

Effet d'une supplémentation énergétique sur la réponse de chèvres alpines à l'effet mâle

FRERET S. (1), FASSIER T. (2), BOUVIER F. (2), CAILLAT H. (3), PELLICER-RUBIO M.-T. (1)

(1) INRA UMR PRC Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly

(2) INRA UE Bourges, Domaine de la Sapinière, 18390 Osmoy

(3) INRA UE FERLUS, route de Saintes BP 6, 86600 Lusignan

RESUME

Nous cherchons à développer chez les caprins de nouveaux protocoles d'induction des ovulations pendant l'anoestrus saisonnier, associant effet mâle et traitements photopériodiques, et permettant une synchronisation des ovulations compatible avec l'utilisation de l'insémination artificielle. Dans ce cadre, nous avons étudié chez des chèvres de race Alpine les effets d'une supplémentation énergétique à court-terme (basée sur l'utilisation de propylène-glycol) sur le degré de synchronisation de la réponse ovulatoire après effet bouc. Les résultats observés, concernant à la fois le moment d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH et la montée de progestéronémie après introduction des boucs, suggèrent i/ un avancement des ovulations induites par l'effet mâle au moment du cycle normal, et ii/ une plus grande synchronie de ces ovulations chez les chèvres supplémentées et présentant une réponse ovulatoire de type cycle court – cycle normal après effet mâle.

Effect of a dietary energy supplement on the response of Alpine goats to the male effect

FRERET S. (1), FASSIER T. (2), BOUVIER F. (2), CAILLAT H. (3), PELLICER-RUBIO M.-T. (1)

(1) INRA UMR PRC Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly

SUMMARY

We aim to develop new protocols for goats that associate the male effect and photoperiodic treatments to induce ovulations during the anoestrus season, and that also synchronize ovulations allowing the use of artificial insemination. Using Alpine goats, we studied the effects of a short-term dietary energy supplementation (based on propylene-glycol) on the synchronization of ovulations induced by bucks. The results concerning both the time of the pre-ovulatory LH peak and the time when plasma progesterone began to rise after buck introduction, suggest i/ that ovulations in normal cycles occur earlier and ii/ are better synchronized in supplemented goats presenting a "short cycle – normal cycle" response after the male effect.

INTRODUCTION

Chez les petits ruminants, l'insémination artificielle (IA) est majoritairement réalisée sur oestrus induit. Les traitements hormonaux utilisés pour l'induction et la synchronisation des chaleurs et des ovulations assurent une très bonne synchronisation de ces ovulations, de l'ordre de 12-24 h chez la chèvre (Leboeuf *et al.*, 2003), ce qui permet une seule IA à un moment prédéterminé et sans détection des chaleurs.

L'effet mâle est une technique permettant d'induire des ovulations synchrones en dehors de la saison sexuelle chez des femelles anovulatoires, et donc d'obtenir un bon groupage des mises bas à faible coût. Chez la chèvre, la synchronisation de la 1^{ère} ovulation induite par le mâle (de l'ordre de 24 h) serait compatible avec des protocoles d'IA similaires à ceux appliqués après traitement hormonal, mais cette ovulation est généralement suivie d'une phase lutéale de courte durée (lutéolyse précoce). Ce *cycle court* n'est pas fertile, mais est normalement suivi par une 2^{ème} ovulation avec phase lutéale de durée normale. Ce *cycle normal* est fertile, mais la synchronisation de cette ovulation, de l'ordre de 48 h chez la chèvre, est moins marquée qu'après traitement hormonal et est insuffisante pour utiliser l'IA (voir revue de Pellicer *et al.*, 2009). Actuellement, le seul moyen d'induire de façon systématique un cycle normal fertile à la 1^{ère} ovulation induite par effet mâle consiste à réaliser un traitement progestatif. Chez les caprins, l'effet mâle associé à un traitement lumineux et un progestagène (Pellicer *et al.*, 2008) ou à de la progestérone et une prostaglandine (López-Sebastian *et al.*, 2007) permet d'augmenter la synchronie des ovulations fertiles induites (de l'ordre de 24 h) et de pratiquer une seule IA à un moment fixe sans détection de chaleurs, avec des résultats de fertilité similaires à ceux obtenus avec le traitement hormonal classique.

