

**Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale**



THESE

Présentée par :

AMROUN-LAGA THILALI THANINA

**En vue de l'obtention du
Diplôme de Doctorat en Biologie
Option : Biologie Animale**

THEME :

**IMPACT DE LA COMPOSITION DU LAIT SUR LA
MORTALITE DES LAPEREUX SOUS LA MERE DANS DEUX
TYPES GENETIQUES DE LAPINES EN ALGERIE :
LA POPULATION BLANCHE ET LA SOUCHE SYNTHETIQUE**

Présentée par AMROUN LAGA Thilali Thanina

Devant le jury composé de :

MATI Abderrahmane	Professeur	UMMTO	Président
ZERROUKI-DAOUDI Nacera	Professeur	UMMTO	Directeur de thèse
CHARLIER Madia	Docteur	INRA Paris	Co-directeur
BENABDESSELAM Rosa	Maitre de Conférences A	UMMTO	Examineur
AIN-BAZIZ Hacina	Professeur	ENSV Alger	Examineur
LAMARA Ali	Maitre de Conférences A	ENSV Alger	Examineur
MIRANDA Guy	Chargé de recherche	INRA Paris	Invité

Dédicaces

A la mémoire de ma défunte maman, qu'elle repose en paix.

Je dédie ce travail

A mon cher père

A mon cher époux Meziane

A la famille Amroun et belle famille Laga.

A mes amis (es) et collègues de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques.

Grand merci à tous pour votre soutien et votre présence auprès de moi durant toutes ces années de travail.

Remerciements

Le présent travail a été le résultat d'une collaboration Franco-Algérienne, réalisée dans le cadre du partenariat Hubert Curien (TASSILI). La partie algérienne a été réalisée dans le cadre des activités de l'équipe de recherche dirigée par **Mme Nacira ZERROUKI** au niveau du laboratoire Ressources naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. La partie française a été réalisée au sein des équipes « Génomique Fonctionnelle et Physiologie de la Glande Mammaire », sous la direction de **Mme Madia CHARLIER** et « Lait Génome et Santé », sous la direction **des Ms Patrice MARTIN et Guy MIRANDA** (INRA, UMR 1313GABI, Jouy-en-Josas).

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance à :

Monsieur **Abderrahmane MATI** (Professeur, UMMTO) pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

Madame **Hacina AIN-BAZIZ** (Professeur, ENSV Alger) pour avoir évalué ce travail et avoir accepté d'en être examinateur de mon jury.

Madame **Rosa BENABDESSELAM** (Maitre de conférences A, UMMTO) pour avoir évalué ce travail et avoir accepté d'en être examinateur de mon jury.

Monsieur **Ali LAMARA** (Maitre de conférences A, ENSV Alger) pour avoir évalué ce travail et avoir accepté d'en être examinateur de mon jury.

Monsieur **Guy MIRANDA** (Ingénieur de Recherche, INRA) pour avoir accepté de participer à mon jury en qualité d'invité d'honneur.

Je remercie enfin Mesdames **Nacira ZERROUKI-DAOUDI** et **Madia CHARLIER** pour avoir encadré cette thèse et m'avoir témoigné tant de confiance et d'amitié durant toutes ces années. Ces quelques mots ne suffiront pas à vous exprimer ma gratitude et mon affection.

Je remercie Messieurs **Patrice MARTIN et Guy MIRANDA** pour m'avoir supervisée, initiée aux techniques d'analyse des protéines (SDS-PAGE et LC-MS) au sein de l'équipe LGS.

Je tiens également à remercier tous les membres de l'équipe GFP-GM sans qui ce travail n'aurait pu être réalisé. Je cite, Mme **Fabienne Le Provost** responsable de l'équipe, Mmes **Eve Devinoy, Cathy Hue-Beauvais, Ms Etienne Aujean et Nicolas Brun**

Sans oublier l'aide précieuse de Mme Zuzana Krupova dans la réalisation de mes manipulations et celle de Mme Florence Jaffrezic pour l'analyse statistique des résultats.

Je souhaite également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : CARACTERISTIQUES DE LA CUNICULTURE EN ALGERIE

1- Généralités sur le lapin.....	3
1-1-Historique.....	3
1-2-Systématique.....	3
2- Les atouts de l'élevage du lapin	3
3- Elevage du lapin dans le monde.....	4
4-Elevage du lapin en Algérie.....	5
4-1-Espèces cunicoles en Algérie.....	6
4-1-1- Population locale : le lapin Kabyle.....	7
4-1-2- Population blanche (PB).....	7
4-1-3-Souche synthétique (SS).....	7
4-2-Performances zootechniques des espèces cunicoles en Algérie.....	8
4-2-1-Performances de reproduction.....	8
4-2-2-Performances de croissance.....	8
4-3- Mortalité des lapereaux.....	9
4-3-1- Définitions.....	9
4-3-2- Mortalité dans les élevages cunicoles Algériens.....	10

Chapitre II : LA REPRODUCTION CHEZ LA LAPINE

1-Particularités de la reproduction chez la lapine.....	12
1-2-Différenciation sexuelle.....	12
1-3-Age de mise en reproduction.....	12
1-4-Ovulation.....	13
1-5- Gestation.....	14
1-6- Mise bas.....	15
2-Lactation et l'allaitement.....	16

Chapitre III : LA LACTATION CHEZ LA LAPINE

1-Glande mammaire.....	17
1-1-Développement, structure et fonction.....	17
1-1-1- Développement au cours de la vie.....	18
1-1-1-1-Mammogénèse.....	20
1-1-1-3-Galactopoïèse et involution.....	22
1-2- Mécanismes de sécrétion du lait.....	23
1-3-Structure de la glande mammaire en lactation.....	24
1-3-1-Cellules épithéliales mammaires.....	25
1-3-2-Cellules myoépithéliales.....	26
1-3-3-Cellules progénitrices.....	27
1-3-4- Adipocytes.....	27
2-Production et composition du lait.....	28

Chapitre IV : CARACTERISTIQUES DU LAIT DE LAPINE

1-Production laitière chez la lapine.....	30
1-1-Aspect quantitatif de la production laitière chez la lapine.....	30
1-2-Aspect qualitatif de la production laitière chez la lapine.....	31
1-2-1- Composants du lait de lapine.....	31
1-2-1-1- Protéines.....	32
1-2-1-2-Matière grasse (MG).....	36
1-2-1-3-Glucides.....	36

1-2-1-4-Fractions minérale et vitaminique.....	37
2-Facteurs déterminants la composition biochimique du lait de lapine.....	37
2-1-Stade de lactation.....	38
2-1-1-Stade colostrum.....	38
2-1-1-Stade lait mature.....	39
2-2- Alimentation.....	39
2-3-Rythme de reproduction et état physiologique.....	40
2-4-Effet de la race.....	40
2-5-Effet de la saison.....	40

ETUDE EXPERIMENTALE

Objectifs.....	41
-----------------------	-----------

Conditions d'élevage.....	42
----------------------------------	-----------

1-Période et lieu du déroulement de l'expérimentation.....	42
2- Conditions climatiques.....	42
3- Bâtiment d'élevage.....	43
4- Animaux.....	44
5-Conduite en reproduction.....	45
6-Suivi des animaux.....	46
7-Hygiène et prophylaxie.....	46

Expérimentations

1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en rapport avec la production laitière des lapines.....	49
--	-----------

1-1- Protocole expérimental.....	49
1-1-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère.....	50
1-1-2-Paramètres évalués.....	50
1-1-3- Evaluation de la production laitière.....	50
1-1-3-1- Evaluation quantitative de la production laitière.....	51
1-1-3-2- Evaluation qualitative de la production laitière.....	51
1-1-4-Variables calculées et analysées.....	54
1-1-5-Effets considérés.....	54
1-1-6-Analyses statistiques.....	55
1-2-Résultats.....	55
1-2-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en rapport avec la production laitière des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	55
1-2-1-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère.....	55
1-2-2-Evaluation de la production laitière.....	59
1-2-2-1- Evaluation quantitative de la production laitière.....	59
1-2-2-2-Evaluation qualitative de la production laitière.....	62
1-3-Discussion.....	68

2-Etude histologique de la glande mammaire prélevée chez les lapines de la population blanche et la souche synthétique à différents stades physiologiques.....	74
---	-----------

2-1-Protocole expérimental.....	74
2-1-1-Etude histologique de la glande mammaire.....	75
2-1-2- Variables calculées et analysées.....	80
2-1-3-Effets considérés.....	80
2-1-4- Analyses statistiques.....	80
2-2- Résultats et discussion.....	81
2-2-1-Etude morphologique de la glande mammaire.....	81

3-Evaluation de la mortalité des lapereaux de la souche synthétique et de la population blanche en rapport avec la prolactinémie, la production laitière et la morphologie de la glande mammaire.....	85
--	-----------

3-1-Protocole expérimental.....	85
3-1-1- Animaux.....	85
3-1-2-Paramètres évalués.....	86
3-1-2-Evaluation de la mortalité.....	87
3-1-3-Evaluation de la quantité de lait produit.....	87
3-1-4-Dosage du taux de protéines totales (Kit BCA).....	87
3-1-5-Dosage de la prolactine sanguine.....	88
3-1-5-1-Prélèvements sanguins.....	89
3-1-5-2-Dosage de la prolactine par la méthode IRMA.....	89
3-1-6-Histologie de la glande mammaire.....	90
3-1-7- Variables calculées et analysées.....	91
3-1-8-Effets considérés.....	91
3-1-9- Analyses statistiques.....	91
3-2- Résultats et discussion.....	92
3-2-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sur 3 cycles de reproduction.....	92
3-2-2-Evaluation de la mortalité des lapereaux en rapport avec la production laitière et la prolactinémie au sein des groupes PB-, PB+, SS- et SS+.....	93
3-2-2-1- Mortalité des lapereaux sous la mère.....	93
3-2-2-2- Production laitière.....	97
3-2-2-3-Prolactinémie.....	97
3-2-3-Etude morphologique de la glande mammaire.....	99
4-Effet des adoptions croisées entre les portées de la blanche de la population blanche et les portées de la souche synthétique sur la mortalité des lapereaux en période l'allaitement.....	103
4-1-Protocole expérimental.....	103
4-1-2-Variables calculées et analysées.....	104
4-1-2-1-Mortalité des lapereaux sous la mère.....	104
4-1-2-2-Croissance des lapereaux.....	105
4-1-3- Effets considérés.....	105
4-1-4-Analyses statistiques.....	105
4-2-Résultats et discussion.....	106
4-2-1- Evaluation de la mortalité des lapereaux.....	106
4-2-2- Evaluation de la croissance.....	107
5-Analyse fine de la fraction protéique du lait de lapine PB et SS.....	111
5-1- Etude expérimentale.....	111
5-1-1- Choix des échantillons et des techniques d'analyse.....	111
5-1-2-Dosage du taux protéique (Kit BCA).....	111
5-1-3-Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS).....	112
5-1-3-1- Ecrémage et clarification des échantillons.....	112
5-1-3-2- Analyse LC-MS des laits.....	112
5-1-4- Déphosphorylation et déglycosylation des protéines majeures du lait.....	113
5-1-4-1-Déphosphorylation.....	113
5-1-4-2-Déglycosylation.....	114
5-1-5-Electrophorèse SDS-PAGE.....	114
5-1-5-1- Principe.....	114
5-1-5-2- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide.....	115
5-2- Résultats et discussion.....	119
5-2-1- Etude descriptive des laits de type PB et SS.....	119
5-2-1-1- Identification des protéines majeures du lait de lapine par LC-MS.....	119
5-2-1-2-Comparaison des laits de type PB et SS et quantification des lactoprotéines majeures.....	120
5-2-2-Mise en évidence de l'existence de nouveaux variants des lactoprotéines majeures.....	121
5-2-3- Mise en évidence de nouveaux variants génétiques par analyse LCMS.....	123
5-2-3-1- Mise en évidence des nouveaux variants (variants B) des caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} dans l'échantillon de lait PB 400.....	123
5-2-3-2- Mise en évidence du nouveau variant (Variant C) des caséines α_{s2} dans l'échantillon de lait PB 579.....	127
5-2-4- Détermination des masses moléculaires avant modifications post-traductionnelles des différents variants génétiques.....	128
5-2-4-1-Déphosphorylation des protéines micellaires et détermination des masses moléculaires natives.....	130

5-2-4-2- Déglycosylation des protéines micellaires et détermination des masses moléculaires natives.....	132
5-2-5- Caractérisation du lait de lapine par électrophorèse SDS-PAGE.....	136
5-2-5-1- Collecte des pics d'intérêt par LC-MS (1ère dimension).....	136
5-2-5-2- Séparation par électrophorèse SDS-PAGE, des constituants protéiques contenus dans chacune des fractions collectées (2 ^{ème} dimension).....	137
5-2-6-Mise en évidence d'une corrélation entre la nature des variants génétiques et la mortalité néonatale.....	140
5-2-6-1- Corrélation entre mortalité néonatale et variants de la caséine α_{s2} chez les individus de la lignée PB.....	141
5-2-6-2-Corrélation entre mortalité néonatale et variants de la caséine α_{s1}	142
5-2-6-3- Analyse quantitative comparative des lactoprotéines majeures des laits de lapines PB et SS au cours de la lactation, aux stades L1, L5 et L10.....	144
DISCUSSION GENERALE.....	149
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	151
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	154
ANNEXES	
RESUME	

LISTE DES ABREVIATIONS

AA: Acide Aminé
Ach: Acétylcholine
ACN: Acétonitrile
APS: Ammonium Persulfate
BCA: Acide Bicinchoninique
BSA: Bovin Serum Albumin
Cas : Caséine
CEM : cellules épithéliales mammaires
°D : Degré Dornic
Da : Dalton
DA: Dopamine
EGF: Epidermal Growth Factor
GABA: Acide Gamma-Aminobutyrique
GH: Growth Hormone
GMQ : Gain Moyen Quotidien
HES : Hématoxyline Eosine Safran
HPLC: High-performance liquid chromatography
IA : Insémination Artificielle,
IGF-1: Insulin Growth Factor-1
Ileu : Isoleucine
INRA : Institut National de Recherche Agronomique
ITELV: Institut Technique des Elevages
ITMAS : Institut de Technologie Moyen Agricole Spécialisé
kCal/kg : kilo Calorie
kDa : kilo Dalton
L1 : 1^{er} jour de lactation,
L21 : 21^{ème} jour de lactation
LC-MS : Chromatographie en phase Liquide couplée à un Spectromètre de Masse
Leu : Leucine
MB : Mise bas
2-ME : 2- Mercaptoéthanol
MN: Mort-nés
MO : Microscopie Optique
Moy. : Moyenne
MW : Marqueur de poids moléculaires
NA : Noreadrenaline
ng/mL : nanogrammes/millilitre
NSO : Noyau Supra-Optique
NT : Nés Totaux
NV : Nouveau Variant
NV: Nés Vivants
ORAC: Office Régionale Aviculture Centre
ORAVIE: Office Régionale Aviculture Est
ORAVIO : Office Régionale Aviculture Ouest
PAGE : *Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis*
PB : Population Blanche
pg/mL : picogrammes/millilitre
PM: Poids Moyen
PMI : Poids Moyen Individuel
PMIN : Poids Moyen Individuel à la Naissance
PMS : poids moyen des lapereaux à la naissance jusqu'au sevrage
PP : poids de la portée
PPN: Poids de la Portée à la Naissance
PRL : Prolactine
SA : sérumalbumine

S^b : différence significative
SDS : Dodécyl Sulfate de Sodium
SN : Saillie Naturelle
SS : Souche Synthétique
TA : Tissu Adipeux
TC : Tissu Conjonctif
TE : Tissu Epithélial
TEMED : Tétra-méthyl-éthylène-diamine
Temp. : Température
TFA : Acide Trifluoroacétique
TGF- α : Transforming Growth Factor- α
TGF- β : Transforming Growth Factor- β
TNF- α :Tumor Necrosis Factor- α ,
TRFE : Lactoferrine
Trp : Tryptophane
Var B : nouveau Variant B
Var C : nouveau Variant C
Var Nat : Variant Naturel
VHD : Maladie Hémorragique Virale
WAP: Whey Acidic Protein
WRC: World Rabbit Congress
WRS: World Rabbit Science
 μ g/mL: micogrammes/millilitre
 α -Lac : α Lactalbumine

Liste des figures

Figure 1: Le lapin (<i>oryctolagus cuniculus</i>).....	3
Figure 2: Production cunicole mondiale (tonnes/an) (Gidenne, 2007).....	5
Figure 3 : Consommation mondiale de viande lapin (Kg/habitant/an) (Gidenne, 2007).....	5
Figure 4: Développement corporel durant la période de reproduction chez des lapines lourde (Rommers <i>et al.</i> , 2002).	15
Figure 5 : Glandes cutanées et mamelles de lapine (Barone <i>et al.</i> , 1973).....	18
Figure 6 : Schéma général du développement mammaire (Martinet et Houdebine, 2006).....	19
Figure 7: Régulation neuro-endocrinienne de la mammogenèse (Delouis <i>et al.</i> , 2001).....	21
Figure 8 : Contrôle hormonal de la lactogenèse (Delouis <i>et al.</i> , 2001).....	22
Figure 9 : Reflexe neuroendocrinienne de l'éjection de lait (Delouis <i>et al.</i> , 2000).....	23
Figure 10 : Schéma d'un acinus mammaire (Delouis <i>et al.</i> , 2000).....	25
Figure 11 : Schéma d'une cellule épithéliale mammaire en lactation (Delouis <i>et al.</i> , 2001).....	26
Figure 12 : Principales adipokines sécrétées par les adipocytes (Delouis <i>et al.</i> , 2001).....	28
Figure 13 : Evolution de la production laitière de lapines simplement allaitantes ou simultanément gestantes et allaitantes (Fortun-Lamothe, 2006).....	30
Figure 14 : Les fractions azotées et protéiques du lait de lapine.....	33
Figure 15 : Représentation schématique d'une sous-micelle et d'une micelle de caséines.....	33
Figure 16 : Situation géographique de la région de Tizirt.....	42
Figure 17a: Conditions climatiques de la région de Tizirt (Office national de métrologie Tizi-Ouzou 2013-2017).....	42
Figure 17b : Conditions climatiques de la région de Tizirt à différentes (Office national de métrologie Tizi-Ouzou 2013-2017).....	43
Figure 18: Vue extérieure de la station d'élevage de Tizirt.....	43
Figure 19 : Vue intérieure du bâtiment d'élevage.....	44
Figure 20: Différents phénotypes des lapines de la population blanche et de la souche synthétique.....	44
Figure 21: Illustration du rythme de reproduction semi-intensif avec saillie naturelle pratiqué entre l'année 2013 et la mi- 2015.....	45
Figure 22: Illustration du rythme de reproduction extensif avec insémination artificielle pratiqué entre de la mi-2015.....	45
Figure 23 : Paramètres mesurés au cours du cycle de reproduction et de la lactation.....	47
Figure 24: Traite manuelle des lapines.....	51
Figure 25: Organisation des traites de lait et de l'évaluation de la production laitière au cours des trois semaines de lactation.....	51
Figure 26 : Pycnomètre.....	54
Figure 27 : Evaluation du taux de mortalité des lapereaux entre 0 et 21 jours chez les lapines de la population (PB) de la souche synthétique (SS) entre 2013 et 2017.....	57
Figure 28 : Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en fonction des saisons dans les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS).....	58
Figure 29 : Evaluation de la taille de portée au cours de la lactation chez les lapines PB et SS.....	58
Figure 30 : Evolution comparée de la quantité de lait produit chez les deux types génétiques de lapines la population blanche et la souche synthétique (PB et SS).....	59
Figure 31 : Evaluation de la quantité moyenne de lait produit chez les lapines PB et SS en fonction des saisons.....	60
Figure 32 : Evaluation de la quantité de lait moyenne produit en fonction du stade de lactation chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	61
Figure 33 : Evaluation de la quantité de lait en fonction du stade de lactation et des saisons chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	62

