
CaCl ₂	0,012 g
NaCO ₃	0,02 g
PNO ₄	0,001 g
Glucose	0,20 g
Eau bisstillée	qsp 100 ml (Vaissaire, 1977 ; voir aussi Annexe I).

Dilueurs à base de lait de vache écrémé ou entier.

Dilueur proposé par Samouilidis *et al.* (2001)

Jaune d'œuf	20 %
Tris buffer	80 % (trishydroxyméthylaminométhane)
Glycérol	3 % ajouté
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	3 % ajouté.

c. Le sperme congelé

Les résultats sont souvent médiocres. La technique de congélation est employée dans le cadre de recherches ou pour conserver de la semence longtemps (Lebas, 1996) ou pour la conservation des races à faible effectif (FAO, 1988 ; Annexe I). Il existe différents cryoprotecteurs : le glycérol et l'acetamide à 2 % par exemple (Okuda *et al.*, 2007), le lactamide, l'éthylène-glycol, le propanediol et le DMSO (Montaillé, 1992).

3. L'examen et la mise en place de la semence

La semence peut être contrôlée avant d'être mise en place. La semence peut être conditionnée en paillettes de 0,5 ml ou dans des flacons de 20 à 100 doses de 0,5 ml (Lebas, 1996). La semence est injectée dans le vagin des femelles avec une seringue hypodermique ou avec un tube dans lequel l'opérateur souffle.

1. Avec du sperme frais,

Classiquement, pour déclencher l'ovulation, une injection de 20-50 UI de HCG ou de **20 à 25 UI eCG** (ancien nom PMSG, extraite de sérum de jument gravide) en intraveineuse est faite à la marge de l'oreille au moment de la mise en place (Morin, 1976) ou une injection IM de GnRH (FAO, 1998) : 20 microg de gonadoréline ou 0,8 microg de buséréline (Lebas, 1996) ou encore 10 à 20 mg de LH (Montaillé, 1992). Vaissaire (1977) préconise l'injection de 20 UI de HCG en intraveineuse 8 heures avant la mise en place.

Le volume de sperme pur ou dilué inséminé est 0,5 à 1 ml (Montaillé, 1992). Un opérateur tient la lapine, l'autre place une canule coudée au niveau de la vulve, l'introduit dans le vagin en la dirigeant vers le haut pour éviter de pénétrer dans la vessie puis pivote pour atteindre le fond du vagin à l'entrée des 2 cols utérins. Le sperme y est déposé (Morin, 1976 ; Vaissaire, 1977).

L'eCG peut être injecté 48 heures avant l'insémination, ce qui augmente la fertilité sauf chez les nullipares (Theau-Clément, 2008). Il est possible de réduire la dose de eCG de 25 UI à 8 UI en l'injectant 48 heures avant l'insémination en rythme de reproduction intensif avec insémination 4 jours après la mise bas (Theau-Clément *et al.*, 2008).

Il est possible, pour faire une seule manipulation, d'inclure le GnRh (buséréline par exemple) dans la dose de semence et de l'inséminer dans le vagin en même temps. Les résultats obtenus par Quintela *et al.* (2004) ont été comparables à l'injection intramusculaire. Par contre, dans 3 fermes commerciales, avec 10 microg d'acétate de buséréline et 12 millions de spermatozoïdes par ml, Vicente *et al.* (2009) ont obtenu un taux de mise bas un peu plus faible (83,4 % au lieu de 85,8 %) avec des tailles de portée comparables (9,6 au lieu de 10,4).

L'injection de prostaglandines, qui lysent les corps jaunes, 2 à 3 jours avant l'insémination permet de synchroniser les oestrus et d'améliorer les performances probablement en empêchant les pseudo-gestations (Theau-Clément, 2008).

Avec l'habitude, une centaine de lapines peuvent être inséminées (mise en place seulement) en une heure à deux (Montaillé, 1992).

D'autres méthodes sont étudiées pour éviter l'utilisation d'hormones :

- manipulations des femelles (changement de cage, regroupement des lapines), difficiles à appliquer,
- effet mâle, peu efficace,

- séparation courte (36 à 48 heures) avec la portée de jeunes, et allaitement contrôlé (n'ouvrir les boîtes à nid que quelques minutes par jour) pendant 2 jours, efficace, mais avec diminution de la croissance des lapereaux,
- programmes alimentaires de flushing, peu concluants,
- programmes lumineux : passage brutal de 8 h à 16 h de lumière par jour, 8 jours avant l'insémination, encourageant.