D'autre part, l'efficacité de la réponse des femelles à l'effet mâle dépend de différents facteurs : race, âge, période de l'année pendant laquelle est réalisé l'effet mâle, statut métabolique... (voir revues de Walkden-Brown *et al.*, 1999 ; Chemineau *et al.*, 2006 ; Scaramuzzi & Martin, 2008), d'où

une grande variabilité du nombre de femelles répondant à l'effet mâle et du type de réponse ovulatoire, dans la mesure où ces facteurs ne sont pas maîtrisés.

Dans le cadre du projet européen FLOCK-REPROD, de nouveaux protocoles associant effet mâle et traitements lumineux sont en cours d'étude chez les caprins, avec pour objectifs d'éliminer l'utilisation des traitements progestatifs et de pouvoir utiliser l'IA. Dans le travail présenté ici, nous avons évalué les effets d'une supplémentation énergétique à court-terme des chèvres sur le degré de synchronisation de la réponse ovulatoire après effet bouc. Nous nous sommes basés sur les travaux de De Santiago-Montes *et al.* (2008) et Fitz-Rodríguez *et al.* (2009) au Mexique afin de définir la période de supplémentation : pendant la semaine précédant l'introduction des boucs (la cible étant la 1^{ère} ovulation induite par le mâle) et pendant la semaine suivant cette introduction (la cible étant la 2^{ème} ovulation induite par le mâle, c'est-à-dire la 1^{ère} ovulation fertile, sur laquelle les chèvres peuvent être inséminées). Nous avons choisi d'utiliser un complément alimentaire à base de propylène glycol (composé glucoformateur, Nielsen & Ingvarsen, 2004), commercialisé sous forme de granulés notamment en caprins, afin de faciliter l'administration aux chèvres (forme, dose, appétence) et de pouvoir envisager une application terrain.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL ET ANIMAUX

Le protocole a été répété sur 2 années consécutives dans le troupeau caprin de l'Unité Expérimentale INRA de Bourges. Au total, 100 chèvres alpines primipares et multipares en lactation, ayant mis bas environ 6 mois avant l'effet mâle, ainsi que 20 boucs alpins adultes, ont été utilisés. Mâles et femelles étaient en photopériode naturelle avant le début du protocole. Des lots de chèvres homogènes ont été constitués sur la base de paramètres zootechniques qui sont décrits dans le tableau 1 : en 2011, lot témoin (n=20) et lot 60 g/j (n=20) et en 2012, lot témoin (n=20), lot 60 g/j (n=20) et lot 120 g/j (n=20).

Tableau 1 Paramètres zootechniques concernant les chèvres en début de protocole, ainsi que poids et NEC en fin de protocole

Paramètres (moyenne ± écart-type)	Lot témoin (n=40)	Lot 60 g/j (n=40)	Lot 120 g/j (n=20)	
Poids (kg) début	57,8 ± 7,1	58,1 ± 7	59,1 ± 7,9	Effet lot NS quel que soit le paramètre
Poids (kg) fin	56,9 ± 7,3	56,5 ± 7,7	57,4 ± 8,4	
NEC (note d'état corporel) début	300,9 ± 14,3	303,8 ± 15,8	310,6 ± 11,7	
NEC fin	305,3 ± 19,4	308,1 ± 18,7	303,1 ± 12,7	Effet année sur poids début (p=0,0215), NEC début (p=0,0002), production laitière (p<0,0001)
Age (années)	2,7 ± 1	2,7 ± 0,9	2,9 ± 1,2	
Parité	2,3 ± 1	2,3 ± 1	2,7 ± 1	
Stade de lactation (j)	114,1 ± 14,6	112,7 ± 15,9	112,2 ± 13,2	
Production laitière (kg/j)	3,0 ± 0,8	2,8 ± 0,7	3,2 ± 0,9	
Délai depuis mise bas précédente (j)	196,6 ± 14,9	195,2 ± 16,2	198,2 ± 13,2	

