

## Comparaison de la fertilité après IA chez deux races de brebis allaitantes : Lacaune et Blanche du Massif Central

FRERET S. (1), FATET A. (1), BOYER L. (2), PANTEL C. (3), BODIN L. (4)

(1) INRA, UMR85 physiologie de la reproduction et des comportements, 37380 Nouzilly, France

(2) GIE unité de sélection races ovines des Massifs, Paysat Bas, 43300 Mazeyrat D'Allier, France

(3) FEDATEST, Paysat Bas, 43300 Mazeyrat D'Allier, France

(4) INRA, UR631 amélioration génétique des animaux, 31326 Castanet-Tolosan, France

**RESUME** - Chaque année, le GIE unité de sélection races ovines des massifs réalise dans la station de contrôle individuel FEDATEST, des inséminations artificielles (IA) sur des lots importants de brebis Lacaune viande et Blanche de Massif Central. Malgré une conduite d'élevage identique et l'utilisation des mêmes béliers pour l'IA, une différence de fertilité après IA de l'ordre de huit à neuf points est régulièrement observée depuis plusieurs années en faveur de la race Lacaune, et a été objectivée par une analyse statistique multivariée à partir des données d'IA sur les campagnes 2000 à 2006 : les facteurs de variation retenus étaient la race, l'année de lutte, la saison, le nombre de traitements hormonaux reçus, l'âge des brebis et la réussite à l'IA précédente. Une première expérimentation nous a permis d'examiner d'éventuelles différences de profils hormonaux entre races. Deux lots de quatorze brebis de chaque race ont été suivis d'avril à juin 2008 et soumis à un traitement hormonal classique avant d'être inséminés avec la semence d'un même bélier. Des prélèvements sanguins ont permis de déterminer pour chaque lot : la saisonnalité, la cyclicité, le moment du pic pré-ovulatoire de LH et la fonctionnalité des corps jaunes. Aucun des paramètres hormonaux n'a présenté de différence entre races. Dans une seconde approche, nous nous sommes intéressés à l'anatomie du col utérin chez ces deux races. Deux lots de brebis de réforme (quatre de chaque race) ont été abattus à l'abattoir expérimental de l'INRA de Theix, les tractus génitaux ont été prélevés et disséqués sur place afin d'observer l'anatomie de l'entrée du cervix, sa longueur, le nombre et l'aspect des anneaux cervicaux ainsi que la distance parcourue dans le col à l'aide d'un guide métallique. Seule la distance de pénétration dans le col a été supérieure en Lacaune avec  $26,25 \pm 2,9$  mm contre  $15,75 \pm 1,5$  mm en Blanche du Massif Central ( $p = 0,0006$ ), les observations visuelles faites sur l'anatomie de l'entrée du col et la disposition des anneaux allant dans le même sens.

Cette approche anatomique est encourageante mais nécessitera de renouveler l'expérience sur des effectifs plus importants. Des IA intra-utérines sont envisagées ainsi que des observations de la remontée des spermatozoïdes *in vivo* afin de confirmer que le passage du col est bien une étape limitante et explique au moins en partie l'écart de fertilité entre ces deux races.

## Comparison of fertility after AI in 2 meat sheep breeds: Lacaune and Blanche du Massif Central

FRERET S. (1), FATET A. (1), BOYER L. (2), PANTEL C. (3), BODIN L. (4)