Figure 34 : Evolution des paramètres physicochimiques mesurés sur les laits PB et SS collectés à différents stades de lactation.....	63
Figure 35 : Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et matière grasse (MG) des laits en fonction des saisons dans les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) saisons.....	64
Figure 36 : Figure 36 : Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et matière grasse (MG) des laits en fonction du stade de lactation les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS).....	65
Figure 37 : Comparaison de l'évolution de la composition des laits SS et PB en hiver et au printemps.....	66
Figure 38 : Comparaison de l'évolution de la composition des laits SS et PB en été et en automne.....	66
Figure 39 : Variations saisonnières de la quantité de lait produit par les lapines PB et SS comparées à la variation saisonnière de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement.....	69
Figure 40: Variation saisonnière de la qualité du lait produit par les lapines PB et SS comparée à la variation saisonnière de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement.....	71
Figure 41 : Schéma du protocole expérimental résumant l'organisation des prélèvements des glandes mammaires et des prélèvements sanguins, réalisés sur les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	74
Figures 42 (a, b, c, d) : Différentes étapes de prélèvement de la glande mammaire.....	75
Figure 43 (a, b, c) : Etapes de dissection de la glande mammaire.....	76
Figure 44 : Inclusion dans de la paraffine.....	77
Figure 45 : Réalisation des coupes histologiques au microtome.....	78
Figure 46 : Préparation des lames histologique à l'étape de la coloration.....	79
Figure 47 : Nanozoomer (Hamamatsu Photonics, Tokyo, Japon).....	79
Figure 48: Analyses histologiques des glandes mammaires prélevées à différents stades physiologiques sur des lapines de la population blanche (PB).....	82
Figure 49: Analyses histologiques des glandes mammaires prélevées à différents stades physiologiques sur des lapines de la population blanche (SS).....	82
Figure 50 : Schémas du protocole expérimental permettant la mise en lots des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	86
Figure 51 : Localisation de la veine marginale auriculaire.....	88
Figure 52 : Etapes du prélèvement sanguin au niveau de la veine marginale de l'oreille.....	89
Figure 53 : Evolution des taux de mortalité au sein des groupes de lapines PB+, PB-, SS+ et SS- à différents stades de lactation.....	93
Figure 54 : Evolution des quantités de lait produit au cours de la période d'allaitement chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	95
Figure 55 : Evolution de la teneur en protéines totales dans le lait de lapines PB+, PB-, SS+ et SS- au cours de la période d'allaitement.....	96
Figure 56 : Evolution des taux de prolactine sanguins au cours de la période d'allaitement chez les lapines PB et SS.....	98
Figure 57 : Coupes histologiques d'une glande mammaire de lapine gestante au 15 ^{ème} jour de la gestation colorées à l'hématoxyline-éosine (HES) et observées à différents grossissements.....	100
Figure 58 : Organisation des adoptions croisées des portées entre lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS) au sein des différents lots expérimentaux.....	103
Figure 59 : Evolution du poids des portées PB et SS au cours de la période de lactation (groupes témoins).....	108
Figure 60 : Evolution du poids des portées des groupes (Lapereaux SS / Lait SS) et (Lapereaux SS / Lait PB) au cours des premiers 21 jours de lactation.....	108
Figure 61 : Evolution du poids des portées PB-lait PB comparée aux portées PB -lait SS au cours de la période de lactation.....	109
Figure 62 : Fixation du SDS sur les chaines polypeptidiques.....	116
Figure 63 : Action du SDS en présence du mércaptoéthanol sur les protéines.....	116
Figure 64 : Illustration schématique de la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE SDS).....	117
Figure 65 : Identification des protéines majeures des laits des lapines PB et SS.....	119

Figure 66 : Isoformes de phosphorylation de la caséine α_{s2} -like dans le lait de type PB.....	120
Figure 67 : Profils chromatographiques des laits de type PB (laits 1, 2, 3) et SS (laits 4, 5, 6, 7).....	120
Figure 68 : Comparaison des profils chromatographiques des laits collectés sur les lapines PB au stade L10.....	122
Figure 69 : Comparaison des profils chromatographiques des laits collectés sur les lapines SS au stade L10.....	122
Figure 70 : Masses observées des lactoprotéines présentes sous le pic 5. 11761,37 Da correspondant à l'isoforme 2P du Variant Naturel de la WAP ; 21134,61 pouvant correspondre à l'isoforme 4P du nouveau Variant de la caséine α_{s2} (Variant B).....	124
Figure 71 : Masses observées des lactoprotéines présentes sous le pic 8 du chromatogramme du lait PB400. 20205,81 Da peuvent correspondre à l'isoforme 7P du nouveau Variant B de la caséine α_{s2} -like ; 24533,15 correspondant à l'isoforme 7P du Var Nat de la caséine α_{s1}	125
Figure 72 : Masses observées des isoformes majoritaires des lactoprotéines présentes sous le pic 10 du chromatogramme du lait PB400. 24417,41 Da pouvant correspondre à l'isoforme 7P du Nouveau Variant B de la caséine α_{s1} ; 24289,15 pouvant correspondre à un variant d'épissage (résultant de la perte d'un résidu Gln en début d'exon) de l'isoforme 7P du nouveau Variant B de la caséine α_{s1}	126
Figure 73 : Masses observées des lactoprotéines présentes sous le pic 6 du chromatogramme du lait PB579. 21129,87 Da peuvent correspondre à l'isoforme 3P du Variant C de la caséine α_{s2} ; 21207,18 peuvent correspondre à l'isoforme 4P du Variant C de la caséine α_{s2}	128
Figure 74 : Profil LC-MS d'un lait écrémé de la souche SS au 10 ^{ème} jour de lactation.....	129
Figure 75 : Comparaison des profils chromatographiques de la solution de micelles de caséines.....	129
Figure 76 : Profil chromatographiques de la solution micellaire avant (A) et après (B) déphosphorylation.....	130
Figure 77 : Spectre déconvolué du pic correspondant à la caséine κ avant déglycosylation.....	133
Figure 78 : Spectre déconvolué du pic correspondant à la caséine κ après déglycosylation.....	134
Figure 79 : Collecte des fractions d'intérêt par LC-MS. En vert sont indiquées les zones de collecte et chaque tube collecté est indiqué par des traits verticaux.....	136
Figure 80 : Analyse des fractions collectées par LC-MS sur gel SDS-PAGE (12%). Dans la partie gauche du gel sont regroupées les fractions correspondant aux caséines (F1, F3, F4, F8, F9, F10). Dans la partie droite du gel sont regroupées les fractions correspondant aux protéines du lactosérum (F2, F6, F7).....	138
Figure 81 : Analyse du lait PB400 après écrémage sur gel NuPAGE (4-12%).....	139
Figure 82 : Diagramme électrophorétique des lactoprotéines majeures du lait de lapine de la population blanche.....	140

Liste des tableaux

Tableau 1: Synthèse des poids vifs obtenu pour le lapin Kabyle à différents âges.....	7
Tableau 2: Performances de reproduction évaluées sur trois types génétiques de lapines.....	8
Tableau 3: Synthèse bibliographique portant sur la mortalité des lapereaux au sein des populations blanche, locale et la Souche synthétique.....	9
Tableau 4 : Synthèse bibliographique portant sur la mortalité des lapereaux au sein des populations blanche, locale et la souche synthétique.....	11
Tableau 5: Composition biochimique du lait de lapine comparée aux autres laits de mammifères.....	29
Tableau 6: Composition chimique du lait de lapine.....	32
Tableau 7: Comparaison de la composition du lait de différentes espèces de mammifères.....	32
Tableau 8: Caractéristiques des caséines du lait de lapine.....	34
Tableau 9 : Synthèse bibliographique sur les protéines sériques du lait et lapine.....	35
Tableau 10 : Concentrations des immunoglobulines dans le sérum, le colostrum et le lait de différentes espèces de mammifères.....	35
Tableau 11: Composition en acides gras du lait de lapine.....	36
Tableau12: Composition minérale du lait de lapine comparée aux laits bovin, caprin et ovin.....	37
Tableau 13: Concentration des vitamines dans le lait de lapine.....	37
Tableau 14:Composition chimique du lait de lapine.....	38
Tableau 15:Contenu en vitamines (mg/ml) du lait de lapine, à différents stades de lactation	38
Tableau 16: Composition du lait de la lapine en acides gras à différentes situation physiologiques ou nutritionnelles.....	39
Tableau 17: Composition moyenne de lait de lapine en fonction du rythme de reproduction.....	40
Tableau 18 : Effectifs des lapines utilisés en fonction du mode de reproduction	49
Tableau 19 : Effectifs de toute la période (2013 à 2017).....	56
Tableau 20: Rythmes de reproduction et effectifs par année	56
Tableau 21 : Performances de reproduction et de production laitière des lapines PB et SS en rapport avec le taux de mortalité enregistrés sur 5 années d'investigations.....	56
Tableau 22 : Evolution des taux de mortalité des lapereaux et de la fertilité des lapines de la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) en fonction du mode de reproduction.....	68
Tableau 23 : Synthèse bibliographique portant sur l'évolution de la composition biochimique du lait de lapines (différentes races) en fonction du stade de lactation.....	72
Tableau 24: Comparaison des proportions relatives du tissu épithélial (TE) par rapport aux tissus adipeux (TA) et conjonctif (TC) sur les glandes mammaires prélevées sur les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS) à différents stades physiologiques.....	83
Tableau 25 : Effectifs des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	86
Tableau 26 : Organisation des prélèvements sanguins au cours de la période de lactation sur les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).....	88
Tableau 27 : Evaluation de la mortalité (%) des lapereaux au sein des groupes de lapines de la population blanche (PB- et PB+) et de la souche synthétique (SS- et SS+) sur 3 cycles de reproduction.....	92
Tableau 28: Evaluation de la mortalité (%) des lapereaux au sein des groupes de lapines de la population blanche (PB+ et PB-) et de la souche synthétique (SS+ et SS-) au cours des 3 premières semaines de lactation.....	93
Tableau 29 : Evaluation de la production laitière (g) des 4 groupes de lapines de la population blanche (PB+ et PB-) et de la souche synthétique (SS+ et SS-) au cours des 3 premières semaines de lactation.....	95
Tableau 30 : Evolution de la teneur en protéines totales du lait de lapines de la population blanche et de la souche synthétique en fonction du stade lactation comparée aux données bibliographiques.....	97
Tableau 31 : Comparaison des proportions relatives du tissu épithélial (TE) par rapport aux tissus adipeux (TA) et conjonctif (TC)	

sur les glandes mammaires prélevées sur les lapines des groupes PB- et SS+ au stade mi-gestation.....	101
Tableau 32 : Effectifs des groupes d'animaux témoins et expérimentaux après croisement des portées entre les deux types de lapines (PB et SS).....	104
Tableau 33 : Homogénéisation des poids des portées à la mise bas dans les groupes témoins et expérimentaux après croisement des portées entre les deux types de lapines.....	104
Tableau 34 : Evaluation des taux de mortalité des lapereaux allaités par les lapines SS et PB suivant le schéma des adoptions croisées (3 cycles de reproduction).....	106
Tableau 35 : Comparaison des poids des portées et des poids individuels au sein de lapines PB et SS suivant schéma des adoptions croisées (3 cycles de reproduction).....	107
Tableau 36 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des lactoprotéines majeures des laits de lapines.....	121
Tableau 37 : Détermination des variants génétiques des lactoprotéines majeures du lait de la lapine PB 400.....	123
Tableau 38 : Détermination des variants génétiques des lactoprotéines majeures du lait de la lapine PB 579.....	127
Tableau 39 : Masses observées dans chacun des pics du chromatogramme avant déphosphorylation.....	131
Tableau 40 : Masses observées après déphosphorylation.....	132
Tableau 41 : Masses avant et après déglycosylation.....	133
Tableau 42 : Valeurs des masses théoriques attendues après déglycosylation.....	135
Tableau 43 : Identification des lactoprotéines présentes dans les fractions F1 à F10.....	137
Tableau 44 : Répartition des échantillons de lait PB selon les variants de la caséine α_{s2}	141
Tableau 45 : Tests statistiques entre la mortalité néonatale et les variants de la caséine α_{s2} chez les individus PB.....	142
Tableau 46 : Répartition des échantillons de lait selon les variants de la caséine α_{s1}	143
Tableau 47 : Tests statistiques entre la mortalité néonatale et le variant de la caséine α_{s1} chez les individus PB.....	143
Tableau 48 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines PB à trois stades de lactation (L1, L5 et L10).....	145
Tableau 49 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines	146
Tableau 50 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines PB et SS à trois stades de lactation (L1, L5 et L10).....	147
Tableau 51 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines PB et SS à trois stades de lactation (L1, L5 et 10).....	148

Publications et communications se rapportant à la thèse

Publications internationales

- **Amroun T. T.**, Zerrouki-Daoudi N. et Charlier M. **2018**. Mortalité de lapereaux de population blanche et de souche synthétique : effets des variations saisonnières et de la production laitière des lapines. *Livestock Research for Rural Development*. Vol 30, Article 14. Retrieved January 12, **2018**, from <http://www.lrrd.org/lrrd30/1/thil30014.html>.

- **Amroun T.T.**, Bianchi L., Zerrouki-Daoudi N., Lebas F., Charlier M., Devinoy E., Martin P., Miranda G. **2016**. Characterization of the protein fraction of milk produced by two genetic types of rabbits in the region of Tizi-Ouzou, 175-178. Proceedings of the 11th World Rabbit Congress Qingdao (China) - June 15-18, **2016**, ISSN 2308-1910.

- **Amroun T.T.**, Zerrouki-Daoudi N., Charlier M. **2016**. Characterization and structure of the mammary gland of rabbit related to milk production and prolactin levels recorded during lactating period. 1st International Conference on Tropical Animal Science and Production (TAPS). July 26 – 29, **2016**, Thailand.

- Zerrouki-Daoudi N., **Amroun T.T.**, Charlier M. **2016**. Milk biochemical composition and histological structure of the mammary gland in relation to the hormonal profile in rabbit does. Journal of International Scientific Publications, Agriculture & Food, **2016**, ISSN 1314-8591, Vol 4.

- **Amroun T.T.**, Bianchi L., Zerrouki-Daoudi N., Bolet G., Lebas F., Charlier E., Devinoy E., Martin P., Miranda G. **2015**. Caractérisation de la fraction protéique du lait produit par deux types génétiques de lapine de la région de Tizi Ouzou. 16èmes Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans 24-25 novembre 2015, 219-222.

- Chibah-Ait Bouziad K., Zerrouki Daoudi N., **Amroun-Laga T.T.**, Lebas F., **2014**. Effet de l'homogénéisation des portées au cours de la phase d'allaitement sur la production laitière des lapines de deux types génétiques élevées dans des conditions d'élevage rationnelles. <http://www.cuniculture.info>.

- Zerrouki N., Chibah K., **Amroun T.T.**, Lebas F., **2012**. Effect of the average kits birth weight and of the number of born alive per litter on the milk production of Algerian white population rabbit does. In Proceedings 10th World Rabbit Congress – Septembre 3-6– Sharm El-Sheikh, Egypt, WRSA Pub. ISSN: 2308-1910, 351-355.-<http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2012-Egypt/>.

Communications internationales

- **Amroun-Laga T. T.**, Zerrouki-Daoudi N. 2017- introduction de l'insémination artificielle dans un élevage cunicole et impacte sur les performances de reproduction chez les lapines de la souche synthétiques élevées dans la région de Tizi Ouzou. 5^{èmes} Journées Agroalimentaires "JSAA" du 10 au 13 Avril 2017. Sousse-Tunisie.
- **Amroun-Laga T. T.**, Zerrouki-Daoudi N., Charlier M. 2016. Evolution de la composition chimique du lait de deux types génétiques de lapine (la population blanche et la souche synthétique) au cours de deux saisons. 4^{èmes} Journées Agroalimentaires "JSAA" du 20 au 23 Mars 2016. Sousse-Tunisie.
- Zerrouki-Daoudi N. **Amroun -Laga T.T.**, Amroun D., Halouane F. 2016 .Modifications structurales de la glande mammaire en relation avec le profil hormonal chez la lapine au cours de la phase d'allaitement. 4^{èmes} Journées Agroalimentaires "JSAA" du 20 au 23 Mars 2016. Sousse-Tunisie.
- Miranda G., **Amroun T.T.**, Hue-Beauvais C., Martin P., Charlier M. 2015. LC-MS to analyze the impact of an obesogenic diet on milk protein composition in rabbits. Congres français de Spectrométrie de masse et d'analyse protonique. Ajaccio, 15-17 septembre 2015.
- Zerrouki Daoudi N., Chibah-Ait Bouziad K., **Amroun-Laga T.T.**, Lebas F., 2015. Etude de facteurs liés à la lapine sur ses capacités laitières et sur la croissance des lapereaux durant la phase naissance-sevrage. IIIème Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources (BVBR), 20-23 mars 2015, Tabarka-Tunisie.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

La cuniculture en Algérie suscite un vif intérêt, que ce soit, par le secteur privé ou étatique. Plusieurs élevages s'installent, des unités de productions d'aliments industriels se créent et la viande de lapin est de plus en plus proposée dans les marchés urbains. Les élevages cunicoles sont confrontés à un problème de mortalité des lapereaux en période d'allaitement. Ce problème représente un véritable frein au développement de la filière cunicole en raison des pertes financières qui en résultent.