1.2. EFFET MÂLE ET SUIVI HORMONAL

L'effet mâle a été réalisé pendant l'anoestrus saisonnier (introduction des boucs (J0) à 7 h le 27/07/2011 et le 01/08/2012), le calendrier du protocole a été rigoureusement le même pour les 2 années. Mâles et femelles ont été traités avec des implants sous-cutanés de mélatonine mimant des jours courts (Mélovine®, CEVA), posés 60 j avant introduction des boucs (1 implant/chèvre et 3 implants/bouc). Ce traitement photopériodique permet de rendre les chèvres réceptives à l'effet mâle (elles sont exposées aux boucs avant de démarrer leur cyclicité) et de stimuler l'activité sexuelle des boucs. L'effet mâle a été réalisé en utilisant des boucs munis de tabliers (pour éviter les saillies) et de harnais marqueurs (pour détecter les chaleurs), avec un ratio de 1 bouc pour 10 chèvres. Ces boucs ont été changés tous les jours et mis au repos 1 j sur 2 (d'où 20 boucs au total sur les 2 années). Une rotation des boucs a été réalisée entre les lots 1 fois/jour. L'état de cyclicité des chèvres a été évalué avant le début du protocole par dosage de la progestérone (P4) dans des échantillons de sang prélevés 2 fois à 10 jours d'intervalle (à J-36 et J-26), afin de n'inclure que des chèvres non cycliques dans les lots (l'absence de cyclicité a été également confirmée a posteriori par les dosages à J-9 et J0). Une détection d'oestrus a été réalisée 2 fois/jour matin et soir de J0 à J13 (relevé des marquages sur les chèvres). La réponse ovulatoire à l'effet mâle a été évaluée par dosage de la P4 plasmatique dans des échantillons de sang prélevés 1 fois/j de J0 à J13. Le jour de montée de P4 a été défini par une [P4] > niveau de base (= moyennes des valeurs ≤ 0,5) + 0,5 ng/ml. Le moment de l'ovulation a été estimé par l'analyse du moment d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH (hormone lutéinisante) entre J5 et J9 : la LH a été dosée dans des échantillons de sang prélevés toutes les 4 h de J5 7 h jusqu'à J9 7 h. Le moment d'apparition du pic de LH a été défini par une [LH] > niveau de base (= moyennes des valeurs ≤ 2) x 2 ng/ml. Les dosages immuno-enzymatiques (ELISA) ont été réalisés à l'UMR PRC à l'INRA de Nouzilly. A J15-16, une échographie ovarienne par voie transrectale (échographe ALOKA-SSD 900, avec sonde linéaire de 7.5 MHz) a été pratiquée sur les chèvres en position debout afin de dénombrer les corps jaunes et déterminer le taux d'ovulation (= nombre de follicules ayant ovulé et abouti à la formation d'un corps jaune).

1.3. SUPPLEMENTATION ENERGETIQUE

Toutes les chèvres ont reçu une ration de base composée de foin de dactyle-luzerne à volonté et d'un concentré de

production distribué 2 fois/j en salle de traite (à 7 h 30 et 15 h). De J-7 à J+7, les lots supplémentés ont reçu 60 ou 120 g/j/chèvre d'un complément alimentaire énergétique contenant du propylène glycol, sous forme de granulés (NUTRI'AP ENERGIE GRANULES®, Alliance Pastorale), distribués le matin au cornadis à 11 h 30 (valeur alimentaire fournie par l'analyse des granulés : 0,95 UFL/kg ; 19 g PDIN/kg et 73 g PDIE /kg).

1.4. ANALYSE STATISTIQUE

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SAS® (SAS Institute Inc., 2009). Des modèles multifactoriels incluant l'effet année et l'effet lot ont été utilisés : ANOVA pour les paramètres quantitatifs (procédure GLM) et régression logistique pour les paramètres qualitatifs (procédure LOGISTIC). L'interaction année x lot a été systématiquement testée dans les modèles, mais a été non significative quel que soit le paramètre. Lorsque l'effet année a été significatif, les données des 2 années ont été présentées séparément, sinon elles ont été regroupées. Les délais de montée de P4 et d'apparition du pic de LH après introduction des boucs ont également été comparés entre lots par une analyse de survie (procédure LIFETEST). Les effets avec p≤0,05 sont considérés comme significatifs. Les tendances (0,05<p≤0,10) sont indiquées. Dans les tableaux, NS signifie « Non Significatif ».