(1) INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly, France

**SUMMARY** - Each year, the Economic Interest Group « Unité de Sélection Races Ovines des Massifs » performs artificial inseminations (AI) on large groups of meat ewes from the Lacaune and Blanche du Massif Central (BMC) breeds at the individual performance testing center FEDATEST. Although breeding management and rams used for AI are strictly the same for both breeds, a significant difference of 8-9 points in fertility results after AI is regularly observed in favour of the Lacaune breed. This difference has been objectivised through a multivariate analysis on AI data from years 2000 to 2006 : the variation factors were breed, year, season, number of hormonal treatments received, age of ewes and success at the preceding AI. Our first experimentation was aimed at observing the eventual differences in hormonal profiles between breeds. Two groups of 14 ewes of each breed were monitored from April to June 2008 and underwent a classical hormonal treatment of synchronisation and ovulation induction before being inseminated with the semen of a single ram. Blood samples allowed us to determine seasonality, cyclicity, timing of LH surge and corpora lutea functionality. None of these hormonal parameters showed a significant difference between breeds. In a second approach, we examined cervix anatomy in those breeds. Two groups of culled ewes (4 from each breed) were slaughtered at the experimental slaughterhouse of INRA Theix. Genital tracts were extracted and dissected on the spot to observe the anatomy of the cervical os, the length of the cervix, the number and aspect of cervical folds and the penetration depth with an AI pipette. Penetration depth was the only measure that differed between breeds (Lacaune > BMC ;  $p=0.0006$ ), corroborated by visual observations on the anatomy of the cervical os and disposition of cervical folds. This anatomical approach is promising but should be renewed with a higher number of animals. We are also considering performing intra-uterine AI and *in vivo* observations of spermatozoa ascent in the genital tract to confirm that the cervix is a limiting step in AI success and can explain, at least partly, the difference in fertility results between these breeds.

## INTRODUCTION

Le centre d'insémination artificielle GIE unité de sélection races ovines des massifs (GIE US ROM) réalise chaque année environ 15000 inséminations artificielles (IA) dont la majorité (75 %) chez des sélectionneurs. Ces IA sont réalisées avec la semence de béliers « Recommandé » pour les races Rava et Limousine, « Elite », « Améliorateur » et « Testage » pour la race Blanche du Massif Central. Les béliers de Testage sont également évalués sur leurs qualités bouchères à la station FEDATEST. Des IA sont

ainsi réalisées dans cette station sur des lots importants de brebis Lacaune viande et Blanche du Massif Central (BMC). Malgré une conduite d'élevage identique et l'utilisation des mêmes béliers pour l'IA, une différence de fertilité après IA de l'ordre de huit à neuf points est régulièrement observée depuis plusieurs années en faveur de la race Lacaune.

Une première étude statistique a été réalisée à la station d'amélioration génétique des animaux (INRA SAGA) sur les données de lutte des campagnes 2000 à 2006, soit 11503 enregistrements (6753 en Lacaune et 4750 en

BMC), avec 84 % d'IA et une fertilité brute moyenne de 58 %. L'analyse multivariée de la fertilité après IA a permis de retenir comme facteurs de variation : la race des brebis, l'année de lutte, la saison, le nombre de traitements hormonaux reçus (pour l'induction et la synchronisation des ovulations avant IA), l'âge des brebis et la réussite à l'IA précédente. Une fois corrigée des précédents effets inclus dans le modèle d'analyse de variance, la différence uniquement due à la race a été de neuf points en faveur des brebis Lacaune (Martin, 2007). Dans cette base de données, la race du bélier n'a pas été un facteur de variation. L'objectif de notre étude a été de poursuivre ce travail d'exploration de la différence de fertilité, en testant des hypothèses anatomo-physiologiques : différences éventuelles dans les profils hormonaux et / ou l'anatomie du col utérin (facilité de passage de l'entrée du col lors de l'IA) entre les deux races.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. PROFILS HORMONAUX

Dans le cadre d'un premier essai, deux lots de brebis - quatorze de race Lacaune et quatorze de race BMC - homogènes en terme d'âge à l'IA et d'intervalle depuis la mise-bas précédente (tableau 1), ont été suivis d'avril à juin 2008.

**Tableau 1** : caractéristiques des brebis

	BMC (n=14)	Lacaune (n=14)	
Age à l'IA (n)			Chi2 NS
[1-2] ans	5	5	
[2-3] ans	4	5	
[3-4] ans	5	4	
Intervalle moyen entre mise bas précédente et IA (j)	198,4 ± 15,5	198,3 ± 16,8	T test NS

Ces deux lots ont été soumis à un traitement hormonal classique d'induction et de synchronisation des ovulations (Fatet *et al.*, 2008) : éponge vaginale progestative (imprégnée à 30 mg de *Fluorogestone Acetate*) posée pendant quatorze jours, puis injection de 600 UI d'eCG (choriogonadotropine équine) au moment du retrait de l'éponge (J0). Toutes les brebis ont été inséminées avec la semence d'un même bélier BMC 55,5 heures après retrait de l'éponge (fin mai).