Ainsi, si certaines de ces méthodes peuvent améliorer la fécondité, elles font parfois diminuer la croissance des lapereaux (Theau-Clément, 2007 et 2008).

2. Avec du sperme congelé

La décongélation doit être rapide et la mise en place faite sans délais, en évitant les chocs thermiques (réchauffements et refroidissements successifs).

III. Résultats

Pour obtenir de bons résultats de fertilité, les facteurs les plus importants en France sont :

- une bonne maîtrise de l'aération des locaux : quantité d'air, distribution et évacuation de l'air,
- une bonne préparation des futures reproductrices : élevage en cages individuelle dès 8 semaines d'âge, alimentation non rationnée.

L'éleveur doit aimer le travail soigné. L'hygiène doit être parfaite (Montaillé, 1992).

Avec le sperme frais, les résultats sont variables, comparables à ceux de la saillie naturelle (Morin, 1976) lorsque la chaîne d'opération est bien respectée. Ainsi, en Italie, dans 16 élevages pendant 3 ans, le taux de gestation a été de 76,1 % au lieu de 75,6 % en saillie naturelle et la taille de portée a été de 8,5 au lieu de 8,0, sans différence significative (Bolis *et al.*, 1998). De même au Brésil, le taux de gestation a été de 66,7 % au lieu de 62,1 % en saillie naturelle et la taille de portée a été de $6,7 \pm 2,2$ au lieu de $7,9 \pm 4,0$, sans différence significative (Andrade *et al.*, 2003). En 1989, une synthèse de résultats par pays d'Europe indiquait des taux de fertilité allant **de 48 % à 79,2 %** avec un nombre de nés vivants allant de 6,8 à 9,3 (Montaillé, 1992).

En France, la fertilité moyenne est bonne : 77 %. Elle est meilleure chez les lapines non allaitantes au moment de l'insémination. La production annuelle peut atteindre 45 à 49 lapereaux par an (Theau-Clément, 2008).

Bibliographie

- Adams C. E., 1961. Artificial insemination in the rabbit. *J. Repro. Fert.*, **2**: 521-522.
- Andrade A. F. C., Celeghini E. C. C., Yonezawa L. A., Spers A., Arruda R. P., 2003. Comparison between artificial insemination and natural mating in rabbit with regard to pregnancy rate and number of litter. *Revista Brasileira de Reproducao Animal*, **27**: 520-521.
- Aycardi J., 1971. Le lapin et son élevage professionnel. Dunod, Problèmes de l'entreprise agricole 7, Paris, ed., 1 vol., 272 p.
- Bencheikh N., de Rochambeau H. (dir), 1993. Production de sperme et fertilité du lapin mâle, *Oryctolagus cuniculus*. Effets de la fréquence de collecte et du type génétique. Institut national polytechnique, Toulouse, France. Thèse.
- Bolis S., Castrovilli C., Gottardi L., 1998. Use of deep-frozen rabbit semen in artificial insemination trials. *Rivista di Coniglicoltura*, **35**: 30-32.
- Castellini C., Lattaioli P., Cardinali R., dal Bosco A., Mourvaki E., 2007. Validation of a spectrophotometric method used for the measurement of spermatozoa concentration in rabbit semen. *World Rabbit Science*, **15**: 115-119.
- Colomb M., 1972. Etude des caractères biologiques simples du sperme de lapins soumis à 3 rythmes de récolte et calcul de leur répétabilité. Mémoire de fin d'études, Ecole Nat. sup. Féminine d'Agronomie, Rennes, 35 p.
- Kabli L., 1993. Maîtrise de la reproduction chez le lapin domestique. Synthèse bibliographique. DESS Productions animales en régions chaudes, année universitaire 1992-1993, CIRAD-EMVT, Maisons-Alfort, France, 23 p.
- Lebas F. I., 1994. La cuniculture. La reproduction chez la lapine : le point. 1994 mai, BTIA, 72 : 29-31.
- Lebas F., Coudert P., de Rochambeau H., Thébault R. G., 1996. Le lapin : élevage et pathologie. Rome (Italie), FAO, . ed., Production et Santé Animales n° 19, 1 vol., 227 p.
- Lopez-Gatius F., Sances G., Sancho M., Yaniz J., Santolaria P., Gutierrez R., Nunez, Soler C., 2005. Effect of solid storage at 15 degrees C on the subsequent motility and fertility of rabbit semen. *Theriogenology*, **64**: 252-260.
- Montaillé G., 1992. L'insémination artificielle en élevage cunicole. Thèse méd vét n° 81, Ecole Nat. Vét. de Lyon, Lyon, 153 p.
- Morin M., 1976. Le point sur l'insémination artificielle en aviculture. *Bul. Techn. Ins. Artif.*, (1): 5-7.
- Okuda Y., Seita, Hisamatsu S., Sonoki, Shino M., Masaoka T., Inomata, Kamijo, Kashiwazaki N., 2007. Fertility of spermatozoa cryopreserved with 2% acetamide or glycerol through artificial insemination in the Japanese white rabbit. *Experimental Animals*, **56**: 29-34.
- Quintela L. A., Pena A. I., Vega M. D., Gullon J., Prieto M. C., Barrio M., Becerra J. J., Maseda F., Herradon P. G., 2004. Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose. *Reproduction, Nutrition, Development*, **44**: 79-88.