2. RESULTATS

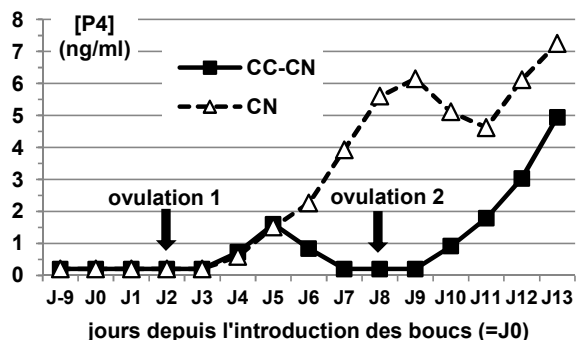
2.1. REPONSE OVULATOIRE DES CHEVRES

Avant de commencer le protocole d'effet mâle, toutes les chèvres étaient bien non cycliques (tableau 2). Sur la base des profils de progestérone après effet mâle (figure 1), toutes les chèvres ont ovulé et ont présenté 3 types de réponse ovulatoire entre J0-J13 : 1 cycle court suivi d'un cycle normal (profil CC-CN) ou 1 cycle normal (profil CN) ou 1 cycle retardé (profil CR, 1^{ère} montée de P4 ≥ J10, non représenté). La réponse la plus fréquente des chèvres a été de type CC-CN pour les 2 années (65 % en 2011 et 93 % en 2012), sans différence entre les lots (tableau 2). C'est la réponse majoritairement attendue chez des chèvres non-cycliques à cette période de l'année, et c'est donc ce sous-groupe de chèvres qui nous intéresse pour définir un protocole d'IA à temps fixe après effet mâle. C'est la 2^{ème} ovulation induite par le mâle, c'est-à-dire la 1^{ère} ovulation fertile, que nous ciblerons pour inséminer les chèvres (figure 1).

Tableau 2 Réponse ovulatoire des chèvres après effet mâle (entre J0-J13)

Paramètres	Lot témoin (n=40)	Lot 60 g/j (n=40)	Lot 120 g/j (n=20)	
% chèvres cycliques en début de protocole	0 % (0/40)	0 % (0/40)	0 % (0/20)	NS
% chèvres ayant ovulé après effet mâle	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (20/20)	NS
Type de profil de progestérone après effet mâle (CC-CN = cycle court-cycle normal, CN = cycle normal, CR = cycle retardé)				
2011	% CC-CN	70 % (14/20)	60 % (12/20)	-
	% CN	10 % (2/20)	10 % (2/20)	-
	% CR	20 % (4/20)	30 % (6/20)	-
2012	% CC-CN	95 % (19/20)	95 % (19/20)	90 % (18/20)
	% CN	5 % (1/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)
	% CR	0 % (0/20)	5 % (1/20)	10 % (2/20)

Figure 1 Types de profils de progestérone après effet mâle (exemple de 2 profils individuels représentatifs)



2.2. CARACTERISATION DES PROFILS CC-CN

Au moment du CN, 93 % (76/82) des chèvres sont venues en chaleurs, sans différence entre les lots. Le jour de début d'oestrus (=1^{er} jour de marquage) n'a pas été différent entre les lots (régression logistique, tableau 3).

En outre, 90 % (74/82) des chèvres ont présenté un pic de LH au moment du CN, sans différence entre les lots. L'heure d'apparition du pic de LH au moment du CN n'a pas été différente entre les lots (régression logistique, tableau 3).

La comparaison des courbes de survie montre que le délai introduction du bouc - pic de LH n'a pas été différent entre les lots sur l'ensemble de la période de mesure, de J5 7 h à J9 7 h (figure 2, test log-rank, $p = 0.1410$).

Cependant, l'écart de temps entre les moments auxquels 25 % et 75 % des chèvres ont présenté leur pic de LH (voir valeurs de quartiles, tableau 3) a été de 24 h pour le lot témoin (entre J7 3 h et J8 3 h), 16 h pour le lot supplémenté à 60 g/j (entre J7 3 h et J7 19 h) et 20 h pour le lot supplémenté à 120 g/j (entre J6 23 h et J7 19 h). Cela suggère une meilleure synchronie du pic de LH (le moment d'apparition du pic de LH semble moins variable) dans les lots supplémentés. Cela est confirmé par la comparaison des courbes de survie uniquement sur la période de J7 3 h à J8 3 h (quartiles du lot témoin), qui montre que le délai introduction du bouc - pic de LH a été différent entre les lots (figure 2, test log-rank, $p = 0.0183$). Ainsi, plus de 50 % des chèvres supplémentées ont présenté un pic de LH dès J7 matin à 7 h, contre seulement 30 % des chèvres témoins (figure 2) suggérant que le pic de LH est avancé dans les lots supplémentés.