Des prélèvements sanguins ont été effectués afin de déterminer pour chaque lot :

- la saisonnalité : la pulsativité de LH (luteinizing hormone) a été mesurée fin avril sur des prélèvements réalisés toutes les 15 mn pendant 6 heures, et ce avant l'application du traitement hormonal,
- la cyclicité avant traitement : la progestérone (P4) a été dosée deux fois à neuf jours d'intervalle (une femelle est cyclée si au moins un des deux prélèvements est positif, c'est-à-dire avec une concentration  $\geq 1$  ng / ml).
- la réponse immunitaire anti-eCG : le niveau plasmatique d'anticorps anti-eCG a été mesuré à J-1 (niveau basal, mesuré la veille de l'injection d'eCG) et à J12 (la réponse immunitaire est alors maximale).
- le moment d'ovulation (délai entre l'ovulation et l'IA) : afin de l'estimer, le moment d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH a été déterminé sur des prélèvements toutes les 4 heures pendant 40 heures, de 16 h à 56 h après retrait de l'éponge.

- la fonctionnalité des corps jaunes (profil de la progestéronémie post-ovulatoire) : la progestérone a été dosée 1 fois par jour de J0 à J8.

Les dosages de LH et progestérone ont été réalisés au laboratoire de dosages hormonaux de l'unité de physiologie de la reproduction et des comportements (INRA PRC), selon des méthodes ELISA. Les dosages d'anticorps anti-eCG ont été réalisés selon la méthode ELISA mise au point par M.C. Maurel *et al.* (INRA PRC, Roy *et al.*, 1999).

La fertilité après IA a été déterminée par un diagnostic précoce de non-gestation dix huit jours après retrait de l'éponge (dosage de progestérone) : la brebis est considérée non gestante si la concentration en P4 est  $< 1$  ng / ml. Les dates de mise-bas ont permis de déterminer le taux d'agnelage après IA.

Les résultats ont été comparés entre races par des tests du chi2 ou des tests T selon le type de variable (procédures *FREQ* et *TTEST* sous SAS® (SAS Institute, 2000).

### 1.2. ANATOMIE DU COL UTERIN

Dans le cadre d'un second essai, huit brebis de réforme (quatre BMC et quatre Lacaune), provenant de la station FEDATEST, ont été abattues à l'INRA de Theix début mars 2009. Cet essai sur un petit nombre d'animaux visait à obtenir des données préliminaires.

Les deux lots étaient homogènes en terme d'âge et d'intervalle après mise bas ( $123,6 \pm 11,8$  j sur les huit brebis) au moment de l'abattage. Les tractus génitaux ont été prélevés puis disséqués sur place, afin d'enregistrer les paramètres suivants :

- facilité de passage de l'entrée du col utérin (mesure de la distance parcourue dans le col en mm, à l'aide d'un pistolet d'IA ovine classique (IMV®)).
- aspect de l'entrée du col utérin
- longueur du col utérin (mesure en mm)
- nombre et aspect des anneaux du col utérin

Toutes les mesures ont été réalisées en aveugle par le même opérateur (les tractus ont été disséqués sans connaissance préalable de la race des brebis).

## 2. RESULTATS

### 2.1. FERTILITE A L'IA

Le taux de gestation à J18 (dosage de P4) a été de 64 % (18 / 28). Le taux d'agnelage a été de 50 % (14 / 28), avec une taille de portée moyenne de  $2,0 \pm 1,1$ .

Les résultats par race n'ont pas été différents (tableau 2).