En Algérie, bien que les populations locales de lapins existent et soient bien adaptées aux conditions climatiques, leur prolificité et leur poids sont trop faibles. Une collaboration entre l'INRA et l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, ayant comme finalité l'amélioration de la cuniculture, existe depuis de nombreuses années. Dans ce cadre, une souche « synthétique » (SS) issue de l'insémination de femelles d'une de ces populations locales par de la semence de mâles de la souche INRA 2666 a été développée (Gacem et Bolet, 2005 ; Gacem *et al.*, 2008). Une comparaison des performances de reproduction des lapines appartenant aux deux types génétiques élevés dans la région de Tigzirt, à savoir le lapin de population blanche (PB) et de souche SS a montré une supériorité de cette dernière pour les caractères « prolificité à la naissance » et « poids des lapines et des portées nées » (Zerrouki *et al.*, 2014 ; Lebas *et al.*, 2010). Cependant la productivité au sevrage dans la SS, exprimée en nombre de lapereaux sevrés par femelle et par portée et/ou par an s'avère très faible surtout en période estivale. Ces faibles productivités sont liées à une forte mortalité (18% chez les lapines de la population blanche, 12% chez les lapines de souche synthétique) durant la phase d'allaitement (Zerrouki *et al.*, 2014 ; Chibah-Aït Bouziad *et al.*, 2014).

Afin d'identifier les causes de cette forte mortalité, des études portant sur l'évaluation quantitative de la fonction lactée des lapines ont été réalisées. Elles ont essentiellement porté sur l'évaluation quantitative de la fonction lactée des lapines (Zerrouki *et al.*, 2012 ; Chibah-Aït Bouziad *et al.*, 2014 ; Chibah-Aït Bouziad, 2016). L'aspect qualitatif en rapport avec la mortalité des lapereaux sous la mère n'a en revanche jamais été exploré.

Notre travail s'inscrit dans un projet de collaboration franco-algérien, réalisé dans le cadre du partenariat Hubert Curien (TASSILI). La partie algérienne a été réalisée dans le cadre des activités de l'équipe de recherche dirigée par Mme Nacira ZERROUKI au niveau du laboratoire Ressources naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. La partie française a été réalisée au sein des équipes « Génomique Fonctionnelle et Physiologie de la

Glande Mammaire », sous la direction de Mme Madia CHARLIER et « Lait Génome et Santé », sous la direction des Ms. Patrice MARTIN et Guy MIRANDA (INRA, UMR 1313GABI, Jouy-en-Josas).

L'objectif de cette thèse consiste à apporter des éléments de réponse face aux problèmes de mortalité en s'appuyant sur une évolution de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement en rapport avec les aspects qualitatif de la production laitière dans un élevage comprenant les lapines de la population blanche et les lapines de la souche synthétique. Cette thèse comprend deux parties principales :

- la première partie présente une synthèse des connaissances sur la lactation chez la lapine avec un rappel de quelques particularités de la reproduction, de la composition du lait et des facteurs déterminant ses variations chez la lapine ;
- la deuxième partie est consacrée aux cinq expérimentations menées, en décrivant précisément le matériel et les méthodes utilisés, en présentant et discutant les résultats obtenus et enfin, en concluant sur les apports généraux de la thèse.

Chapitre I :
CARACTERISTIQUES DE
LA CUNICULTURE EN
ALGERIE

1- Généralités sur le lapin

1-1-Historique

Originaire du sud de l'Europe et de l'Afrique du Nord, le lapin sauvage, *Oryctolagus cuniculus*, aurait été « découvert » par les Phéniciens lors de leur prise de contact avec l'Espagne vers l'an 1000 avant J.-C. Dès le 16^e siècle, on connaît plusieurs races de lapins, premier signe d'un élevage contrôlé, remontant ainsi la domestication du lapin à la fin du Moyen Age. Au début du 19^e siècle, l'élevage du lapin en clapiers se développe dans toute l'Europe occidentale, en milieu rural mais aussi chez les ouvriers des banlieues. À cette même époque, le lapin est disséminé dans le monde entier par les Européens, là où cela n'avait pas encore été réalisé, comme en Australie et en Nouvelle-Zélande.

1-2-Systématique

D'après Linné (*Animaliumspecierum*1759), le lapin domestique se situe dans la classification taxonomique suivante (**Figure 1**) :

- Règne: Animal
- Embranchement: Vertébrés
- Classe: Mammifères
- Ordre: Lagomorphes
- Famille: Léporides (lièvre et lapin)
- Genre: *Oryctolagus*
- Espèce: *Oryctolagus cuniculus*



Figure 1 : Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*).

2- Les atouts de l'élevage du lapin

La prolificité et la vitesse de croissance sont des critères spécifiques au lapin, tout comme la qualité de sa viande. En moyenne, une lapine conduite en mode de reproduction intensif parvient à mettre bas 10 à 11 fois par année. Avec des tailles de portées de 11 à 12 lapereaux, une femelle peut donner naissance à 100 voire 130 lapereaux par an (Rossilet, 2004). D'après Lebas *et al.*, (1996), en mode semi intensif, la lapine produit de 40 à 50 petits par an représentant 60 à 65 kg/lapine/an. A titre de comparaison, chez le bovin et l'ovin respectivement les femelles ne produisent 0,6 et 1,4 petits par an (Koehl, 1994).

Suivant le degré d'intensification pratiqué, la période d'engraissement du lapin est relativement courte (1 à 2 mois). De plus, le lapin permet de valoriser au mieux les fourrages

et les sous-produits de l'agriculture et de l'industrie, contrairement aux volailles qui consomment des céréales.

Après le poulet, le lapin se place en seconde position en termes d'efficacité de transformation protéique. En effet, l'organisme du lapin fixe 20% des protéines contenues dans sa ration alimentaire sous forme de viande maigre. De plus, la composition biochimique de la viande de lapin particulièrement en matière grasse ($5 \pm 3,3\%$) et en protéines ($21 \pm 1,5\%$) place cette dernière devant les viandes de bœuf, mouton, poulet et dinde.

Elle présente un ratio protéine/énergie intéressant dans le contexte de limitation des apports caloriques (Combes, 2004). Par ailleurs, sur le plan économique, la production d'une viande d'une telle qualité nutritionnelle, diététique et organoleptique demande un investissement et des frais de main d'œuvre peu élevés comparés aux autres productions carnées.

L'ensemble de ces atouts font du lapin une espèce d'intérêt économique majeur. Il représente en effet une opportunité très pertinente pour le développement des petits élevages, en particulier dans le cas des pays en voie de développement, où les protéines animales sont difficiles à produire.

3- Elevage du lapin dans le monde

En perpétuelle évolution, la production mondiale de viande de lapin a été estimée à 1 841 000 tonnes de carcasses (Lebas et Colin, 2000), alors qu'en 1984, elle était estimée à 1 million de tonnes.

Plus de la moitié de la production (52,9 %) provient de l'Europe où la demande est très forte, suivie par l'Asie avec 30,8 % dont la grande partie revient à la Chine qui se place au premier rang mondial avec 417 000 tonnes de carcasses par an. L'Afrique en produit 10,8 % dont 60,8 % proviennent de l'Afrique du Nord (15 000 tonnes/an pour l'Algérie) (Gidenne, 2007) **(Figure 2).**

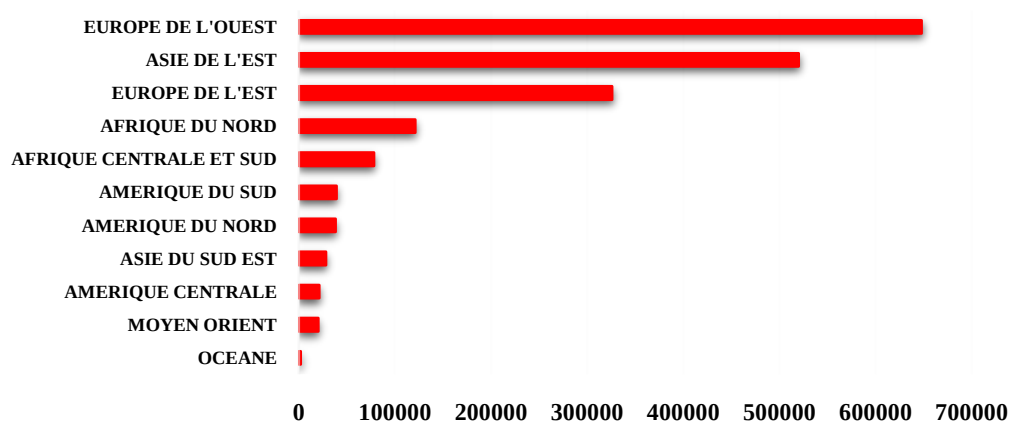


Figure 2 : Production cunicole mondiale (tonnes/an) (Gidenne, 2007).

La consommation de viande lapin est répartie de manière irrégulière à travers le monde. En effet, la consommation la plus élevée est enregistrée en Europe avec 1,7 kg/an/habitant. L'Afrique du Nord arrive en troisième position avec 0,66 kg de viande consommée/an/habitant (**Figure 3**).

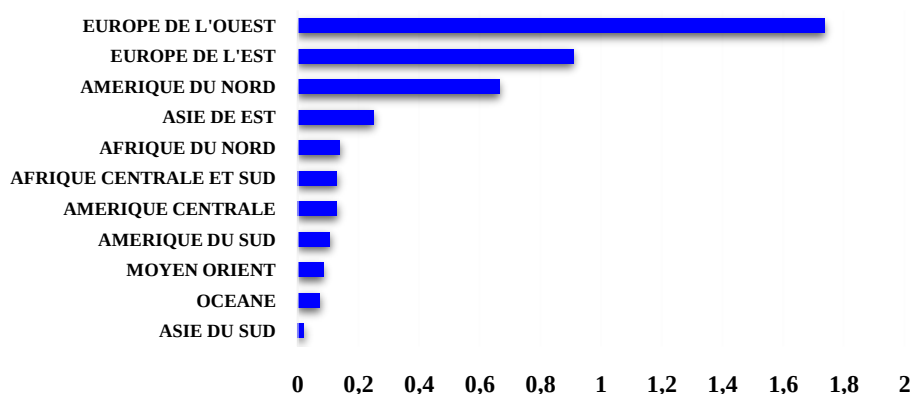


Figure 3 : Consommation mondiale de viande de lapin (kg/habitant/an) (Gidenne, 2007).

4-Elevage du lapin en Algérie

L'élevage cunicole a longtemps été délaissé. Entre 1985 et 1988, il y a eu une tentative d'intensification basée sur un cheptel exotique, avec l'objectif d'atteindre 5000 tonnes/an. Néanmoins, cette action a échoué en raison de la méconnaissance de l'espèce cunicole ainsi que le faible niveau technique des éleveurs. La fragilité du cheptel importé (hybrides), la déficience en cellulose de l'aliment utilisé et l'absence de bâtiments d'élevage adéquats ont également contribué à cette situation. Suite à cet échec, le développement de l'élevage cunicole s'est orienté vers une démarche plus rationnelle et progressive, tenant compte de la

situation des éleveurs déjà en exercice et de leurs préoccupations techniques et économiques. Dans ce sens, les programmes de développement de la cuniculture lancés dans les wilayas de Tizi Ouzou et de Constantine, respectivement en 1997 et 2000, dans le cadre de l'emploi de jeunes et de l'agriculture de montagne, ont permis l'obtention de résultats très encourageants grâce à une assistance soutenue des services techniques agricoles et de l'Institut Technique des Elevages.

Actuellement, les éleveurs utilisent à la fois des souches importées et des populations locales afin d'équilibrer leurs rendements. En parallèle, des travaux de recherche sur les races locales de lapin menés par l'université et l'ITELV, ont permis d'enregistrer de bonnes performances zootechniques (reproduction et croissance), très prometteuses pour certaines, comparativement aux résultats obtenus avec les souches exotiques (Feliachi, 2003).

4-1-Espèces cunicoles en Algérie

Les espèces cunicoles en Algérie sont représentées par la famille taxonomique des léporidés, qui intègre les lapins domestiques (*Oryctolagus cuniculus domesticus*) et les lièvres (*Lepus capensis*) ou " le lièvre brun" dont le phénotype résulte des croisements parfois volontaristes, basés sur la recherche de caractères de performances, avec des races étrangères introduites en Algérie, au cours des années 70, dans le cadre de projets de développement rural (le Blanc Néo-zélandais, le Fauve de Bourgogne, le Géant des Flandres, le Californien et même le Géant d'Espagne). Ce processus a été aggravé par l'introduction, entre 1985 et 1989, des reproducteurs sélectionnés, (hybrides comme Hyla et Hyplus), destinés aux élevages intensifs (Berchiche et Kadi, 2002; Ferrah *et al.*, 2003; Othmani-Mecif et Benazzoug, 2005; Zerrouki, 2006).

Selon Berchiche et Kadi (2002), le résultat de ces introductions aléatoires fut un mélange anarchique et la disparition du lapin originaire dans certaines régions (La Kabylie). De plus, la tentative d'introduction et d'intensification de l'élevage du lapin a échoué en raison de nombreux facteurs dont la méconnaissance de l'animal, l'absence d'aliment industriel adapté ainsi que l'absence de programme prophylactique. Après cet échec, la stratégie de développement de cette espèce s'est basée sur la valorisation du lapin des populations locales (Gacem et Bolet, 2005).

4-1-1- Population locale : le lapin Kabyle

En Algérie, une population kabyle du lapin a été le sujet de plusieurs études essentiellement zootechniques (**Tableau 1**). Appartenant à la population locale de la Kabylie (région de Tizi Ouzou), c'est un lapin caractérisé par un poids adulte moyen de 2,8 kg, valeur permettant une classification dans le groupe des races légères, comme les lapins Hollandais et Himalayen (Zerrouki *et al.*, 2001 ; Zerrouki *et al.*, 2005 ; Zerrouki-Daoudi., 2006 ; Zerrouki *et al.*, 2007).

Tableau 1 : Synthèse bibliographique portant sur les poids vifs obtenus pour le lapin Kabyle à différents âges.

Classe I (Jeunes)		Classe II (Adultes)	Références
Age (Semaine)	Poids (kg)	Poids (kg)	
13	1,800	-	Fettal, Mor et Benachour (1994)
-	-	3,000	Zerrouki <i>et al.</i> , (2001) Berchiche et Kadi, (2002)
12	1,900	≈	
13	1,926	≈	
15	2,290	2,810	Lakabi <i>et al.</i> , (2004)
-	-	2,890	Zerrouki <i>et al.</i> , (2005)
12	2,03	-	Zerrouki <i>et al.</i> , 2006 ; 2007 ; 2008 ; 2009

Présentant une bonne adaptation aux conditions climatiques locales, cette population est principalement utilisée dans la production de viande, néanmoins sa prolificité et son poids adulte sont trop faibles pour être utilisables en l'état dans des élevages de chair à réel potentiel économique. La productivité numérique enregistrée chez les femelles de cette population est de l'ordre de 25 à 30 lapins sevrés /femelle /an (Berchiche et Kadi, 2002 ; Gacem et Bolet, 2005; Zerrouki *et al.*, 2005).

4-1-2- Population blanche (PB)

La population blanche algérienne est issue des programmes de développement de la filière cunicole. En effet, durant les années 70, l'Algérie a importé quelques individus de races pures (Néo-Zélandais, Californiens, Fauve de Bourgogne) élevés à la coopérative de Draa Ben Khada. Durant les deux années 1985 et 1986, un autre programme a été lancé. Une importation de l'hybride « Hyplus » commercialisé par Grimaud frères (France) a été initiée au centre par l'ORAC, à l'ouest par l'ORAVIO et à l'est par l'ORAVIE. Cette population, de phénotype albinos dominant, est décrite comme plus prolifique et de poids plus important que la population kabyle locale précédemment décrite (Zerrouki *et al.*, 2007).

4-1-3-Souche synthétique (SS)

Une collaboration entre l'INRA, l'ITELV et l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou,

ayant pour finalité l'amélioration de la cuniculture en Algérie, a produit une souche synthétique de lapins. Ces animaux sont issus de l'insémination de 81 femelles de population locale par la semence de mâles de la souche INRA 2666 France (Gacem et Bolet, 2005 ; Gacem *et al.*, 2008). La souche 2666 a été sélectionnée à l'INRA de Toulouse pour sa prolificité (9 lapereaux nés vivants par mise bas et 7,52 sevrés) et parce qu'elle possède un poids adulte sensiblement plus élevé ainsi qu'une meilleure aptitude à la croissance que la population locale algérienne (4,2 kg adulte, vitesse de croissance de 35-37g/jour dans les conditions françaises) (Lebas et Zerrouki, 2010). Cette souche est elle-même une souche synthétique créée à partir de la Souche INRA 2066 à l'origine des hybrides commerciaux français (lignées maternelles) et de la *Linea Verde* espagnole, sélectionnée à Valence, pour son aptitude à la reproduction en conditions chaudes (Lebas, 2007 ; Bolet *et al.*, 2012).

4-2-Performances zootechniques des espèces cunicoles en Algérie

4-2-1-Performances de reproduction

Les lapines de la souche synthétique ont un poids plus important au moment de la saillie que les lapines des populations blanche et locale. Les écarts de prolificité observés montrent également une nette supériorité de la souche synthétique en comparaison avec les deux autres types génétiques (**Tableau 2**) (Gacem *et al.*, 2009 ; Lebas *et al.*, 2010 ; Zerrouki *et al.*, 2014).

Tableau 2 : Synthèse bibliographique des performances de reproduction évaluées sur trois types génétiques de lapines (Gacem *et al.*, 2009 ; Lebas *et al.*, 2010 ; Zerrouki *et al.*, 2014).

	Souche synthétique	Population blanche	Population locale
Poids de la femelle à la saillie (g)	3633 ^a	3434 ^b	3278 ^c
Taux d'acceptation de saillie (%)	64,5 ^b	69,2	6 ^b
Taux de fertilité (%)	51	52	51
Taux de mise bas	9,5 ^a	7,42 ^b	6,75 ^c
Nés totaux/mise bas	8,74 ^a	6,84 ^b	6,23 ^c
Sevrés/Sevrage	7,08 ^a	6,09 ^b	5,45 ^c
Poids indiv.Naiss. (g)	54 ^b	62 ^a	61 ^a
Poids indiv. Sevrage (g)	553 ^b	554 ^b	565 ^a

*Les chiffres suivis d'indices différents (a, b, c) sont différents ($p < 0,05$).

4-2-2-Performances de croissance

En raison des performances de croissance modestes pour les trois types génétiques, le sevrage s'effectue entre 30 et 35 jours d'âge. Les lapereaux pèsent alors entre 450 à 600 g et entament leur engraissement (Berchiche *et al.*, 2012).

A l'abattage, soit entre 77 et 84 jours, le poids vif observé est inférieur au poids souhaité puisque, les lapins de population locale pèsent entre 1500 et 1970g, par rapport aux 2 kg escomptés. Cette insuffisance pondérable est peu appréciée par le consommateur, en référence au poids du lapin hybride plus lourd (2,4 kg), au même âge. La prolongation de la durée d'engraissement d'une semaine (84jours), permet une amélioration du poids vif. Le poids optimum est mis en évidence à 77 jours (55% du poids adulte) pour ce lapin de population locale peu connu à un niveau rationnel ce qui a incité les expérimentateurs à multiplier les essais pour déterminer la période favorable pour l'abattage. L'ensemble des essais réalisés a confirmé la lenteur de la croissance du lapin de population locale qui est d'un petit format.