Le jour de montée de P4 au moment du CN a été significativement avancé (- 1 jour) chez les chèvres supplémentées (lots 60 g/j et 120 g/j) par rapport au lot témoin (tableau 3). La comparaison des courbes de survie a montré que le délai introduction du bouc - montée de P4 a été différent entre les lots (figure 3, test log-rank, $p = 0.0028$). La P4 a augmenté avant J10 chez plus de 74 % des chèvres supplémentées, contre seulement 45 % des chèvres témoins ; et avant J11 chez plus de 94 % des chèvres supplémentées, contre 76 % des chèvres témoins (figure 3). Le nombre de corps jaunes observés à J15-16 a eu tendance à être supérieur chez les chèvres supplémentées à 120 g/j (tableau 3).

Tableau 3 Caractérisation du cycle normal (CN) chez les chèvres présentant un profil CC-CN ($n = 82$) : détection d'oestrus, pic pré-ovulatoire de LH, progestéronémie et nombre de corps jaunes, en % (effectif) ou médiane (quartile inférieur ; quartile supérieur) ou moyenne \pm écart-type (a vs b indique que les lots sont différents au seuil de $p \leq 0,05$)

Paramètres	Lot témoin ($n = 33$)	Lot 60 g/j ($n = 31$)	Lot 120 g/j ($n = 18$)	
% chèvres en oestrus au moment du CN ($n = 76$)	88 % (29/33)	100 % (31/31)	89 % (16/18)	Effet année NS Effet lot NS
Délai introduction du bouc - début d'oestrus (=1 ^{er} jour de marquage) au moment du CN (j)				
2011 ($n = 26$)	8 j (7 j ; 9 j)	7 j (7 j ; 8 j)	-	Effet année $p = 0,0595$
2012 ($n = 50$)	7,5 j (6,5 j ; 8,5 j)	7 j (6 j ; 7 j)	7 j (6,5 j ; 7,8 j)	Effet lot NS
% chèvres avec pic de LH au moment du CN ($n = 74$)	82 % (27/33)	97 % (30/31)	94 % (17/18)	Effet année NS Effet lot NS
Délai introduction du bouc - pic de LH au moment du CN (h)	184 h (164 h ; 188 h) (soit J7 3 h ; J8 3 h)	170 h (164 h ; 180 h) (soit J7 3 h ; J7 19 h)	168 h (160 h ; 180 h) (soit J6 23 h ; J7 19 h)	Effet année NS Effet lot NS
Délai introduction du bouc - montée de progestérone au moment du CN (j)	11 j (10 j ; 11 j) ^a	10 j (10 j ; 11 j) ^b	10 j (9 j ; 10 j) ^b	Effet année NS Effet lot $p = 0,0121$
Nombre de corps jaunes (CJ) à J15-16	2,1 \pm 0,3 ^a	2,2 \pm 0,6 ^{ab}	2,4 \pm 0,7 ^b	Effet année NS Effet lot $p = 0,0723$

Figure 2 Distribution des chèvres selon le moment d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH au moment du CN, chez les chèvres CC-CN ($n = 82$)