**Tableau 2** : fertilité à l'IA (gestation à J18 et mise bas) et taille de portée (moyenne  $\pm$  écart-type)

	BMC	Lacaune	
% de gestation à J18 (dosage P4)	57 (8/14)	71 (10/14)	Chi2 NS
% de mise bas	43 (6/14)	57 (8/14)	Chi2 NS
Taille de portée	$1,5 \pm 0,5$	$2,4 \pm 1,3$	T test NS

### 2.2. PROFILS HORMONAUX

#### 2.2.1. Pulsativité de LH

Globalement, le nombre moyen de pulses de LH a été de  $0,9 \pm 1,0$  par période de six heures. Il n'y a pas eu de différence entre lots pour le nombre de pulses, l'intervalle entre deux pulses ou l'amplitude des pulses (tableau 3).

**Tableau 3 :** pulsativité de LH sur la période de mesure de six heures (moyennes  $\pm$  écart-types)

	BMC	Lacaune	
Nb de pulses	1,0 $\pm$ 1,1 (n=14)	0,7 $\pm$ 0,8 (n=14)	T test NS
Intervalle entre 2 pulses (mn)	290 $\pm$ 120 (n=9)	270 $\pm$ 139 (n=7)	T test NS
Amplitude des pulses (ng/ml)	1,3 $\pm$ 1,1 (n=9)	1,3 $\pm$ 1,4 (n=7)	T test NS

### 2.2.2. Cyclicité avant traitement

La cyclicité avant l'application du traitement hormonal n'a pas été différente entre les deux lots : 21 % (3 / 14) des brebis Lacaune étaient cyclées, contre 43 % (6 / 14) des brebis BMC (chi2 NS). Globalement, un tiers des brebis (9 / 28) était cyclé.

### 2.2.3. Niveaux d'anticorps anti-eCG

Le niveau plasmatique basal d'anticorps anti-eCG (J-1), le niveau mesuré à J12 après mise en place de la réponse immunitaire humorale, ainsi que le rapport niveau J12 / niveau J-1 n'ont pas été différents entre les deux lots (tableau 4).

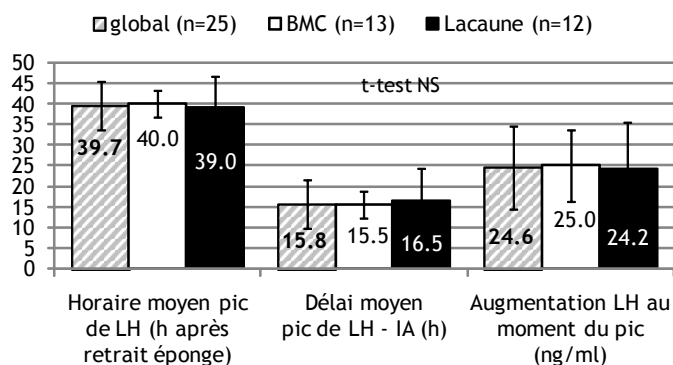
**Tableau 4** Niveaux plasmatiques d'anticorps anti-eCG

	BMC (n=14)	Lacaune (n=14)	
Niveau Ac anti-eCG J-1 ( $\mu$ g/ml)	1,42 $\pm$ 1,22	1,22 $\pm$ 1,70	T test NS
J12 ( $\mu$ g/ml)	5,85 $\pm$ 4,06	4,05 $\pm$ 2,96	T test NS
Rapport J12/J-1	6,90 $\pm$ 7,32	6,42 $\pm$ 6,90	T test NS

### 2.2.4. Pic pré-ovulatoire de LH

L'horaire moyen du pic pré-ovulatoire de LH après retrait de l'éponge ainsi que l'amplitude de l'augmentation de la concentration plasmatique de LH ([LH]) ont été comparés entre les deux lots : aucune différence n'a été mise en évidence (figure 1). Le pic n'a pas eu lieu ou n'a pu être mis en évidence pour trois brebis (deux Lacaune et une BMC). Bien que le pic de LH se soit produit en moyenne une quarantaine d'heures après le retrait de l'éponge (soit environ seize heures avant l'IA), il faut noter que la variabilité de son moment d'apparition a été plus grande en Lacaune (39  $\pm$  8 h, le pic se produisant entre 28 et 52 h après retrait de l'éponge) qu'en BMC (40  $\pm$  3 h, le pic se produisant entre 36 et 48 h).