La vitesse de croissance moyenne se situe entre de 24 à 32 g/jour pour les lapins de population locale et de souche synthétique. En revanche, les lapins de population blanche, ont un poids vif à l'abattage qui atteint et parfois dépasse 2 kg. Leur croissance est améliorée, particulièrement lorsque leur aliment est de bonne qualité nutritionnelle. La vitesse de croissance alors observée lors de ces essais se situe entre 35,6 à 38 g/j (**Tableau 3**) (Berchiche *et al.*, 2012).

Tableau 3 : Synthèse bibliographique des performances de croissance évaluées sur trois types génétiques de lapines : population locale, population blanche PB et la souche synthétique SS (Berchiche *et al.*, 2012).

	(1) Population locale UMMTO	(2) Population locale ITELV	(3) PB ITMAS/ UMMTO	(4) PB Eleveur/ UMMTO	(5) PB Djebba/ UMMT O	(6) SS ITELV
Poids vif (g) à 5 semaines	453	621 ± 208,4	564	445	590,86	-
Poids vif (g) à 11 semaines	1975,83	1433 ± 277,7	1909	1997,21 ± 245,71	2199,57	1506 ±14
Poids vif (g) à 12 semaines	2157,39	1576 ± 311,1	2011	2506,5	2506,5	-
GMQ (g) 5-11	31,11	25,33 ±1,9	-	36,8	38,30	24 ± 0,5
GMQ (g) 5-12	30,49	26,68 ± 9,5	32,05	-	37,56	-

(1) Berchiche *et al.*, 2000 ; (2) Chaou, 2006 in Mefti- Kortby 2010 ; (3) Lounaouci *et al.*, 2014; (4) Lakabi 2009 ; (5) Kadi *et al.*, 2011 ;(6) Gacem *et al.*, 2008 et 2009. GMQ : Gain Moyen Quotidien

4-3- Mortalité des lapereaux

4-3-1- Définitions

La mortalité des lapereaux peut survenir à différents stades évolutifs du cycle de reproduction de la lapine, notamment au cours de la gestation et de la période d'allaitement (Abdelli, 2016). La réduction de la taille des portées à la mise bas peut être associée à la mortalité embryonnaire et fœtale des lapereaux. On parle de la mortalité prénatale (Theau-Clément et

Poujardieu, 1994 ; Fortun-Lamothe et Bolet, 1995). En revanche, la mortalité périnatale ou mortinatalité est définie le nombre de lapereaux retrouvés morts à la naissance et représente le rapport entre le nombre des nés-morts et celui des naissances (Poigner *et al.*, 2000 et Szendrő, 2000).

Les plus forts taux de mortalité sont signalés au cours de la phase d'allaitement, il s'agit précisément des pertes enregistrées durant naissance-sevrage. Ces forts taux de mortalité sont liés aux difficultés d'adaptation des lapereaux au passage de la vie fœtale intra utérine (milieu thermorégulé) et à l'existence autonome qui est un énorme challenge incluant la transition alimentaire (Combes *et al.*, 2013a).

En dehors des problèmes pathologiques, les pertes des lapereaux ont des causes diverses : d'une part des facteurs intrinsèques liés à la génétique de l'animal, à l'état physiologique de la lapine (Fortun-Lamothe et Lebas, 1994 ; Fortun-Lamothe et Mariana 1998 ; Zerrouki *et al.*, 2005 ; Verrier *et al.*, 2009), la parité (Hulot et Matheron, 1981 ; Afifi *et al.*, 1992 ; Bolet *et al.*, 2007 ; Zerrouki *et al.*, 2007) et à ses aptitudes (quantité et qualité du lait) laitières (Lebas, 1974 ; Rashwan et Marai, 2000 et Zerrouki *et al.*, 2003).

D'autre part, plusieurs travaux de recherche impliquant des facteurs extrinsèques tels que le poids à la naissance (Coureaud *et al.*, 2000 ; 2003 ; Coudert *et al.*, 2003 ; Maertens *et al.*, 2006a), la taille de la portée (Perrier *et al.*, 2003 ; Bolet *et al.*, 2007 ; Garreau *et al.*, 2008 ; Layssol-Lamour *et al.*, 2009 ; Chibah-Ait Bouziane *et al.*, 2014), le comportement de la mère à la mise bas (Abedelli, 2016), l'alimentation des lapereaux (quantité et qualité) (Lebas, 2002 ; Fortun-Lamothe et Gidenne, 2003 ; Gyovai *et al.*, 2012 ; Orengo et Gidenne, 2007 ; Combes *et al.*, 2013b) ainsi que la saison de mise bas sont mis en cause (Finzi, 1989 ; 1990 ; Khalil et Khalil, 1991 ; Marai *et al.*, 2002 ; Kpodekon *et al.*, 2006 ; Zerrouki *et al.*, 2007).

4-3-2- Mortalité dans les élevages cunicoles Algériens

La rentabilité économique d'un élevage cunicole dépend, entre autres, du taux de mortalité et de la croissance des lapereaux. Les taux de mortalité les plus importants s'observent de la naissance au sevrage avec des proportions pouvant atteindre 60% (Belhadi *et al.*, 2002). Ces pertes enregistrées peuvent aboutir à la disparition, soit de quelques lapereaux, soit de la portée entière (Lebas, 1974 ; Coudert, 1982 ; Zerrouki *et al.*, 2003 ; Zerrouki, 2006 ; Lebas *et al.*, 2010).

A grande échelle, le problème de la mortalité dans les élevages représente un véritable frein au développement de la filière cunicole en Algérie. A cet effet, plusieurs travaux d'investigation ont été réalisés afin d'apporter des éléments de réponse en vue de limiter ces pertes enregistrées.

La synthèse des différents des travaux entrepris (Zerrouki *et al.*, 2005 ; Zerrouki, 2006 ; Saidj, *et al.*, 2013 ; Mefti-Kortby, 2012 ; Gacem *et al.*, 2009 et 2008) indique que les populations locale et blanche, présentent respectivement de forts taux de mortalité notamment à la mise bas ainsi qu'en période péri-sevrage. En revanche, chez les lapines de la souche synthétique, on observe moins de pertes que dans les populations blanches et locales (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Synthèse bibliographique portant sur la mortalité des lapereaux au sein des populations blanche, locale et la souche synthétique.

	(1) Population locale UMMTO	(2) Population locale ITELV	(3) Population blanche Djebla	(4) Population blanche Djebla	(5) Souche synthétique
A la naissance (%)	16	11,43	7,3	13	11,3
Naissance-sevrage (%)	14	37,32	15,7	33	17

(1) Zerrouki *et al.*, 2005; (2) Saidj, 2006 in Mefti- Kortby *et al.*, 2010 ; (4) Yami- Cherfaoui, 2012 ; 2015; (4) Zerrouki *et al.*, 2008 ; (5) Gacem *et al.*, 2009 et 2008.

En dépit de la vulnérabilité des lapereaux liée à leur relative immaturité et aux besoins alimentaires spécifiques, le lapereau dispose d'un certain nombre d'aptitudes comportementales et physiologiques qui lui permettent d'améliorer sa survie. La réponse à la phéromone mammaire, le comportement de coprophagie au nid, l'adaptation de son système digestif à la transition alimentaire constituent certains de ses atouts (Combes *et al.*, 2013b).

Le lapereau présente donc une certaine fragilité, mais dispose également de capacités d'adaptation qu'il convient de mettre à profit afin de limiter les pertes enregistrées au sein des élevages cunicoles.

Chapitre II :
LA REPRODUCTION
CHEZ LA LAPINE

La lactation est considérée comme la suite naturelle de la gestation dans la mesure où il existe un fond commun d'hormones qui président la gestation et qui régulent la lactation (Martinet et Houdebine, 2006). C'est dans cette optique, qu'un rappel de quelques caractéristiques de la reproduction chez la lapine s'impose avant d'aborder la fonction de lactation.

1-Particularités de la reproduction chez la lapine

La lapine est une femelle polytoque ayant une durée de gestation de 31 jours et dont l'ovulation est induite par l'accouplement. Contrairement à de nombreux mammifères, elle ne présente pas d'anœstrus post-partum (Theau-Clément, 2008), mais est, à l'inverse, très réceptive dans les heures qui suivent la parturition.

La réceptivité de la lapine décroît pour atteindre un minimum à 3-4 jours de lactation, puis augmente de nouveau progressivement jusqu'à 12-14 jours de lactation ; toutefois elle ne retrouve son état initial qu'après le sevrage (Fortun-Lamothe et Bolet, 1995). L'éleveur peut donc choisir lui-même le rythme de reproduction de son élevage. Les femelles peuvent accepter l'accouplement, pour la première fois, vers l'âge de 10 à 12 semaines, mais cet accouplement n'entraîne pas encore l'ovulation (Lebas, 2002). Vu l'absence de cycle estrien, il est difficile de définir l'âge à la puberté qui dépend particulièrement de la race. En effet, la précocité sexuelle est meilleure chez les races de petit ou moyen format (4 à 6 mois) que chez celle de grand format. La maturité sexuelle dépend également, du développement corporel : la précocité est d'autant plus grande que la croissance a été rapide.

1-2-Différenciation sexuelle

Dans l'espèce cunicole, la différenciation sexuelle, se met en place dès le 16^{ème} jour post-fécondation. Chez la lapine, les divisions ovogoniales commencent au 21^{ème} jour de la vie fœtale et se poursuivent jusqu'à constituer le stock définitif d'ovogonies. À la naissance, ces divisions cessent et laissent place à l'ovogenèse : les premiers follicules primordiaux sont formés dès le 13^{ème} jour après la naissance et les premiers follicules à antrum vers 65-70 jours.

1-3-Age de mise en reproduction

L'âge de mise en reproduction s'effectue lorsque la femelle atteint 75% à 80% de son poids corporel adulte (Lebas *et al.*, 1986). C'est autour de ce poids que la maturité sexuelle est atteinte, le plus souvent de 16 à 18 semaines d'âge. Rommers (2004) constate que l'optimisation de la maturité sexuelle est le résultat d'une première insémination ou d'une

saillie retardée dans le but d'obtenir des femelles plus lourdes avec plus de réserves corporelles en termes de protéines et de lipides. Toutefois, le report de la première insémination à un âge plus avancé conduit à la formation de dépôts excessifs de graisses chez les femelles, ce qui peut engendrer des problèmes sanitaires et de reproduction. En effet, une augmentation de la mortalité des lapereaux lors de la mise bas a été observée chez les femelles grasses (Partridge *et al.*, 1989).

Le poids à la saillie des reproductrices semble être conditionné, en partie, par la capacité de la mère à élever ses lapereaux dans des conditions satisfaisantes (production laitière, comportement maternel...). Effectivement, Rommers *et al.*, (2001), rapportent que la taille de portée dans laquelle les jeunes lapines ont été élevées affecte leur poids corporel et la taille de portée de leur première parité. Ainsi, les jeunes lapines élevées dans des portées de 12 lapereaux ont tendance à être moins lourdes à la première saillie que les femelles issues de portées de 9 ou 6 lapereaux. Cependant, d'autres travaux contredisent l'effet de la taille de portée d'origine sur les performances des futures des reproductrices (Biro'-Ne'meth *et al.*, 1999).

1-4-Ovulation

Contrairement à la majorité des mammifères, la lapine ne présente pas de cycles œstriens. Elle est considérée comme une femelle en œstrus permanent et l'ovulation ne se produit que s'il y a accouplement. Lorsqu'un nombre suffisant de follicules matures est présent sur l'ovaire, le taux circulant des œstrogènes est élevé. Cette information est intégrée par le système nerveux central qui modifie le comportement sexuel de la lapine et si ce taux est suffisamment élevé, la lapine devient réceptive à l'accouplement. Compte tenu de la variabilité entre individus, ce taux "suffisant" varie beaucoup d'une lapine à l'autre. L'ovulation est induite par les stimuli associés au coït. Elle a lieu 10 à 12 heures après la saillie. Dans la minute suivant l'accouplement, le taux d'ocytocine s'accroît tandis que celui de la prolactine (PRL) décroît.

Lorsque les ovocytes libérés ne sont pas fécondés, il se produit une pseudogestation qui dure 15 à 18 jours. Pendant les premiers jours, le développement des corps jaunes et l'évolution de l'utérus sont les mêmes que dans le cas d'une gestation ; toutefois, les corps jaunes n'atteignent ni la taille, ni le niveau de production de progestérone des corps jaunes de gestation. Pendant toute cette période, la lapine refuse l'accouplement contrairement à ce qui est observé durant la gestation. En effet, chez la plupart des mammifères, la progestérone

sécrétée durant la gestation inhibe totalement l'œstrus et la femelle en gestation refuse l'accouplement. A l'inverse, la lapine gestante peut accepter l'accouplement tout au long de la gestation. Vers le 12^{ème} jour post-coïtum, les corps jaunes commencent à régresser, puis disparaissent. La fin de la pseudogestation est accompagnée de l'apparition d'un comportement maternel (construction d'un nid) lié à l'abaissement rapide du taux de progestérone sanguin. Le développement de la glande mammaire chez la lapine en pseudogestation est très similaire à celui observée durant la première moitié de la gestation, rendant ainsi possible l'utilisation du tissu mammaire pseudogestant à des fins expérimentales pour des études ex vivo (Strong *et al.*, 1972).

1-5- Gestation

La durée de gestation chez la lapine est généralement de 30-33 jours. Cette durée varie selon l'effectif de la portée (Lebas, 2000). Elle est parfois prolongée à 33-34 jours quand il n'y a que 1 à 3 lapereaux, et souvent des morts nés (Lebas, 1994 ; 2002). Selon Marai *et al.*, (2004) et Tuma *et al.*, (2010), la durée de gestation pourrait être affectée par la parité de la lapine dans la mesure où entre la quatrième et la cinquième mise bas, la durée de gestation est en moyenne de 31 jours. Xiccato *et al.*, (2004) quant à eux, ont observé qu'à la troisième parité la durée de gestation est, tout de même, plus longue comparativement à la première ou la seconde parturition mais que cet effet n'est pas significatif. Ainsi la relation déjà existante entre la période de gestation et l'ordre de parité pourrait être étendue à la taille de portée. Plus la lapine avance dans l'âge, plus la taille de la portée diminue, avec des corrélations négatives (Tuma *et al.*, 2010).

Chez les lapines de la population locale la gestation dure entre 26-27 jours, chez les lapines de la population blanche elle varie entre 28 et 31 jours alors que chez les lapines de la souche synthétique elle est comprise entre 30 et 34 jours (Zerrouki, 2006).

La gestation peut être diagnostiquée par une palpation abdominale du 9^{ème} au 14^{ème} jour de gestation (Lebas *et al.*, 1991 ; Lebas, 2002). En revanche, en utilisant l'échographie, ce diagnostic peut être avancé dès le 7^{ème} jour (Gutierrez et Zamora, 2004 ; Chavatte-Palmer *et al.*, 2005) et le dénombrement des fœtus au 9^{ème} jour dans le cas où le nombre de fœtus est faible (≤ 6) (Chavatte-Palmer *et al.*, 2005). Au cours de la gestation, les femelles reproductrices subissent de grandes variations dans la composition corporelle, les dépôts de tissus de réserve et l'énergie. En effet, Rommers *et al.*, (2002) a montré une grande

fluctuation du poids corporel des lapines durant la période de reproduction allant de la première insémination jusqu'à la seconde mise bas. Toutefois, l'évolution du poids corporel est similaire quel que soit le poids des lapines à la première insémination. Selon Parigi-Bini *et al.*, (1990), ces variations de poids sont de plus en plus accentuées chez les lapines primipares. Ces auteurs ont observé qu'en début de gestation (0 à 21 jours), le poids vif est similaire entre les lapines gestantes et non gestantes, mais à la fin de la gestation (21 à 30 jours), le poids corporel des lapines gestantes diminue suite à la perte des réserves énergétiques et protéiques ainsi que le transfert de l'énergie vers le fœtus. Cependant, le poids des lapines non gestantes continue à augmenter ; l'énergie est stockée dans l'organisme, principalement sous forme de graisses (Figure 4).

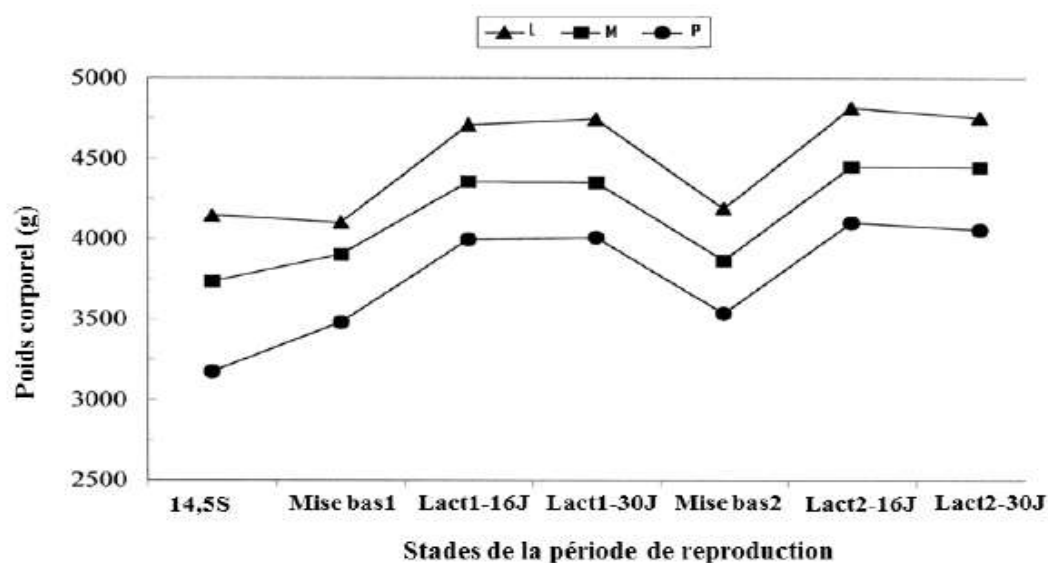


Figure 4 : Développement corporel durant la période de reproduction chez des lapines lourdes (L, n = 20), moyennes (M, n = 34), et petites (S, n = 16) inséminées à 14,5 semaines d'âge (Rommers *et al.*, 2002).