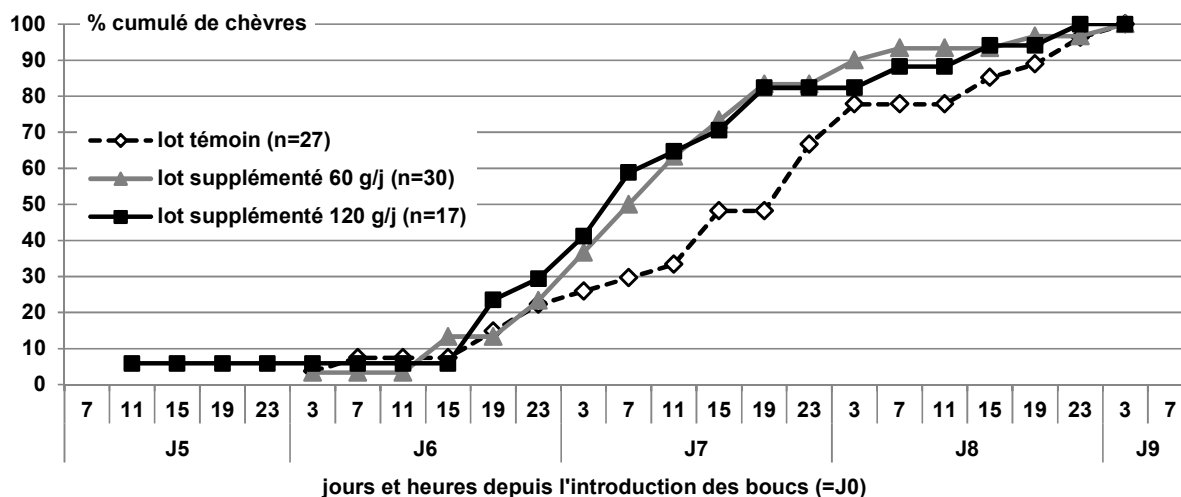
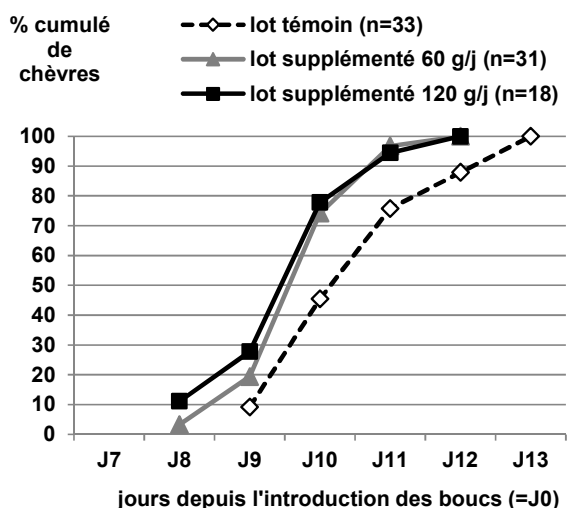


Figure 3 Distribution des chèvres selon le jour de montée de P4 au moment du CN, chez les chèvres CC-CN (n=82)



3. DISCUSSION

Les résultats concernant l'absence d'effet de la supplémentation sur le type de réponse ovulatoire des chèvres (% de CC-CN, de CN ou de CR) et sur la venue en oestrus des chèvres CC-CN au moment du cycle normal (CN) sont cohérents avec les résultats décrits par Fitz-Rodríguez *et al.*, (2009).

Les résultats concernant le moment d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH et la montée de progestérone, au moment du cycle normal chez les chèvres CC-CN suggèrent un avancement des ovulations induites par l'effet mâle, ainsi qu'une plus grande synchronie de ces ovulations chez les chèvres supplémentées. Pour une majorité d'entre elles, le pic de LH a eu lieu sur une plage de 24), alors que 78 % des chèvres du lot témoin ont présenté leur pic de LH sur une plage de 48 h (ce qui est cohérent avec les données de Pellicer *et al.* (2009) chez la même race). Dès la dose de 60 g/j, l'effet favorable de la supplémentation sur la synchronisation des ovulations nous permet d'envisager un protocole d'IA après effet mâle impliquant 1 seule IA.

Ces données suggèrent un effet positif de la supplémentation sur la pulsativité de LH, comme cela a été observé par Haruna *et al.*, (2009) chez la chèvre : en effet, l'augmentation de la pulsativité de LH entraîne le pic pré-ovulatoire de LH puis la réponse ovulatoire.

La tendance observée concernant l'augmentation du nombre de corps jaunes à J15-16 chez les chèvres supplémentées à la dose de 120 g/j semble cohérente avec les travaux de De Santiago-Montes *et al.*, (2008) et Fitz-Rodríguez *et al.*, (2009) qui ont observé une augmentation du taux d'ovulation respectivement à la 1^{ère} ovulation induite par l'effet bouc (correspondant au CC) pour une supplémentation de J-7 à J0, et à la 2^{ème} ovulation induite (correspondant au CN, comme c'est le cas dans notre étude) pour une supplémentation de J0 à J7.

Enfin, nous avons pu vérifier que les concentrations plasmatiques moyennes de glucose et d'insuline ont été modifiées par la période de supplémentation, grâce à des prélèvements effectués 2 fois/j à heure fixe (à 7 h, avant la distribution de l'alimentation, et à 16 h, après la traite) de J-9 à J9 (données non présentées). Des modifications de ces paramètres métaboliques sont généralement attendues lors de supplémentation énergétique à court-terme, cela a été observé chez la chèvre (Zabuli *et al.*, 2010) et chez la brebis (Vinoles *et al.*, 2005). Dans ces 2 études, des effets de la supplémentation ont été observés sur le développement

folliculaire, et sur le taux d'ovulation pour celle de Zabuli *et al.*, (2010), ce qui est cohérent avec nos résultats concernant la réponse ovulatoire des chèvres CC-CN.