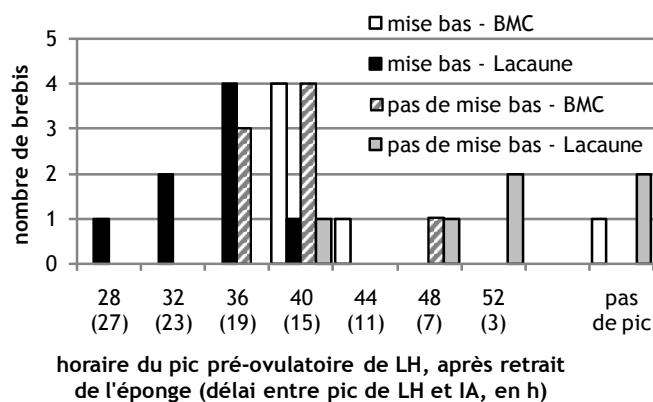
**Figure 1 :** moment d'apparition du pic pré ovulatoire de LH et amplitude de l'augmentation de [LH] (moyennes  $\pm$  écart-types)



La figure 2 montre que les brebis Lacaune ayant mis bas suite à l'IA ont eu un pic pré-ovulatoire de LH entre 28 et 40 heures après retrait de l'éponge (soit entre 15 et 27 h avant l'IA). Un pic de LH plus tardif – et donc un délai réduit entre le pic de LH et l'IA – a été défavorable à la

fertilité. Les résultats sont peu clairs en BMC : huit brebis sur treize ont eu un pic de LH 40 h après retrait, mais seulement la moitié d'entre elles a mis bas suite à l'IA.

**Figure 2 :** répartition des brebis selon la race, la fertilité (mise bas après IA ou non) et l'horaire du pic pré ovulatoire de LH après retrait de l'éponge



### 2.2.5. Progestéronémie après retrait de l'éponge

Différents critères ont été comparés : les valeurs moyennes, maximales et à J18 de la concentration plasmatique de P4 ([P4]), le jour auquel [P4] atteint son maximum, ainsi que la pente d'augmentation de [P4] entre le jour du premier prélèvement pour lequel [P4]  $\geq$  0,5 ng / ml et le jour auquel [P4] atteint son maximum (sur la période de mesure de J0 à J8 après retrait de l'éponge). La [P4] a atteint son maximum à J7 pour trois brebis et à J8 pour vingt trois brebis, sans effet de la race. Deux brebis Lacaune ont présenté des profils anormaux, avec soit [P4] toujours inférieure au seuil de détection, soit [P4] toujours  $\geq$  2 ng / ml quel que soit le moment de prélèvement : elles ont été exclues de l'analyse pour le profil de P4. Aucune différence entre lots n'a été mise en évidence pour les paramètres mesurés (tableau 5).

**Tableau 5 :** évolution de la progestéronémie dans les huit jours après retrait de l'éponge (J0)

	BMC (n=14)	Lacaune (n=12)	
Jour auquel [P4] devient $\geq$ 0,5 ng/ml	5,0 $\pm$ 0,7	4,9 $\pm$ 0,9	T test NS
Jour auquel [P4] devient maximale	7,8 $\pm$ 0,4	8,0 $\pm$ 0,0	T test NS
Pente [P4] (ng/ml/j)	1,0 $\pm$ 0,6	0,8 $\pm$ 0,4	T test NS
[P4] maximale	3,8 $\pm$ 1,95	3,3 $\pm$ 1,5	T test NS
[P4] J18 (chez gestantes à J18)	6,9 $\pm$ 2,4	6,0 $\pm$ 2,9	T test NS

### 2.3. ANATOMIE DU COL UTERIN

Ni la longueur du col utérin, ni le nombre d'anneaux cervicaux n'ont été différents entre les deux races. En revanche, la distance de pénétration du pistolet d'IA dans le col a été significativement supérieure en Lacaune (tableau 6). Ce résultat va dans le même sens que les observations visuelles faites sur l'anatomie de l'entrée du col : celle-ci s'est avérée plus béante chez les brebis Lacaune. De même, la disposition des anneaux est apparue plus régulière chez les brebis Lacaune.