1-6- Mise bas

Un comportement maternel spécifique à l'espèce est observé à la fin de la gestation. La lapine construit un nid avec des poils arrachés de son ventre, du fanon et de ses cuisses ainsi qu'avec la litière (paille, copeaux). Ce comportement est lié à une augmentation du rapport œstrogènes / progestérone ainsi qu'à la sécrétion de prolactine (Lebas, 2002). La qualité du nid est un critère décisif dont dépend la survie des lapereaux durant la période néonatale (Abdelli, 2016). Par ailleurs, il semble que les corticostéroïdes sécrétés par les glandes surrénales des fœtus constituent un signal de déclenchement de la parturition (Lebas, 2002 ; Theau-Clément,

2008). Parfois, et essentiellement à la première portée, la lapine ne construit pas de nid. La mise bas dure 10 à 20 minutes, sans relation significative avec l'effectif de la portée. Quelquefois, la lapine peut mettre bas en deux fois à plusieurs heures d'intervalle (Lebas, 2002). Après la mise bas, l'utérus régresse rapidement en moins de 48 heures et la lapine est fécondable aussitôt après mise bas et le sera durant toute la période d'allaitement. Parfois, la lapine met bas hors du nid si ce dernier n'est pas accessible ou s'il a été refusé par la mère suite aux mauvaises odeurs. Il arrive aussi qu'elle tue ses petits et en mange certaines parties (cannibalisme). Souvent, ce comportement est dû au manque d'eau de boisson (Lebas *et al.*, 1991 ; Lebas, 2002), à la frayeur ou à l'absence de comportement maternel.

2-Lactation et l'allaitement

A la naissance, les lapereaux sont sourds et aveugles et leurs fonctions motrices sont peu développées. Leur alimentation est exclusivement lactée dans les 2 premières semaines de vie (Lebas, 1969 ; Hassan, 2005). Leur survie dépend donc de leur capacité à localiser rapidement la tétine maternelle lors de l'unique allaitement quotidien (Lebas, 2002). Ce challenge, qui sollicite fortement le système olfactif, intervient dans un contexte de compétition intense au sein de la portée (Coureaud *et al.*, 2000).

Chapitre III :

LA LACTATION CHEZ LA

LAPINE

Le lait synthétisé et sécrété par la glande mammaire est adapté quantitativement et qualitativement aux besoins du ou des lapereaux (Delouis *et al.*, 2001).

En effet, le lait maternel contient tous les éléments nutritionnels dont a besoin le nouveau-né ainsi que toute une série de molécules qui protègent le tractus digestif du nourrisson contre les agents pathogènes.

La sécrétion du lait est le résultat d'un long processus qui comprend la croissance et la différenciation de la glande mammaire pendant la gestation, l'induction de la synthèse du lait à la parturition, la modification du métabolisme maternel qui se met au service de la glande mammaire et enfin l'involution de cette glande après le sevrage. Tous ces événements sont contrôlés par une myriade d'hormones et de facteurs pour certains produits par la glande mammaire elle-même (Houdebine, 2007).

1-Glande mammaire

1-1-Développement, structure et fonction

La glande mammaire, caractérisant les mammifères, possède une structure anatomique unique permettant la synthèse du lait. Le lait maternel renferme tous les éléments nécessaires à la croissance du jeune et comporte des éléments immunologiques et hormonaux qui protègent et favorisent sa croissance. Le nombre de glandes mammaires est variable selon les espèces : une paire pectorale chez l'humain, 5 paires thoraco-inguinales chez la souris ou encore de 4 à 6 paires ventrales chez la lapine. La quantité de lait synthétisé est extrêmement variable en fonction des espèces et des individus.

Chez la lapine (**Figure 5**), deux rangées de 4 à 5 et exceptionnellement 6 mamelles sont situées sur la face ventrale du corps. Le nombre de mamelles fonctionnelles peut ne pas être réparti de façon symétrique et présenter un nombre pair (8 ou 10 télines) ou impair (9 ou beaucoup plus rarement 11 télines).

A chaque tétine, reliée à 5-6 canaux évacuateurs, correspond une glande mammaire séparée. Le tissu mammaire est disposé entre la peau et les muscles pectoraux auxquels il est attaché par du tissu conjonctif.

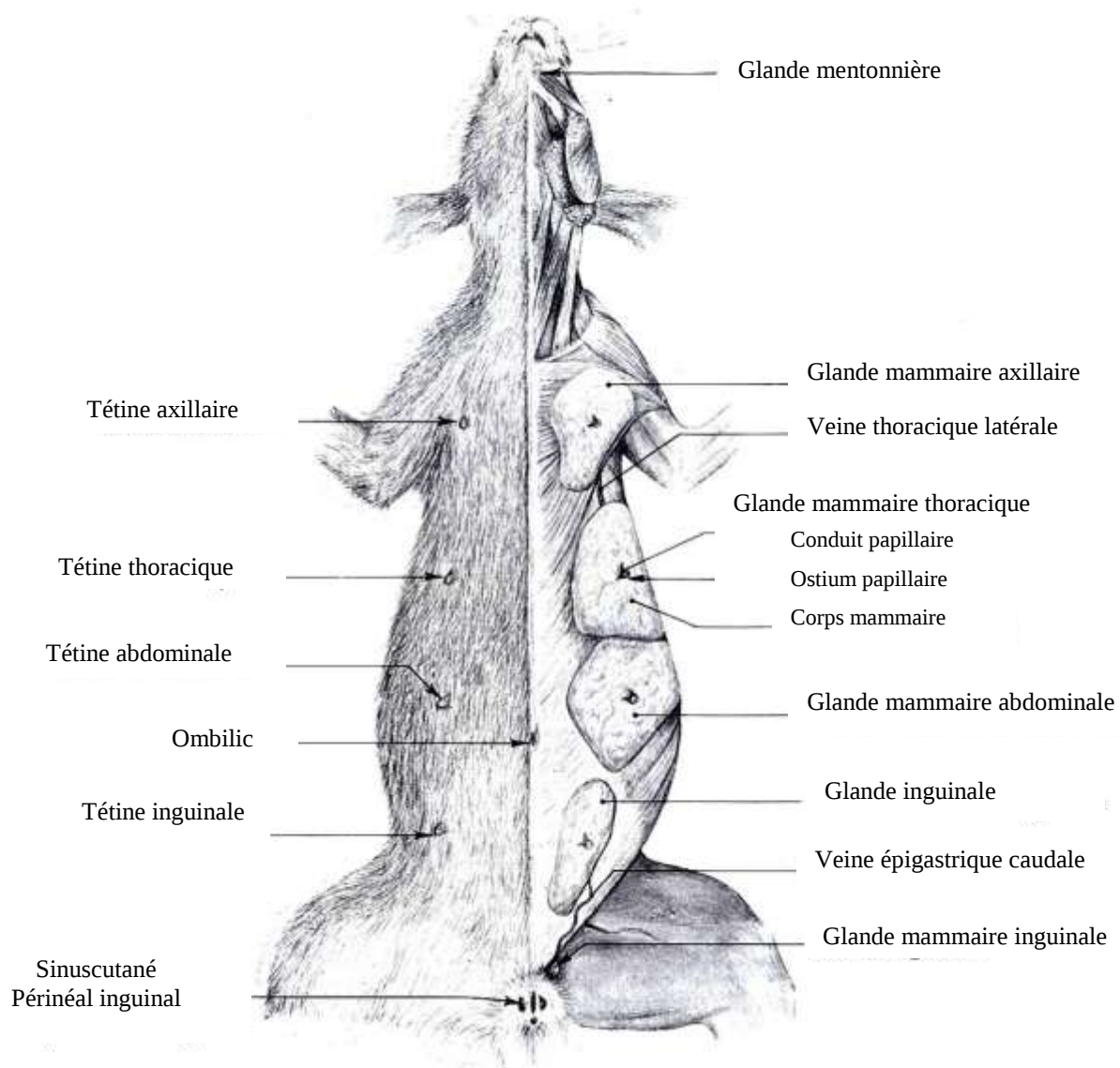


Figure 5: Glandes cutanées et mamelles de lapine (Barone *et al.*, 1973).

1-1-1- Développement au cours de la vie

De manière arbitraire, on peut séparer le développement de la glande mammaire en deux phases. Une première phase considérée comme hormono-indépendante qui a lieu avant la puberté et une seconde phase hormono-dépendante qui débute à partir de la puberté (Briskin et O'Malley 2010). Cette seconde phase est en partie cyclique puisqu'après chaque lactation la glande mammaire va subir une involution après le sevrage, avant un nouveau cycle de développement à la gestation suivante (**Figure 6**).

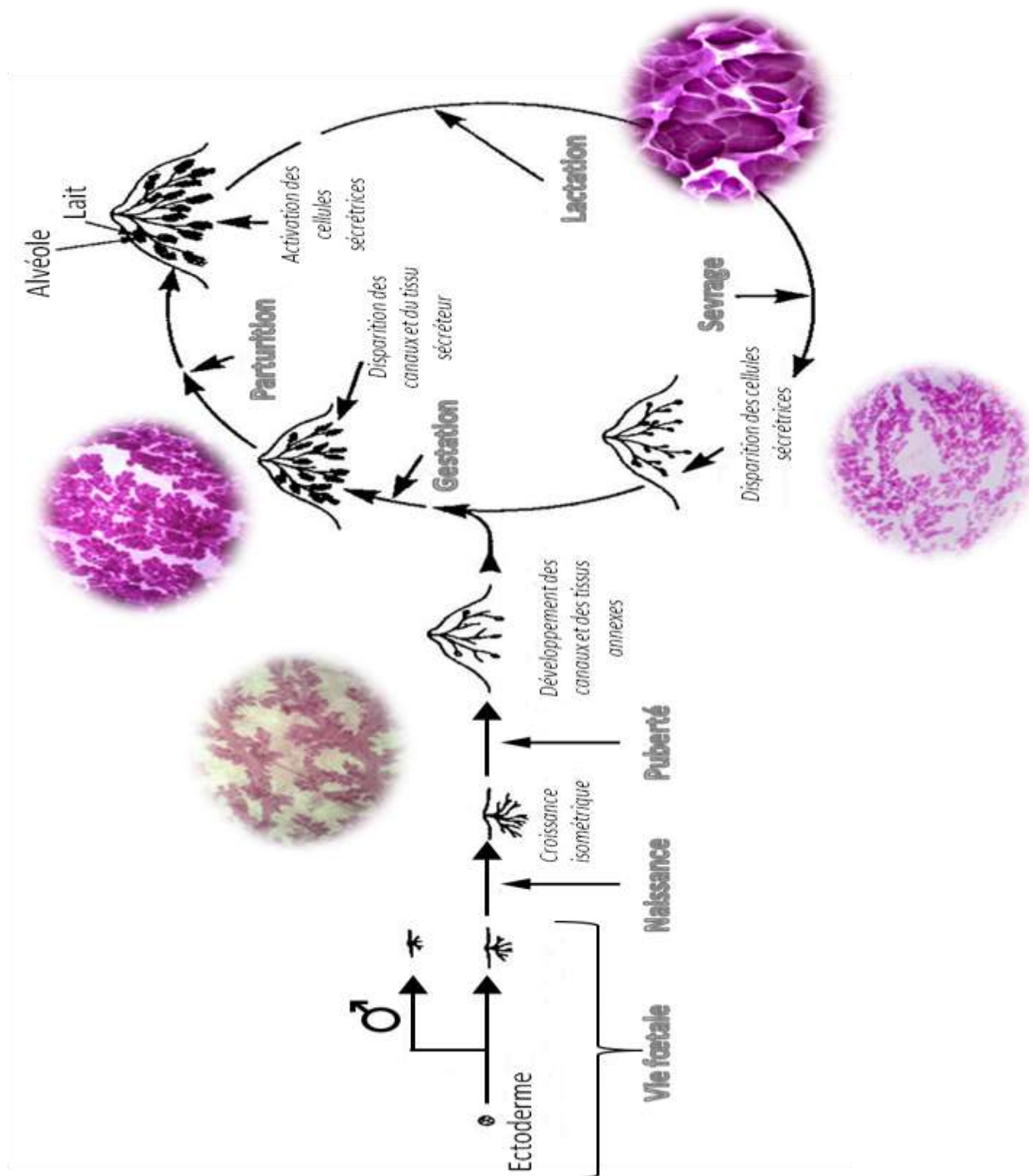


Figure 6 : Schéma général du développement mammaire, illustré par des montages in toto de glande mammaire de lapine (Martinet et Houdebine, 2006).

1-1-1-1-Mammogénèse

La mammogénèse correspond à une phase de croissance intense qui démarre lentement au cours de l'embryogénèse et s'achève à la première gestation. En effet, le développement de la glande mammaire débute dès le stade fœtal où l'on distingue deux compartiments : le tissu épithélial et le tissu stromal environnant, qui dérivent respectivement de l'ectoderme et du mésoderme embryonnaires. Très tôt se forme la crête mammaire ou ligne lactéale. Le long de cette crête apparaissent par paires symétriques des épaissements ou bourgeons mammaires primitifs dont le nombre et la situation sont fonction de chaque espèce. Ils sont inguinaux chez les ruminants et les cétacés, abdominaux et multiples chez les carnivores et les rongeurs, pectoraux et au nombre de deux chez les primates. Ce nombre est en général double de celui des petits que la mère peut porter. Chez l'être humain unipare, la crête mammaire disparaît à 6 semaines et seuls persistent les deux bourgeons pectoraux.

Puis, l'épithélium se développe en un nombre limité de canaux et à la naissance seule une arborescence canalaire rudimentaire est présente dans le stroma mammaire (Hovey *et al.*, 1999 ; 2002). La période allant de la naissance à la pré-puberté n'est pas une période de quiescence totale. La glande subit une évolution lente et régulière avec une croissance et une ramification des canaux galactophores en canaux de deuxième et troisième ordres, terminés par des structures spécifiques appelés bourgeons terminaux. La croissance est dite isométrique car l'organe grandit à la même vitesse que le reste de l'organisme.

L'étape suivante du développement mammaire aura lieu à la puberté (10 et 12 semaines après la naissance, chez la lapine). Les modifications observées pendant la puberté concernent principalement la croissance de l'épithélium mammaire et la ramification des canaux. Dans le cas du développement post-pubertaire de la glande mammaire, la croissance est allométrique, l'organe se développant plus rapidement que le reste de l'organisme.

Pendant la gestation, le compartiment épithélial s'étend et les acini bourgeonnent à partir des canaux. Le tissu conjonctif et la vascularisation du tissu adipeux se développent également (Briskin et O'Malley 2010). Pendant cette étape, on observe une augmentation du volume de la glande. Durant la seconde moitié de la gestation, les cellules épithéliales mammaires vont se multiplier et s'organiser en acini. Un réseau lobulo-alvéolaire dense se met alors en place, en lieu et place du tissu adipeux qui régresse (Neville *et al.*, 1998).

Plusieurs hormones à rôles essentiels ont été mises en évidence (**Figure 7**) lors de la mammogénèse. L'œstradiol et la progestérone, sécrétés au début de gestation par le corps jaune, agissent directement au niveau des cellules souches situées aux extrémités des canaux mammaires. La prolactine, même à faible concentration comme c'est le cas en début de gestation ainsi que certains facteurs de croissance (EGF, TGF α , IGF1) stimulent la multiplication de ces cellules. La progestérone est un frein puissant de la sécrétion lactée au cours de la gestation, favorisant ainsi la concentration de l'effort énergétique vers les phénomènes de croissance tissulaire du fœtus et de la mamelle (Martinet et Houdebine 2006). L'œstradiol agit par ses récepteurs pour diminuer les récepteurs de la progestérone, cette dernière inhibe le nombre de récepteurs de la prolactine et elle peut aussi occuper, avec une très mauvaise affinité, les récepteurs des glucocorticoïdes. Ainsi la progestérone limite l'effet lactogène de la prolactine et des corticoïdes pendant la mammogénèse. L'œstradiol seul n'est pas capable d'assurer la croissance mammaire, il intervient uniquement pour potentialiser l'effet de la prolactine en augmentant le nombre de ses récepteurs (Delouis *et al.*, 2001). Les hormones du métabolisme général, (insuline et thyroxine) jouent également un rôle dans le développement de la glande mammaire. Ces hormones possèdent des récepteurs dans le tissu mammaire (Delouis *et al.*, 2001).

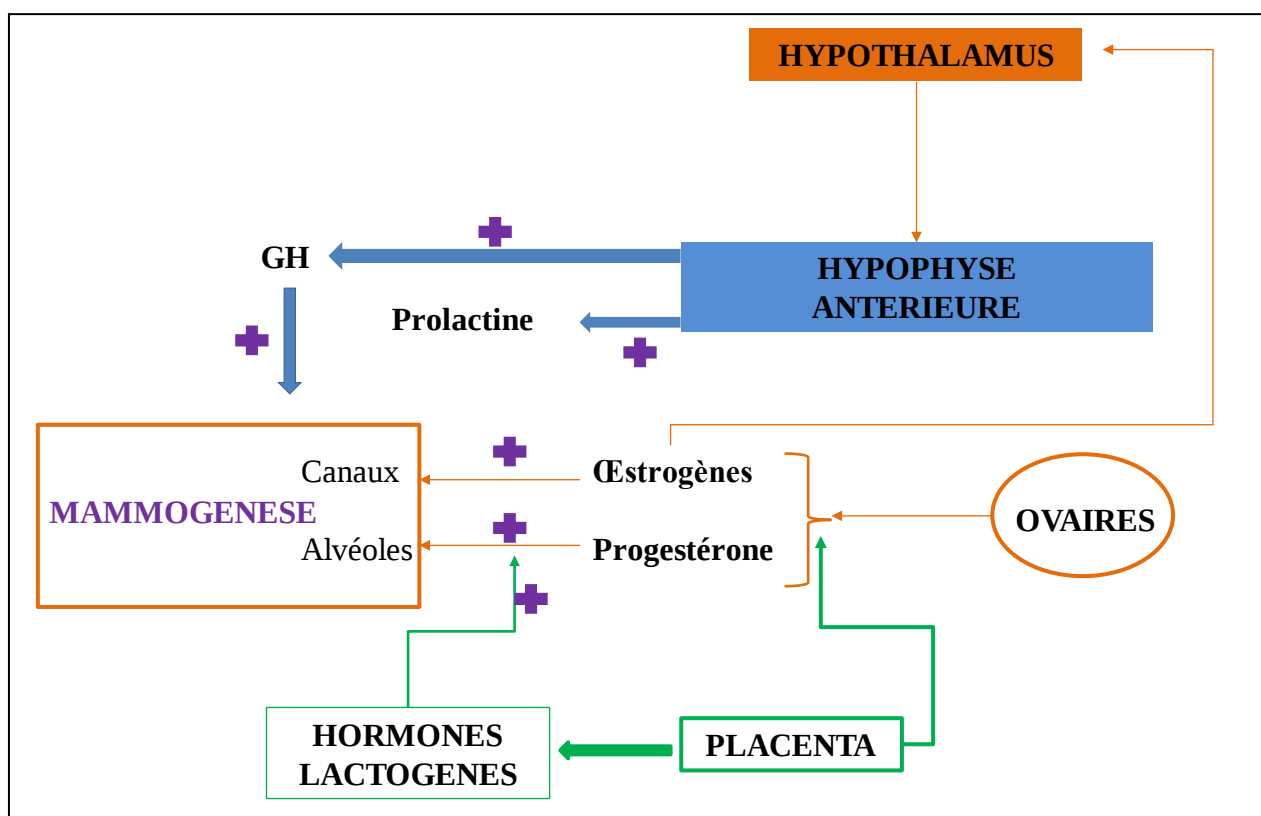


Figure 7 : Régulation neuro-endocrinienne de la mammogénèse (Delouis *et al.*, 2001).