CONCLUSION

Les perspectives de ce travail seront de définir et de tester des protocoles d'IA (nombre d'IA, moment d'IA après introduction des boucs, avec ou sans détection de chaleurs), qui prennent en compte la chronologie de la réponse ovulatoire observée chez les chèvres CC-CN supplémentées, puis d'évaluer les effets de la supplémentation énergétique sur la fertilité après IA et sur la prolificité. En effet, nous devons prendre en considération les effets potentiellement divergents d'une variation des apports énergétiques sur la croissance folliculaire, la maturation ovocytaire et le développement embryonnaire.

Bien que dans cette étude, la synchronisation des ovulations obtenue après un effet mâle associé à une supplémentation énergétique à court-terme des chèvres n'atteigne pas celle obtenue après traitement hormonal, elle peut néanmoins présenter un intérêt pour utiliser l'IA, dans un contexte comme celui de l'Agriculture Biologique, qui interdit dans son cahier des charges l'utilisation des traitements hormonaux de synchronisation.

Nous tenons à remercier très vivement l'ensemble du personnel de l'équipe caprine de l'INRA Bourges, sans qui ce travail n'aurait pu être mené, ainsi que le personnel du laboratoire de dosages de l'UMR PRC à l'INRA Nouzilly. Ce travail a été financé par l'Union Européenne dans le cadre du projet FLOCK-REPROD (7th Framework Programme FP7-SME-2008-2, field Capacities "Research for the benefit of SME Associations", grant agreement n°243520-FLOCK-REPROD, <http://www.flock-reprod.eu/>).

- Chemineau P., Pellicer-Rubio M-T., Lassoued N., Khaldi G., Monniaux D., 2006.** *Reprod. Nutr. Dev.* 46, 417-429
- De Santiago-Miramontes M.A., Rivas-Munoz R., Munoz-Gutierrez M., Malpaux B., Scaramuzzi R.J., Delgadillo J.A., 2008.** *Anim. Reprod. Sci.*, 105, 409-416
- Fitz-Rodríguez G., De Santiago-Miramontes M.A., Scaramuzzi R.J., Malpaux B., Delgadillo J.A., 2009.** *Anim. Reprod. Sci.*, 116, 85-94
- Haruna S., Kuroiwa T., Lu W., Zabuli J., Tanaka T., Kamomae H., 2009.** *J. Reprod. Dev.*, 55(1), 39-44
- Leboeuf B., Forgerit Y., Bernelas D., Pognard J.L., Senty E., Driancourt M.A., 2003.** *Theriogenology* 60, 1371-1378
- López-Sebastian A., González-Bulnes A., Carrizosa J.A., Urrutia B., Díaz-Delfa C., Santiago-Moreno J., Gómez-Brunet A., 2007.** *Theriogenology* 68, 1081-1087
- Nielsen N.I., Ingvarsen K.L., 2004.** *Animal Feed Science and Technology* 115, 191-213
- Pellicer-Rubio M.T., Ferchaud S., Freret S., Tournadre H., Fatet A., Boulot S., Pavie J., Leboeuf B., Bocquier F., 2009.** *INRA Productions Animales*, 22 (3), 255-270
- Pellicer-Rubio M.T., Leboeuf B., Bernelas D., Forgerit Y., Pognard J.L., Bonnée J.L., Senty E., Breton S., Brun F., Chemineau P., 2008.** *Anim. Reprod. Sci.* 109, 172-188
- Scaramuzzi R.J., Martin G.B., 2008.** *Reprod. Domest. Anim.*, 43 Suppl. 2:129-36
- Vinoles C., Forsberg M., Martin G.B., Cajarville C., Repetto J., Meikle A., 2005.** *Reproduction*, 129, 299-309
- Walkden-Brown S.W., Martin G.B., Restall B.J., 1999.** *J. Reprod. Fert. Suppl.* 52, 243-257
- Zabuli J., Tanaka T., Lu W., Kamomae H., 2010.** *Anim. Reprod. Sci.*, 122, 288-293