**Tableau 6** : mesures anatomiques sur le col utérin

	BMC (n=4)	Lacaune (n=4)	
Pénétration dans le col utérin (mm)	15,75 ± 1,5	26,25 ± 2,9	T test P=0,0006
Longueur du col utérin (mm)	48 ± 18,8	50,5 ± 6	T test NS
Nb d'anneaux du col utérin	4,75 ± 1,7	5,5 ± 0,6	T test NS

## DISCUSSION-CONCLUSION

Nous n'avons pas mis en évidence de différence entre les deux races en ce qui concerne les paramètres hormonaux mesurés avant et après insémination. Seul le moment d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH est apparu plus variable chez les brebis Lacaune. Chez les brebis BMC, le pic s'est produit en moyenne  $40 \pm 3$  h après retrait de l'éponge, soit à un moment a priori adéquat par rapport à l'IA. Cependant, sur les huit brebis (sur treize) ayant eu un pic de LH 40 h après retrait de l'éponge, seulement la moitié ont mis bas. Au vu de ces résultats, il n'a donc pas été possible de conseiller au GIE US ROM d'essayer de décaler le moment d'IA sur des lots de brebis BMC inséminées lors de la campagne de reproduction suivant l'essai. Il serait intéressant de confirmer ces résultats sur le pic pré-ovulatoire de LH sur de plus grands effectifs de brebis de chaque race. Des études menées en Irlande, et explorant aussi des différences de fertilité entre races, n'ont pas trouvé d'effet de la race sur l'intervalle pic de LH-ovulation, mais en ont trouvé un sur l'intervalle retrait de l'éponge-pic de LH - plus court chez des brebis *Suffolk* comparées à des brebis *Belclare* (Fair *et al.*, 2007) - ou sur la variabilité de l'intervalle retrait de l'éponge-ovulation, moins importante chez des brebis *Finnish Landrace* (Donovan *et al.*, 2000). Le moment d'apparition du pic est un bon estimateur du moment d'ovulation car l'intervalle pic de LH-ovulation est relativement constant (autour de 24 h, Cumming *et al.*, 1973). Nous pourrions aussi envisager de détecter le moment d'ovulation en réalisant des examens répétés des ovaires (toutes les quatre heures, selon la même périodicité que pour le dosage de LH) par échographie transrectale ou endoscopie. Les études menées en Irlande ont pu mettre en évidence des différences entre races sur le profil de progestérone après retrait de l'éponge (Fair *et al.*, 2007), ce qui n'a pas été le cas dans notre étude. Fair *et al.* ont exploré plus particulièrement la différence de fertilité entre les races *Belclare* et *Suffolk*, en comparant les techniques d'IA cervicale et intra-utérine par laparoscopie, et en collectant les embryons après insémination. Ils ont ainsi pu montrer que cette différence pouvait être due d'une part à une plus grande proportion de brebis *Belclare* avec des spermatozoïdes atteignant le lieu de la fécondation, et d'autre part à un taux de développement embryonnaire précoce (jusqu'au stade blastocyste) plus faible chez les brebis *Suffolk* (Fair *et al.*, 2005) sans différence en terme de qualité ovocytaire (Fair *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus dans le cadre de notre approche anatomique sont très encourageants, même s'ils nécessiteront bien sûr d'être confirmés sur un plus grand nombre d'animaux, car ils vont dans le sens de la différence de fertilité observée sur le terrain : une distance de pénétration dans le col plus longue traduit un passage du col facilité chez les brebis Lacaune. L'anatomie du col utérin dépend de la race et de l'âge de la brebis, comme cela a été montré en Espagne par Kaabi *et al.* (2006) de façon très détaillée chez quatre races (*Churra*, *Assaf*,