GH : Growth hormone

Cette étape du développement mammaire correspond à la différenciation des cellules épithéliales alvéolaires, c'est-à-dire l'acquisition de la capacité de synthèse et de sécrétion du lait. Ainsi, à la fin de la gestation, quelques jours avant la parturition, les cellules épithéliales s'hypertrophient et se polarisent afin de pouvoir capter les précurseurs du lait par leur pôle basal. Elles acquièrent des caractéristiques structurales de cellules différenciées capables d'une importante synthèse protéique et d'une intense sécrétion. En effet, le noyau de ces cellules se place en position basale, leur cytoplasme s'enrichit en ribosomes et en mitochondries, pendant que prolifèrent l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique rugueux. Tous ces organites sont indispensables à la forte activité métabolique que ces cellules épithéliales vont devoir fournir en produisant le lait. La lactogénèse est sous la dépendance de la prolactine pendant la gestation (Lebas, 2002). Elle est inhibée par les œstrogènes et la progestérone (Johnson et Everitt, 2002) (**Figure 8**).

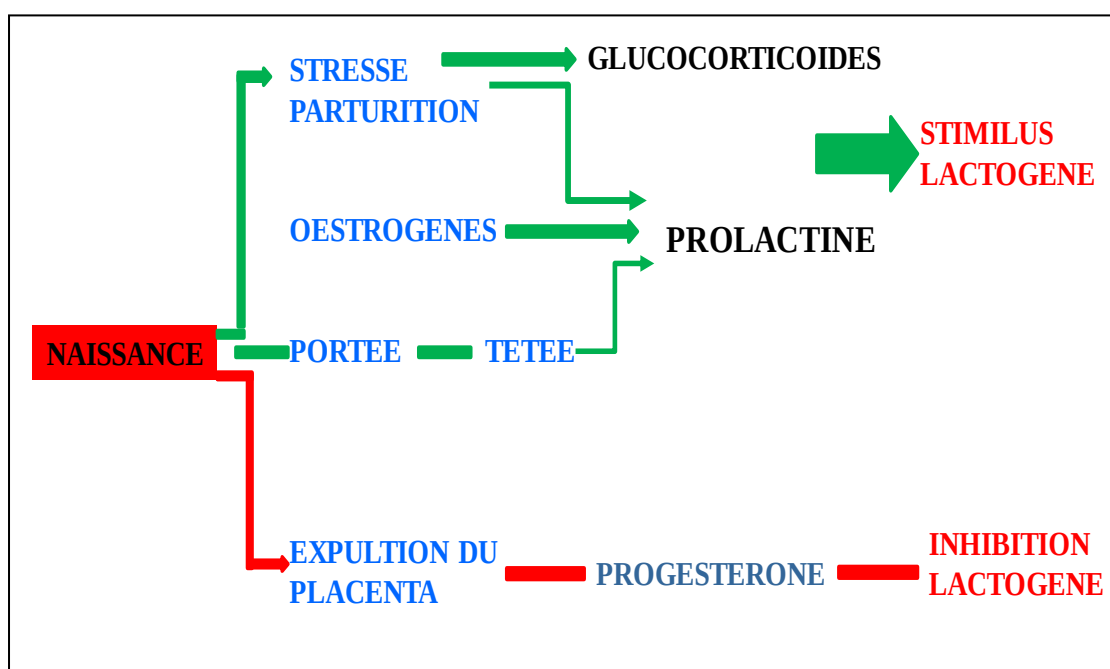


Figure 8: Contrôle hormonal de la lactogénèse (Delouis *et al.*, 2001).

1-1-1-3-Galactopoïèse et involution

À la naissance du jeune, la glande mammaire est parfaitement fonctionnelle mais son niveau de synthèse est encore faible. À ce moment, la diminution rapide de la teneur en progestérone et, sous l'effet de la libération de l'ocytocine, l'action de la prolactine est stimulée ce qui permet la montée laiteuse (Johnson et Everitt, 2002 ; Lebas, 2002). Ainsi au moment de la mise bas, il y a déjà 50 à 80 g de lait dans les mamelles de la lapine. Ce type de lait est appelé

colostrum dont l'aspect et la composition sont très différentes de celui du lait (Ig, protéines sériques...). Il est consommé par les lapereaux, au fur et à mesure des naissances.

Au cours de la lactation, la galactopoïèse va représenter le processus de production et de sécrétion du lait entretenu par les tétées ou la traite de l'animal. Pendant cette période, les composants du lait sont synthétisés à partir de précurseurs issus des capillaires sanguins et les cellules épithéliales alvéolaires en place. Pendant la période de sevrage ou de tarissement, c'est l'arrêt de la traite ou des tétées qui induit une involution du tissu épithélial mammaire et la fin de la production du lait. Le tissu adipeux, jusqu'ici régressé en faveur des cellules épithéliales, va alors se développer à nouveau et reprendre sa place prédominante.

1-2- Mécanismes de sécrétion du lait

Les stimuli créés par la tétée provoquent la sécrétion immédiate d'ocytocine, la pression intramammaire augmente induisant l'éjection du lait qui sera consommé par les lapereaux (Lebas, 2002) **(Figure 9)**.

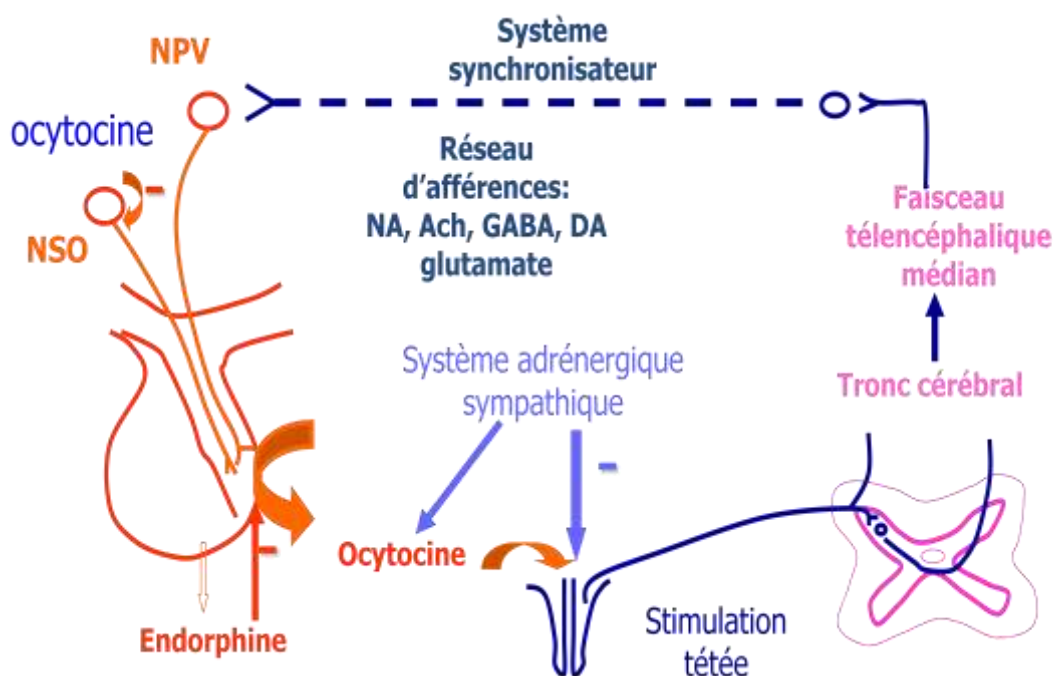


Figure 9 : Reflexe neuroendocrinienne de l'éjection de lait (Delouis *et al.*, 2001).

Ach : acétylcholine ; DA : Dopamine ; GABA : acide gamma-aminobutyrique ; NA : Noreadrenaline ; NSO: Noyau Suora-Optique

La concentration plasmatique d'ocytocine s'accroît de 40 pg/mL de plasma deux jours après la mise bas, à 250 et 490 pg/mL au milieu et à la fin de lactation, avec un taux minimal de 20-

25 pg/ml nécessaire à l'enclenchement du processus de sécrétion du lait. La demi-vie de cette hormone qui est de 3 à 5 minutes, est le temps nécessaire pour une tétée de lapereaux (entrée - sortie de la boîte à nid dure de 2 à 4 minutes (Hudson *et al.*, 2000). La durée de la tétée décroît lentement et régulièrement durant la lactation et passe de 200 à 150 secondes par exemple, entre le 14^{ème} et le 35^{ème} jour d'allaitement. Cependant, cette durée est indépendante du nombre de lapereaux allaités et du fait qu'une lapine soit ou non simultanément gestante (Calvert *et al.*, 1985). La femelle fixe le rythme des tétées, à une seule fois par 24 heures ou à deux fois dans quelques cas (Hudson *et al.*, 2000; Lebas, 2002), en raison d'une augmentation de la pression intramammaire (Schuh *et al.*, 2004). La seule succion exercée par les lapereaux n'est pas suffisante pour déclencher la décharge d'ocytocine. Il faut la volonté de la mère.

La synthèse du lait et son accumulation dans les glandes mammaires se fait à une vitesse constante pendant les 23 heures et demi à 24 heures suivant un allaitement. Ensuite la synthèse du lait s'arrête très rapidement si les lapereaux ne têtent pas. Ainsi il a été montré que plusieurs allaitements au cours du cycle de 24 heures n'augmentent pas la quantité de lait disponible pour les lapereaux (Lebas, 2002). Cinq minutes après la fin de la tétée, on constate une décharge de prolactine (25-35 ng/mL) dont le taux plasmatique reste élevé pendant 2 à 3 heures (Lebas, 2002).

1-3-Structure de la glande mammaire en lactation

La glande mammaire apparaît donc comme un tissu complexe composé de différents types cellulaires, entre autres, de cellules épithéliales, de cellules myoépithéliales, de cellules progénitrices et entourées d'adipocytes. L'ensemble étant organisé en acini.

L'acinus est une structure de forme presque sphérique, dont la face interne est tapissée d'une monocouche de cellules épithéliales mammaires (CEM) et dont le centre représente la lumière alvéolaire dans laquelle se déversent les constituants du lait. Des vaisseaux sanguins sont également en contact étroit avec les acini mammaires permettant ainsi à la fois l'approvisionnement des CEM en oxygène, nutriments et leur régulation par les hormones. Un groupe d'acini entouré de tissu conjonctif forme un lobule ; les lobules eux-mêmes sont regroupés en lobes et sont séparés du tissu adipeux environnant par du tissu conjonctif. Outre le tissu adipeux, la glande mammaire est formée d'une part, d'un ensemble de lobes connectés entre eux par des canaux galactophores qui débouchent au niveau du mamelon, constituant ainsi le parenchyme épithélial et, d'autre part, de tissu conjonctif fibreux et élastique constituant le stroma (**Figure 10**).

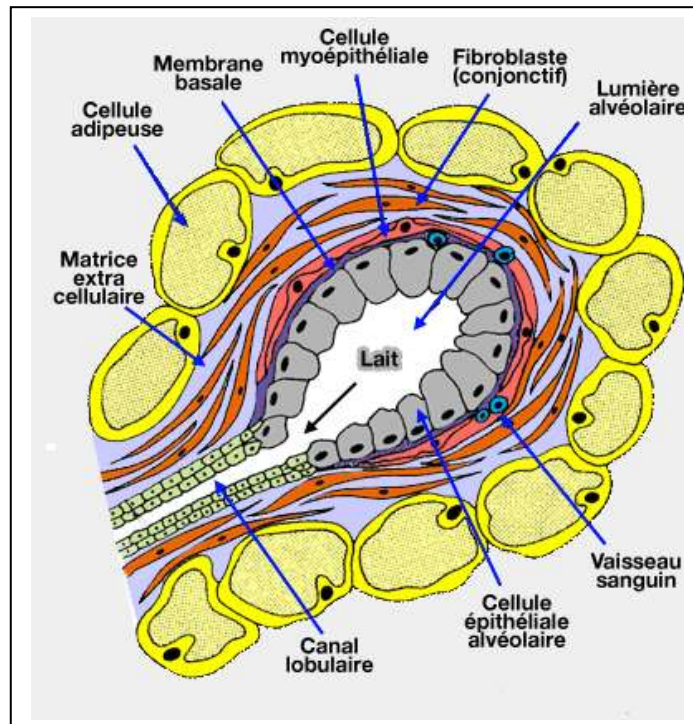


Figure 10 : Schéma d'un acinus mammaire (Delouis *et al.*, 2000).

1-3-1-Cellules épithéliales mammaires

Les cellules épithéliales mammaires (CEM) sont des cellules polarisées : leur pôle basal est situé du côté de la matrice extracellulaire et permet tous les échanges avec l'organisme via la circulation sanguine. Les cellules sont liées entre elles par des jonctions serrées et sont soutenues par une membrane basale constituée de laminine, de collagène et de glycosaminoglycanes. C'est au niveau de leur pôle basal que les CEM reçoivent les informations hormonales responsables de la stimulation de la synthèse du lait, grâce aux récepteurs qui sont présents au niveau de la membrane plasmique. Dans la partie basale de la cellule on retrouve également le noyau, ainsi que le réticulum endoplasmique rugueux. Le pôle apical ou luminal quant à lui, est situé du côté de la lumière alvéolaire, et constitue le lieu de sécrétion des composants du lait. Dans le cytoplasme, proche du pôle apical, se trouve l'appareil de Golgi ainsi que les gouttelettes lipidiques et les vésicules de sécrétion (Mather et Keenan 1998). La membrane plasmique apicale est composée de microvillosités, témoignant d'une forte activité sécrétoire. La synthèse des lipides du lait a lieu au niveau du réticulum endoplasmique où les gouttelettes se forment entre les deux couches lipidiques de la membrane, puis migrent vers le pôle apical de la CEM où elles vont s'entourer de membrane et bourgeonner avant d'être libérées dans la lumière sous forme de globules lipidiques. Les protéines du lait sont synthétisées par les ribosomes à la surface du réticulum endoplasmique,

puis subissent leur maturation post-traductionnelle dans l'appareil de Golgi. Elles sont ensuite organisées en micelles, pour une majorité d'entre elles, avant d'être incluses dans des vésicules qui, en fusionnant avec la membrane apicale de la cellule, libèrent les micelles de caséines dans la lumière des acini. Le lactose, quant à lui, est synthétisé au sein de l'appareil de Golgi et s'accumule dans les vésicules de sécrétion au niveau du pôle apical de la cellule (Mather et Keenan 1998) (**Figure 11**).

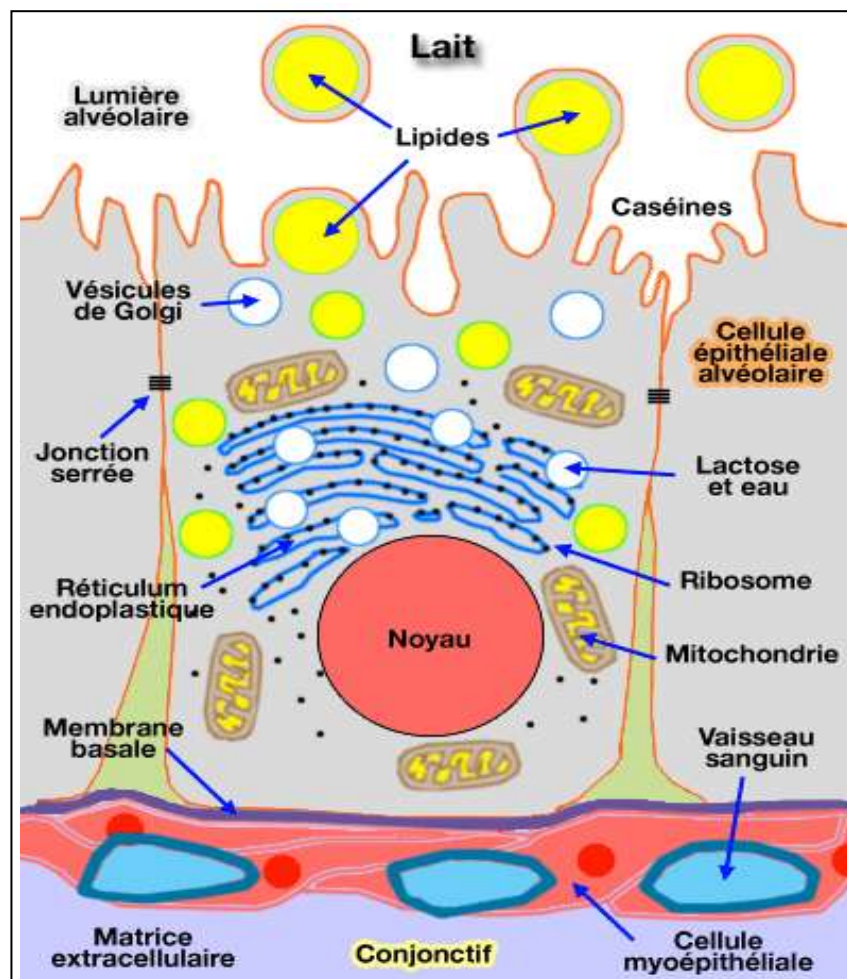


Figure 11 : Schéma d'une cellule épithéliale mammaire en lactation (Delouis *et al.*, 2001).

1-3-2-Cellules myoépithéliales

Chaque acinus est entouré sur sa face externe de cellules myoépithéliales contractiles permettant l'éjection du lait vers les canaux. Ces cellules sont situées entre les cellules épithéliales et la membrane basale et correspondent à une variété très particulière de cellules musculaires lisses. Elles sont d'origine épithéliale comme l'indique leur nom et ensèrent les unités sécrétrices de glandes exocrines comme, par exemple, les glandes salivaires,

mammaires ou sudoripares. Sous contrôle du système nerveux autonome, la contraction de ces cellules favorisent une expulsion du produit de sécrétion, par exemple le lait dans le cas de la glande mammaire. Les cellules myoépithéliales sont souvent caractérisées par l'expression de l'actine du muscle lisse, ou celle du récepteur de l'ocytocine.