Samouilidis S., Saoulidis K., Foukos A., Ypsilantis P., Demertzis A., Sbiraki A. P., 2001. Freezing of rabbit semen after the addition of glycerol and dimethyl sulfoxide in the extender. *Deltion tes Ellenikes Kteniatrikes Etaireias [Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society]*, **52**: 299-302.

Theau-Clément M., 2007. Preparation of the rabbit doe to insemination: a review. *World Rabbit Science*, **15**: 61-80.

Theau-Clément M., 2008. Facteurs de réussite de l'insémination chez le lapin et méthodes d'induction de l'oestrus. [Factors of success of rabbit doe insemination and methods for oestrus induction]. *INRA Productions Animales*, **21** (3): 221-230.

Theau-Clément M., Lebas F., Boiti C., Brecchia G., Mercier P., 2008. Influence of different eCG doses on sexual receptivity and productivity of rabbit does. *World Rabbit Science*, **16**: 65-72.

Vaissaire J. P., 1977. Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Paris, Maloine SA Editeur. ed., 1 vol., 457 p.

Vicente J. S., Lavara R. F., Marco-Jimenez, Viudes-de-Castro M. P., 2008. Rabbit reproductive performance after insemination with buserelin acetate extender. *Livestock Science*, **115**: 153-157.

Viudes De Castro M. P., Vicente J. S., Lavara R., 1999. Effet du nombre de spermatozoïdes sur la fertilité de la semence conservée 24 heures chez le lapin. [Effect of conservation time and number of rabbit spermatozoa on fertility]. *Annales de zootechnie*, **48**: 407-412.

Annexe I : Congélation/décongélation de la semence de lapin (FAO, 1998)

Dilueurs nécessaires

Dilueur 1

trihydrométhylaminométhane (tris)	3,028 g
glucose	1,25 g
acide citrique-H ₂ O	1,67 g
diméthylsulfoxyde (DMSO)	5 ml
dans eau bi-distillée	100 ml

Dilueur 2 :

glucose	8,25 g
glycérol	1,3 ml
dans eau bi-distillée	100 ml
puis jaune d'œuf	20 % (1 vol pour 4 vol de solution)

Congélation

1. Récolter le sperme.
2. Préparer le dilueur 1.
3. Ajouter 4 volumes de dilueur 1 à un volume de sperme.
4. Refroidir progressivement la semence diluée jusqu'à + 5°C en 1 à 3 heures.
5. Préparer le dilueur 2.
6. Ajouter un volume de dilueur 2 pré-refroidi à + 5°C à un volume de semence diluée.
7. Remplir les paillettes de 0,5 ml avec la semence.
8. Maintenir 10 minutes à + 5°C.
9. Congeler les paillettes horizontalement dans les vapeurs d'azote liquide pendant 3 minutes à -120°C.
10. Plonger directement dans l'azote liquide et stocker.

Décongélation

Décongeler les paillettes dans un bain-marie à + 37°C pendant 1 minute.

Insémination

Insémination intra-vaginale des lapines suivie par une injection I.M. de 0,2 ml de GnRH.