*Merinos* et *Castellana*). Cette anatomie limite le passage du pistolet d'IA (Kaabi *et al.*, 2006) et rend impossible le dépôt de la semence au-delà du col de l'utérus. Cela a conduit à l'utilisation quasi-exclusive de semence fraîche pour l'IA, la semence congelée inséminée en exocervical ne donnant que de faibles résultats de fertilité (Fatet *et al.*, 2008). La Norvège est une exception avec de bons taux de fertilité obtenus sur le terrain après IA cervicale en semence congelée : il a d'ailleurs été montré que la race des brebis inséminées avait probablement un rôle déterminant (Donovan *et al.*, 2004). Dans la poursuite de notre comparaison Lacaune / BMC, des IA intra-utérines ainsi que des observations de la remontée des spermatozoïdes *in vivo* et *in situ* (Druart *et al.*, 2009) pourraient être envisagées, afin de confirmer que le passage du col est bien une étape limitante et explique au moins en partie l'écart de fertilité entre ces deux races. Enfin, au vu des résultats de Fair *et al.* (2005, 2006) et à l'instar de ce qui a été fait dans le cadre d'une autre étude menée dans les Pyrénées en collaboration avec les centres d'IA français et espagnols (Arranz *et al.*, 2008), nous projetons de poursuivre nos investigations sur les pertes embryonnaires chez les deux races, sur des effectifs plus importants, en combinant des constats de gestation précoces (dosage de la PAG) et plus tardifs (échographie) et les données de mise bas.

*Les auteurs remercient vivement le personnel de la station FEDATEST et du GIE US ROM pour sa précieuse aide technique.*

- Arranz, J.M., Freret, S., Fidelle, F., Fatet, A., Druart, X., Beckers, J.F., Sulon, J., Sousa, N.M., Bodin, L., David, I., Lagriffoul, G., Beltran De Heredia, I., Sasieta, L., Arrese, F., Maeztu Sardina, F., Lana Soto, M.P., Lasarte, M., 2008. 15èmes Rencontres Recherches Ruminants, 359-362.
- Cumming, I.A., Buckmaster, J.M., Blockey, M.A. deB., Goding, J.R., Winfield, C.G., Baxter, R.W., 1973. Biol. Reprod., 9, 24-29
- Donovan, A., Hanrahan, J.P., Duffy, P., Boland, M.P., 2000. *Irish J Agric. Food Res.*, 39, 3
- Donovan, A., Hanrahan, J.P., Kummén, E., Duffy, P., Boland, M.P., 2004. *Animal Reproduction Science*, 84, 359-368
- Druart, X., Cognié, J., Baril, G., Clément, F., Dacheux, J.L., Gatti, J.L., 2009. *Reproduction*, 138, 45-53
- Fair, S., Hanrahan, J.P., O'Meara C.M., Duffy, P., Rizos, D., Wade, M., Donovan, A., Boland, M.P., Lonergan, P., Evans, A.C.O. 2005. *Theriogenology*, 63, 1995-2005
- Fair, S., Hanrahan, J.P., Ward, F., O'Meara C.M., Duffy, P., M., Donovan, A., Lonergan, P., Evans, A.C.O., 2006. *Theriogenology*, 66, 191-197
- Fair, S., Hanrahan, J.P., Donovan, A., Duffy, P., O'Meara C.M., M., Lonergan, P., Evans, A.C.O., 2007. *Animal Reproduction Science*, 97, 284-294
- Fatet, A., Leboeuf, B., Freret, S., Druart, X., Bodin, L., Caillat, H., David, I., Palhière, I., Boué, P., Lagriffoul, G., 2008. 15èmes Rencontres Recherches Ruminants, 355-358.
- Kaabi, M., Alvarez, M., Anel, E., Chamorro, C.A., Boixo, J.C., de Paz, P., Anel, L., 2006. *Theriogenology*, 66, 1876-1883
- Martin, V., 2007. Mémoire de stage, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 38 p.
- Roy, F., Combes, B., Vaiman, D., Cribiu, E.P., Pobel, T., Deletang, F., Combarous, Y., Guillou, F., Maurel, M.C., 1999. Biol. Reprod., 61, 209-218
- SAS Institute, 2000. In *SAS/STAT Software: User's Guide, release 8.0*. Cary, NC: SAS Institute.