1-3-3-Cellules progénitrices

En plus des différents types cellulaires décrits précédemment, la glande mammaire est également composée de cellules souches tissulaires adultes qui sont caractérisées par leur aptitude, à l'état isolé, à régénérer à long terme leur tissu d'origine dans sa structure et sa fonction. Ces cellules présentent une propriété fonctionnelle essentielle, l'auto-renouvellement qui est défini comme la capacité à engendrer au moins une cellule fille équivalente à la cellule mère aussi bien dans sa longévité que dans son aptitude à se différencier. Les cellules souches sont dites multipotentes lorsqu'elles donnent naissance aux différents lignages de leur tissu d'origine, unipotentes, elles ne donnent naissance qu'à un lignage.

Les capacités de développement et de régénération de la glande mammaire suggèrent que l'épithélium mammaire abrite des cellules souches. Des travaux de transplantation orthotopiques montrent que des fragments d'épithélium mammaires issus d'un individu adulte, peuvent reconstituer une arborescence complète une fois greffés dans les coussins adipeux dépourvus d'épithélium de souris pré-pubères par ablation des ébauches épithéliales (Deome *et al.*, 1959). Ces mêmes techniques, répétées en série par transplantation secondaire du fragment d'épithélium néoformé, ont permis de démontrer les capacités régénératives à long terme de l'épithélium mammaire (Daniel *et al.*, 2009). D'autres études effectuées chez la souris ont également montré que les cellules ayant un potentiel régénératif étaient présentes à tous les stades du développement et dans toutes les régions de la glande mammaire (Smith et Medina 1988). Enfin, des travaux récents ont montré que deux lignages mammaires ont pour origine des cellules embryonnaires souches et que l'homéostasie de la glande mammaire adulte pourrait être maintenue par deux types distincts de cellules progénitrices (Van Keymeulen *et al.*, 2011).

1-3-4- Adipocytes

Le tissu adipeux mammaire est très abondant et régresse au profit du tissu glandulaire lors de la gestation et surtout, la lactation. Il est formé d'adipocytes blancs, contenant un noyau, des

mitochondries et une vacuole lipidique qui représente la majeure partie de la cellule (**Figure 12**).

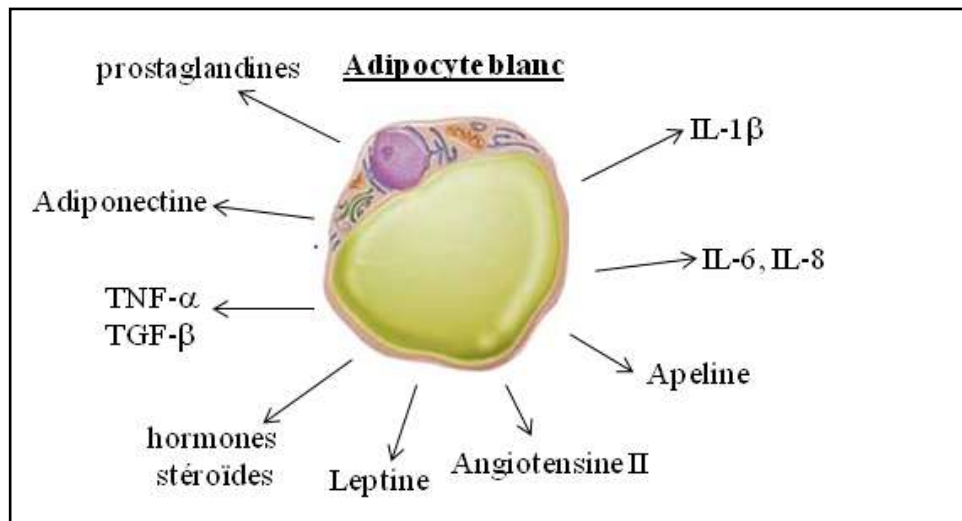


Figure 12 : Principales adipokines sécrétées par les adipocytes (Delouis *et al.*, 2001).

IL-1 β : Interleukine 1 β , *TNF- α* :Tumor Necrosis Factor- α , *TGF- β* : Transforming Growth Factor

En dehors de son rôle dans l'équilibre énergétique, la cellule adipeuse a progressivement acquis un statut de cellule endocrine. En effet, en 1994, le groupe de Friedman découvre que les adipocytes sécrètent la leptine (Zhang *et al.*, 1994). Par la suite, de nombreuses études ont mis en évidence un très grand nombre de facteurs sécrétés par les adipocytes, regroupés sous le terme d'adipokines (Ronti *et al.*, 2006).

2-Production et composition du lait

Le lait maternel est l'aliment qui répond le mieux aux besoins du jeune. Les caractéristiques de la composition du lait sont très variables car elles dépendent de nombreux facteurs inhérents au type de mammifère (espèce, race), à son état physiologique (stade de lactation, naissance à terme...) son état sanitaire et enfin à son alimentation. Malgré la variabilité et la multiplicité des facteurs influençant le volume et la qualité du lait maternel, il est possible de déterminer deux types de lait distincts : le colostrum, épais jaune et peu abondant, déjà sécrété pendant la gestation jus qu'aux tout premiers jours post-partum et le lait mature, blanc et plus abondant, sécrété par la suite (**Tableau 5**).

La composition du lait fait l'objet de nombreuses études et de très nombreux composés ont pu être identifiés et caractérisés dans le lait maternel. Comparé aux laits de vache, de chèvre ou de brebis, le lait de lapine est beaucoup plus concentré, à l'exception du lactose. L'analyse

détaillée de la composition biochimique du lait de lapine sera abordée dans le chapitre IV.

Tableau 5 : Composition biochimique du lait de lapine comparé aux autres laits de mammifères (Jensen, 1995 ; Grös *et al.*, 2009)..

Femelles	Matière grasse %	Protéines %	Lactose %	Matière sèche %
Vache (Holstein)	3,5	3,1	4,9	12,2
Chèvre	3,5	3,1	4,6	12
Femme	4,5	1,1	6,8	12,6
Lapine	12,2	10,4	1,8	26,4
Souris	29,8	12,7	1,7	45,5

Chapitre IV :
CARACTERISTIQUES DU
LAIT DE LAPINE

Chez les mammifères, l'alimentation du jeune dépend exclusivement du lait, liquide complexe dont les effets vont au-delà de sa valeur nutritionnelle. Le lait confère en effet au nouveau-né des avantages d'ordre protecteur et adaptatif, à travers des molécules bioactives qui sont transférées de la mère au jeune pendant la période d'allaitement. Dans ce contexte, les rôles joués par les composés bioactifs du lait (incluant des hormones, des cytokines et des microARN) dans le développement néonatal sont d'une importance capitale. Dans le cas du lapin, le lait constitue le seul aliment des lapereaux durant les 17 premiers jours de vie. De bonne qualité et quantité suffisante, il permet une croissance harmonieuse du lapereau au cours de la période de lactation (Fortun-Lamothe et Gidenne, 2003).

1-Production laitière chez la lapine

1-1-Aspect quantitatif de la production laitière chez la lapine

Il existe différentes formes de courbes de lactation. En général, quel que soit le stade de fécondation par rapport à la mise bas, la production quotidienne augmente graduellement durant les 3 premières semaines (Zerrouki *et al.*, 2005 ; Hassan, 2005). Elle croît de 30-50 g les 2 premiers jours pour atteindre 200-250 g vers la fin de la 3^{ème} semaine de lactation, voire 300 g/jour pour les souches les plus laitières. Par la suite elle décroît rapidement (Maertens *et al.*, 2006b). Selon ces mêmes auteurs, la décroissance est plus rapide si la lapine a été fécondée immédiatement après la mise bas (**Figure 13**).

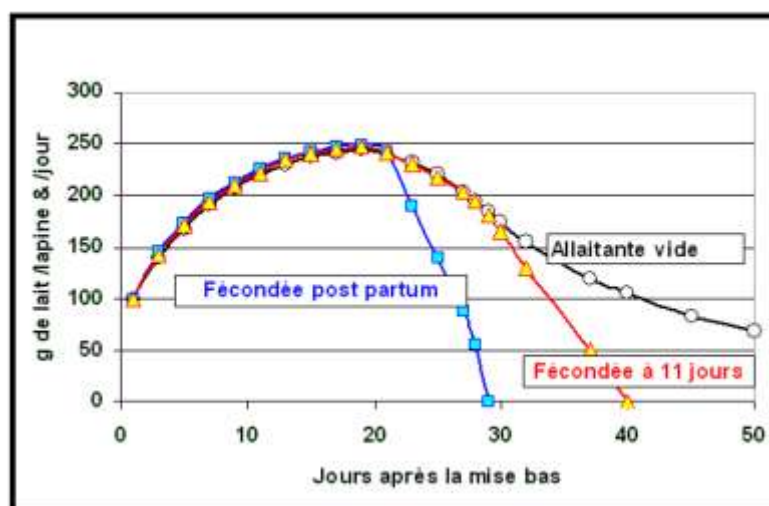


Figure 13 : Evolution de la production laitière de lapines simplement allaitantes ou simultanément gestantes et allaitantes (Fortun-Lamothe, 2006).

La production laitière de la lapine augmente avec l'effectif de la portée, mais chaque lapereau consomme alors individuellement un peu moins de lait. Toutefois, en fonction du type

génétique, l'accroissement de la production avec la taille de la portée cesse au-delà de 10 à 12 lapereaux allaités, voire moins pour les populations non sélectionnées (Lebas, 1969 ; Lukefahr *et al.*, 1983 ; Lebas, 2002 ; Zerrouki *et al.*, 2005).

L'estimation de la production laitière des lapines peut se faire par mesures indirectes c'est-à-dire par pesée de la lapine avant et après tétée (Lebas et Zerrouki, 2011). L'estimation est aussi possible à partir du poids ou du gain de poids des lapereaux de la naissance au 21^{ème} jour de lactation (Lebas, 1969 ; Fortun-Lamothe et Sabater, 2003 ; Zerrouki *et al.*, 2005 ; Lebas et Zerrouki, 2011). Selon Schuh *et al.*, (2004), le gain de poids de la portée est un bon prédicateur de la production laitière, meilleur que le poids. Au-delà de 21 jours, l'estimation est très délicate puisque le lapereau ingère l'aliment sec en plus du lait de sa maternel. D'autres méthodes de mesure dites directes ont été utilisées tel que la méthode par la traite de la lapine (Lebas, 1970; Marcus *et al.*, 1990).

Cette méthode consiste à appliquer sur les lapines la technique utilisée chez les vaches et les brebis, une traite mécanique ou manuelle de la mamelle qui exige de fortes quantités d'ocytocine (2 à 3 UI par animal), qui sont jusqu'à 100 fois supérieures à celles libérées naturellement au cours d'une tétée, et une injection de (chlorpromazine) (0,1 ml/ femelle) avant la traite afin de calmer la lapine et de faciliter la manipulation (Boucher *et al.*, 2007).

Avec cette méthode, nous pouvons extraire une quantité équivalente ou supérieure que celle éventuellement consommée par les lapereaux. C'est pour cette raison que cette technique n'est pas préconisée dans le cas de l'évaluation de la production laitière des lapines mais est généralement utilisée pour la collecte du lait de lapines transgéniques (Bio Protein Technologies, 2006).

1-2-Aspect qualitatif de la production laitière chez la lapine

Le lait maternel est l'aliment qui répond le mieux aux besoins du jeune. Sa composition est primordiale et se trouve directement liée à l'état de santé du lapereau. En effet, l'ingestion d'un lait qui ne présenterait pas toutes les caractéristiques nutritionnelles ou sanitaires appropriées entraînerait un retard de croissance et/ou augmenterait le risque de développer une affection (Boucher *et al.*, 2007 ; Lebas, 2007) (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Composition chimique du lait de lapine.

	Valeurs mini-maxi
En % de la Matière Sèche	
Matière azotée totale	34,5-51,3
Matière grasse	38,9-56,1
Lactose	0,7-7,6
Cendres	5,3-8,3
Energie (Kcal/kg)	6313-6881
Matière Sèche (g.100g ⁻¹)	27,0-44,2

D'après Davies *et al.*, 1964; Lebas, 1971; Anderson *et al.*, 1975; Fonty *et al.*, 1979; El-Sayiad *et al.*, 1994; Pascual *et al.*, 1999 ; Kráčmar *et al.*, 2001; Debray, 2002.

La composition du lait de lapine a fait l'objet de nombreuses études et de nombreux composés ont pu être identifiés et caractérisés. Les composants majeurs sont les matières grasses et protéiques, représentant chacune de 40 à 50% de la matière sèche suivant les différentes études. Les sucres sont minoritaires, et le lactose en est le principal représentant.

Comparé aux laits de vache, de chèvre ou de femme, le lait de lapine est beaucoup plus concentré avec une teneur en matière sèche d'environ 30%. Seul le lactose est présent à une concentration moindre (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Comparaison de la composition du lait de différentes espèces de mammifères.

Femelles	Matière grasse %	Protéines %	Lactose %	Matière sèche %
Vache (Holstein)	3,5	3,1	4,9	12,2
Chèvre	3,5	3,1	4,6	12
Femme	4,5	1,1	6,8	12,6
Lapine	12,2	10,4	1,8	26,4
Souris	29,8	12,7	1,7	45,5

D'après Görs *et al.*, 2009

1-2-1- Composants du lait de lapine

1-2-1-1- Protéines

La matière azotée totale (MAT) du lait de lapine est représentée par deux fractions : la matière azotée non protéique (MANP) et la matière azotée protéique (MAP) constituée par les lactoprotéines.

La MAP ou les lactoprotéines sont composées majoritairement par des caséines (α , β et κ) et des protéines sériques, incluant la WAP (Whey Acidic Protein), l' α -lactalbumine et la lactoferrine (Grabowski *et al.*, 1991 ; Baranyi *et al.*, 1995) (**Figure 14**).

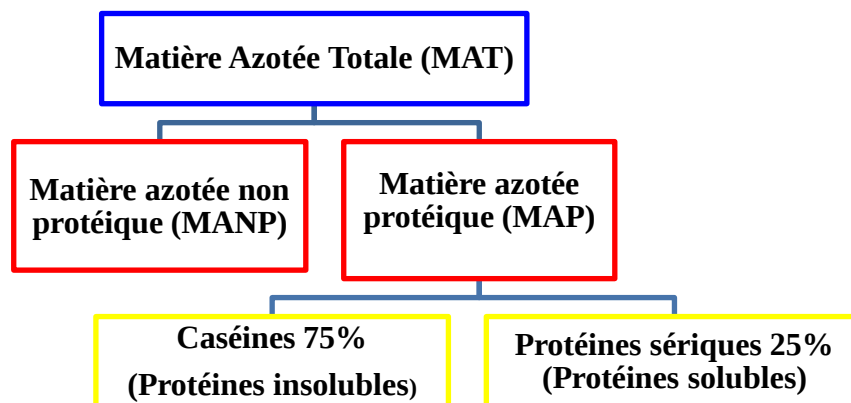


Figure 14: Les fractions azotée et protéique du lait de lapine.

▪ Caséines

Les micelles de caséines sont constituées d'un agglomérat de plusieurs sous-micelles reliées entre elles par des ponts phospho-calciques. Les caséines les plus hydrophobes constituent le cœur des sous-micelles. L'une d'entre elles, la caséine β , peut s'extraire hors du noyau hydrophobe en fonction de la température (refroidissement du lait). Ce phénomène est réversible et cette caséine peut réintégrer la micelle. Pour cela, il est nécessaire de maintenir la température du lait à 37°C (**Figure 15**).

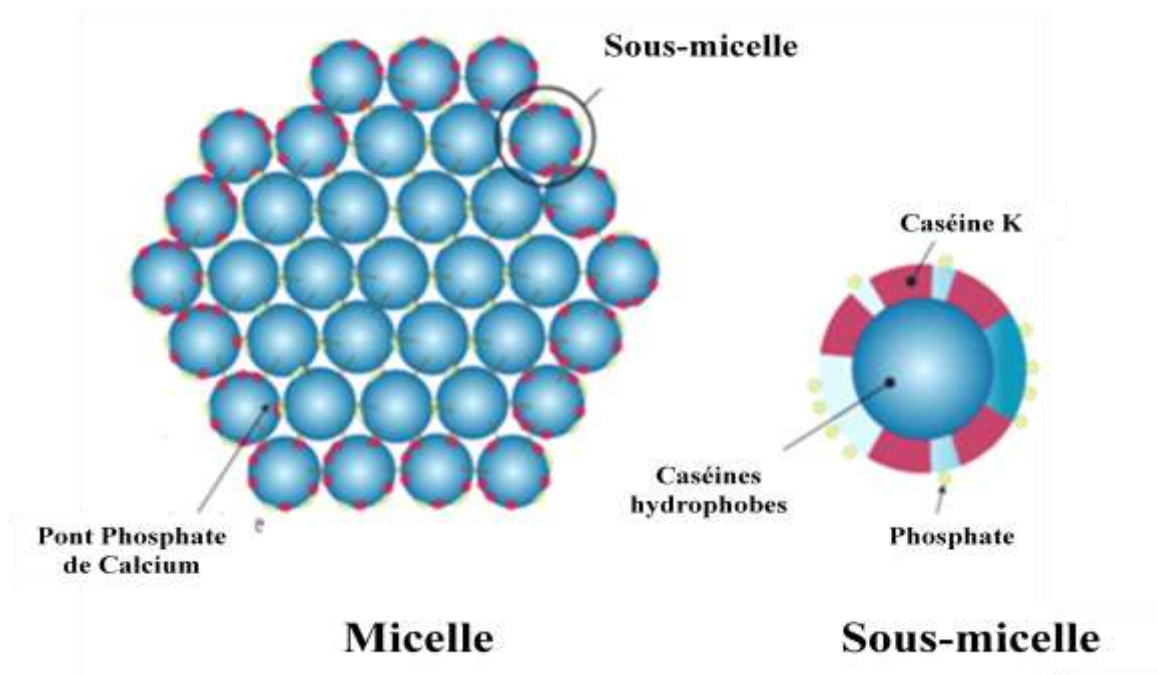


Figure 15: Représentation schématique d'une sous-micelle et d'une micelle de caséines.

Les caséines sont au nombre de 5 (caséines κ , α_{s1} , α_{s2} , α_{s2} -Like et β) ; elles sont organisées en micelles et représentent dans la plupart des espèces les protéines les plus abondantes du lait (75%) (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Caractéristiques des caséines du lait de lapine.

Caséines	Nombre d'AA	PM (kDa)	Rôles biologiques	Références
Caséine-Alpha-S1	215	23972,0086	-Transport des ions calcium et phosphate dans le lait	Dayal <i>et al.</i> ,1982 Devinoy <i>et al.</i> ,1988
Caséine-Alpha-S2	182	19926,6555	-Transport des ions calcium et phosphate dans le lait	Dawson <i>et al.</i> ,1993 AISarraj <i>et al.</i> ,1978
Caséine-Alpha-S2-Like	180	19646,3787	-Transport des ions calcium et phosphate dans le lait	Dayal <i>et al.</i> ,1982 Dawson <i>et al.</i> ,1993
Caséine-Beta	228	24548,004	-Propriétés de la surface micellaire	Testud et Ribadeau-Dumas, 1973 Schaerer <i>et al.</i> ,1988
Caséine- Kappa	180	18018,5574	-Maintien de la stabilité des micelles de caséines - Inhibition de la précipitation des autres caséines	Bösze <i>et al.</i> , 1993 Baranyi <i>et al.</i> ,1996 Bösze et, Houdebine, 2006

Les caséines ont la particularité d'être insolubles (de précipiter) sous l'effet du pH (pH acide) ou sous l'action d'un extrait enzymatique isolé de la caillette de veau pré-ruminant, la présure (constitué du mélange de 2 enzymes, la pepsine et la chymosine)

▪ Protéines du lactosérum ou protéines sériques

En marge des protéines insolubles que sont les caséines, le lait contient un ensemble de protéines dites solubles car elles restent en solution dans le lactosérum après emprésurage et coagulation des caséines.

Les protéines solubles, aussi appelées protéines du lactosérum, sont celles qu'on retrouve dans le lait après avoir enlevé les globules gras et précipité les micelles de caséines. Elles sont majoritairement représentées par la protéine acide du lactosérum ou WAP (Whey Acidic Protein), l' α -lactalbumine, la transferrine, la lactoferrine, la sérum-albumine et diverses immunoglobulines (**Tableau 9**).

Il est à signaler que chez la lapine la β lactoglobuline ne figure pas parmi les protéines du lactosérum.

Tableau 9 : Synthèse bibliographique sur les protéines sériques du lait et lapine.

Protéines sériques	Nombre d'AA	PM (kDa)	Rôle biologique	Références
WAP	127 AA	11601,44	-Inhibition de la protéolyse	Devinoy <i>et al.</i> ,1988 Thépot <i>et al.</i> ,1990 Grabowski <i>et al.</i> ,1991 Pak <i>et al.</i> ,1999
α- lactalbumine	141 AA	14060,95	- Régulation de la lactosynthétase au niveau des cellules épithéliales mammaires	Hopp et Woods,1979 Pak <i>et al.</i> ,1999
Sérum-albumine	608AA	66015,41	-Protéine d'origine plasmatique -Régulation de la pression osmotique colloïdale du sang -Transporteur de zinc dans le plasma	Dayal <i>et al.</i> , 1982
Lactoferrine	696 AA	74886,17	- Capture et transport du fer - Défense immunitaire - Bactéricide - Anti-inflammatoire	Bradshaw et White,1985 Sarraf <i>et al.</i> ,1990

▪ Protéines mineures

Le lait contient également de nombreuses hormones et enzymes d'origine maternelle. Les autres protéines du lactosérum, constituent la fraction « protéines mineures » du lait. Les protéines qui composent cette fraction sont quantitativement mineures mais peuvent avoir des activités biologiques importantes : immunoglobulines, hormones, facteurs de croissance, ... (Hue Beauvais, 2014) (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Concentrations des immunoglobulines dans le sérum, le colostrum et le lait de différentes espèces de mammifères (Berthon et Salmon, 1993).

Ig concentration (mg/ml)				
		Sérum	Colostrum	Lait
Homme	G	12,1	0,4	0,04
	A	2,5	17,3	1,0
	M	0,9	1,6	1,1
Lapin	G	7,5	1,5	0,1
	A	0,005	30,0	5,0
	M	0,01	0,01	Traces
Rat	G	7,8	0,7	1,5
	A	0,2	1,1	1,1
	M	0,95	-	0,002
Vache	G1	12,0	47,6	0,5
	G2	9,6	2,7	0,03
	A	0,5	4,3	0,1
	M	3,0	5,0	0,06

Parmi les protéines mineures d'intérêt, on distingue les immunoglobulines et plus précisément les Ig A. Les concentrations respectives en Ig A dans le colostrum et lait de lapine (30mg/mL et 5,0 mg/mL, respectivement) sont très importantes comparativement au colostrum humain, bovin et autres mammifères, conférant ainsi au lapereau nouveau-né des avantages d'ordre protecteur et adaptatif aux périodes post natale et d'allaitement (Hanzen, 2010).

1-2-1-2-Matière grasse (MG)

Les lipides sont présents dans le lait sous forme de globules gras, constitués de 98,5% de glycérides (esters d'acides gras et de glycérol), 1% de phospholipides et 0,5% de substances liposolubles (cholestérol, vitamines...) (**Tableau 11**) (Smith *et al.*, 1968; Demarne *et al.*, 1978; Perret, 1980; Pascual *et al.*, 1999).

Tableau 11: Composition en acides gras du lait de lapine.

	Smith <i>et al.</i> , 1968 % molaire	Demarne <i>et al.</i> , 1978 % molaire	Perret, 1980 % pondéral
C6:0	0,5	traces	0,5
C8:0	37,1	35,8	18,2
C10:0	27,4	31,9	19,7
C12:0	2,9	5,3	3,3
C14:0	1,1	1,5	2,0
C15:0	-	0,2	-
C16:0	0,8	7,1	17,28
C16:1	0,8	1,0	2,5
C17:0	-	0,1	-
C18:0	1,7	1,4	3,8
C18:1	9,2	6,6	13,6
C18:2	10,4	7,5	12,9
C18:3	0,9	1,6	3,2
C20:4	-	-	1,9

Les globules gras vont fusionner dans le cytoplasme des CEM pour former des structures de plus en plus grosses, qui seront sécrétées dans les lumières alvéolaires. Tout comme les protéines, la composition du lait en lipides est très variable d'une espèce à l'autre. Les acides gras (AG) du lait diffèrent par la longueur de leur chaîne carbonée, le nombre de doubles liaisons et la position de celles-ci. Ils peuvent être synthétisés par les cellules mammaires ou bien être apportés par voie sanguine lorsqu'ils sont issus de l'alimentation ou de la lipolyse des réserves maternelles. On note cependant que les AG contenant plus de 16 atomes de carbones proviennent de la circulation sanguine puisque les cellules épithéliales mammaires ne possèdent pas d'élongase, enzyme indispensable à la synthèse de ce type de lipides (Debnath *et al.*, 2003).

1-2-1-3-Glucides

Le sucre principal du lait est le lactose qui est un dioside composé de glucose et de galactose.

Il est synthétisé dans l'appareil de Golgi, puis transporté dans les mêmes vésicules que les caséines, avant d'être sécrété dans la lumière alvéolaire. Le lactose a un fort pouvoir osmotique, attirant l'eau et déterminant ainsi le contenu en eau du lait (Ball *et al.*, 1988). La teneur en lactose au sein du lait de lapine a été rapportée dans un nombre restreint de travaux de recherches raison de sa faible concentration (<2 g/100 g) (Lebas, 1971).

1-2-1-4-Fractions minérale et vitaminique

▪ Minéraux

Selon Lebas (1971), le lait de lapine présente des teneurs élevées en éléments minéraux (2,3% du lait frais). Les teneurs en calcium, phosphore, magnésium, potassium et sodium dépassent largement celles enregistrées sur d'autres laitages domestiques comme les laits de vache, de chèvre et de brebis (**Tableau 12**).

Tableau 12: Composition minérale du lait de lapine comparée aux laits bovin, caprin et ovin.

Composants en g/kg de lait	Lapine	Vache	Chèvre	Brebis
Calcium	5,60	1,25	1,30	1,90
Phosphore	3,38	0,95	0,90	1,50
Magnésium	0,37	0,12	0,12	1,16
Potassium	2,00	1,50	2,00	1,25
Sodium	1,02	0,50	0,40	0,45

(Lebas, 1971 ; Lebas *et al.*, 1971 ; Jarrige, 1978).

▪ Vitamines

Le lait de lapine est plus riche que le lait de vache en vitamines hydrosolubles et en vitamine A (Coates *et al.*, 1964) (**Tableau 13**).

Tableau 13: Concentration des vitamines dans le lait de lapine.

Vitamines	Teneur min - max (µg/ml)
Biotine (B ₈)	0,08 – 0,45
Acide folique (B ₉)	0,003 – 0,30
Acide nicotinique (B ₃)	2 – 8,7
Calcium pantothenate (B ₅)	6,2 – 22,1
Riboflavine (B ₁₂)	2,3 – 4,9
Acide pyridoxal (B ₆)	0,9 – 3,6
Vitamine (B ₁₈)	0,05 – 0,11
Thiamine (B ₂)	0,3 – 1,7
Rétinol (A)	0,18 – 6,70

2-Facteurs déterminants la composition biochimique du lait de lapine

La composition du lait varie grandement et dépend de nombreux facteurs inhérents au type de mammifère (espèce, race), à son état physiologique (stade de lactation, naissance à

terme...), son état sanitaire, son alimentation et enfin au rythme de reproduction (El-Sayiad *et al.*, 1994 ; Xiccato, 2001 ; Khalil *et al.*, 2005).

2-1-Stade de lactation

Malgré la variabilité et la multiplicité des facteurs influençant le volume et la qualité du lait maternel, il est possible de déterminer deux phases distinctes au cours de la période d'allaitement où on observe une évolution progressive de la qualité du lait :

2-1-1-Stade colostrum

Le colostrum est un liquide épais jaune et peu abondant, sécrété pendant les premiers jours post-partum. Il existe peu de travaux concernant la composition du colostrum de lapine (Coates *et al.*, 1964 ; Lebas, 1971 ; El Sayiad *et al.*, 1994 ; Christ *et al.*, 1996).

Le taux de protéines y est très élevé du fait de la concentration élevée en immunoglobulines (Maertens *et al.*, 2006). La proportion des caséines y est faible et augmente progressivement jusqu'au stade lait mature (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Composition chimique du lait de lapine.

Constituants	Colostrum	4 ^{ème} jour	1 semaine	18 jours	3 semaines
Solides, total (g/100g)	3,6	32,1	31	36	25,7
Matière grasse (g/100g)	17,7	10,2	14,3	15,2	12,3
Lactose (anhydre) (g/100g)	2,32	1,76	1,29	1,28	1,12
Protéines (total N*6,38)(g/100g)	-	-	13,2	-	11,9
Potassium (mg/100g)	186	212	-	145	-
Sodium (mg/100g)	123	82	-	160	-

D'après Coates *et al.*, 1964

Les concentrations en vitamines varient également lors du passage du stade colostré au stade de lait mature avec un enrichissement progressif en vitamines (**Tableau 15**).

Tableau 15 : Contenu en vitamines (mg/ml) du lait de lapine, à différents stades de lactation.

Vitamines	Colostrum	4 ^{ème} jour	1 semaine	18 jours	3 semaines
Biotine (Vit B7)	0,08	0,17	0,23	0,45	0,14
Acide folique (Vit B9)	0,003	0,013	0,10	0,30	-
Acide nicotinique (Vit B3)	20	7,0	84	49	8,7
Calcium pantothenate	14,3	22,1	15,8	14,5	7,3
Riboflavine (Vit B12)	2,9	2,3	2,3	4,6	2,8
Thiamine (Vit B1)	0,3	0,6	17	1,6	1,7
Vitamine B6 (as pyridoxal)	0,9	2,1	2,9	3,6	2,5
Vitamine B18	0,11	0,11	0,09	0,07	0,05
Vitamine A	6.70	3.05	2.71	1.82	0,84

D'après Coates *et al.*, 1964

2-1-2-Stade lait mature

Le lait de la lapine est concentré en matière sèche, matière azote totale et matière grasse au début de la lactation. La teneur du lait en ces éléments décroît entre la 2^{ème} et la 3^{ème} semaine pour augmenter à nouveau en fin de lactation. Plus la femelle produit de lait, moins il est riche. A partir de la 4^{ème} semaine, la teneur en matière sèche augmente et le lait devient plus riche. Les proportions relatives de matières azotées et grasse restent similaires ; en revanche, la teneur en lactose, quantitativement peu importante, après une augmentation durant les quinze premiers jours, chute rapidement et avoisine le 0g/Kg en fin de lactation (Lebas ,1971 ; Boucher *et al.*, 2007).

2-2- Alimentation

La modification du régime alimentaire affecte la qualité du lait (Lebas, 1971). La quantité de lipides incorporés dans l'aliment maternel influe sur la composition en acides gras du lait de lapine (Fraga *et al.*, 1989 ; Christ *et al.*, 1996 ; Lebas *et al.*,1996) (**Tableau 16**).

Tableau 16 : Composition du lait de la lapine en acides gras à différentes situations physiologiques ou nutritionnelles.

Auteurs	Christ <i>et al.</i> , (1996)		Fraga <i>et al.</i> , (1989)		Lebas <i>et al.</i> , (1996)	
Critère étudié	Stade de lactation		% de fibres dans aliment		Source d'énergie	
	1er jour	21 ^{ème} jour	18% ADF	24% ADF	Amidon	Huile
% lipides du lait	20,4	13,1*	14,1	12,3	10,0	9,0
Unité	% des acides gras		g / 100 g de lipides		% des acides gras	
C4:0	-	-	0,3	0,2	-	-
C6:0	-	-	0,3	0,4*	0,5	0,3*
C8:0	5,2	17,6*	20,6	23,3	32,5	26,6*
C10:0	6,2	12,8*	17,5	18,9	26,4	23,3*
C12:0	1,4	0,8*	2,9	2,9	4,1	3,7
C14:0	-	-	2,6	2,1*	1,6	1,2*
C15:0	-	-	0,6	0,6	0,3	0,2*
C16:0	17,6	9,7*	16,4	14,6	11,4	8,9*
C16:1	1,4	0,8*	3,1	2,2*	1,4	0,7*
C17:0	-	-	0,7	0,8	0,4	0,3*
C18:0	3,1	2,7*	3,5	3,5	2,5	2,8*
C18:1	29,3	23,3*	13,0	11,0	7,6	9,1*
C18:2	18,1	17,6	12,3	13,4	7,8	9,1*
C18:3	3,5	4,8*	1,6	2,1	1,9	1,8*
C20:0	0,2	0,1*	-	-	-	-

En effet, des études (Hue Beauvais, 2011 ; 2015) ont montré qu'un régime obésogène est à l'origine d'une glande mammaire envahie par le tissu adipeux et d'une production de lait dont la teneur en lipides est très importante. Ces deux paramètres seraient la cause du fort taux de mortalité observée sur la descendance. Par ailleurs, une augmentation de la teneur en protéines de l'aliment au-dessus de 21% permet une augmentation de la production laitière et

le lait s'enrichit autant en lipides qu'en protéines (Fortun-Lamothe, 2003).

2-3-Rythme de reproduction et état physiologique

Le tableau 17 décrit la composition chimique du lait de lapine en fonction du rythme de reproduction. Les femelles soumises à un rythme de reproduction intensif (I), à savoir saillie 2 jours après la mise bas, produisent un lait plus gras que celui des femelles soumises à un rythme semi- intensif (S), c'est-à-dire saillie 10 jours après la mise bas, (192,5 g/kg contre 133 g/kg). Le chevauchement de la lactation et de la gestation impacte, de par le rythme de reproduction intensif, la composition du lait produit (Moumen *et al.*, 2009). Ce fait a été précédemment décrit par Kustos *et al.*, (1996) qui confirmaient également l'augmentation des taux de protéines et matières grasses dans le lait des lapines gestantes et lactantes à la fois.

Tableau 17 : Composition moyenne de lait de lapine en fonction du rythme de reproduction (% de la matière brute)

Rythme de reproduction	Matière sèche	Matière minérale	Matière grasse	Matière organique
Intensif	27 ± 6,41 (23,6)	6,56 ± 3,1 (47)	19,2 ± 14	93 ± 3,1 (3)
Semi-intensif	29 ± 9,7 (33)	6,48 ± 2,6 (40)	13,3 ± 10	93,5 ± 2,6 (2)

D'après Moumen *et al.*, 2009

2-4-Effet de la race

La composition biochimique du lait ne varie pas de manière significative entre les lapins de la race Néo-zélandaise et ceux de la race Duch (Cowie, 1968) ou entre des hybrides commerciaux (Maertens *et al.*, 2006a). Cependant, El Sayiad *et al.*, (1994) ont trouvé des niveaux de protéines brutes significativement plus élevés dans le lait de lapine de race californienne (12,02 g / 100 g) par rapport au lait collecté sur les lapine de race Néo-zélandaise (11,02 g / 100 g).

2-5- Effet de la saison

Les effets du climat et des changements saisonniers n'ont encore été clairement mis en évidence. En revanche, dans des conditions climatiques dont la température avoisine les 30°C, une tendance à la diminution des teneurs en matières grasses, en protéines et surtout en lactose a été observée (Kustos *et al.*, 1999).

ETUDE EXPERIMENTALE

Objectifs

Cette étude est le résultat d'un projet de collaboration franco-algérien, réalisé dans le cadre du partenariat Hubert Curien (TASSILI). La partie algérienne a été réalisée dans le cadre des activités de l'équipe de recherche dirigée par Mme Nacira ZERROUKI au niveau du laboratoire Ressources naturelles de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. La partie française a été réalisée au sein des équipes Génomique Fonctionnelle et Physiologie de la Glande Mammaire, sous la direction de Mme Madia CHARLIER et Lait Génome et Santé, sous la direction des Ms. Patrice MARTIN et Guy MIRANDA (INRA, UMR 1313 GABI, Jouy-en-Josas).

Ce travail est une contribution à l'acquisition des connaissances sur l'élevage de deux souches de lapins élevés en Algérie, le lapin de population blanche (PB) et le lapin de souche synthétique (SS) en conditions de production locale. Il est motivé d'une part, par le développement important de la cuniculture en Algérie actuellement et, d'autre part, par le problème de mortalité des lapereaux rencontré dans les élevages et plus spécifiquement dans la région de Tizi Ouzou.

Notre travail a pour premier objectif l'évaluation de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement aussi bien dans la souche PB que dans la souche SS, en rapport avec leurs performances de reproduction et de production laitière (quantité et qualité) enregistrées sur cinq années d'investigation. Dans un second temps, nous abordons les aspects histologique et endocrinien de la glande mammaire à différents stades physiologiques. Nous ciblons également, la composition biochimique du lait collecté sur les deux types génétiques de lapines à différentes saisons et pendant différentes périodes d'allaitement. Dans un dernier volet, nous nous focalisons sur la qualité des protéines du lait collecté sur les deux types génétiques de lapines. L'ensemble de ces paramètres a été suivi et analysé sur plusieurs cycles de reproduction et pourrait apporter des éléments de réponse au problème de mortalité des lapereaux sous la mère.

Le lieu et les conditions d'expérimentation seront présentés dans ce chapitre. En ce qui concerne les protocoles propres à chaque expérimentation, ils seront traités indépendamment.

Conditions d'élevage

1-Période et lieu du déroulement de l'expérimentation

L'expérimentation s'est déroulée au niveau du clapier privé localisé dans la région de Tizirt (36° 53' 20'' N et 5° 7' 30'' E), plus précisément à Agni Rehan, route de Tifra, village situé à 43 Km au nord du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou (2013-2017) (**Figure 16**).

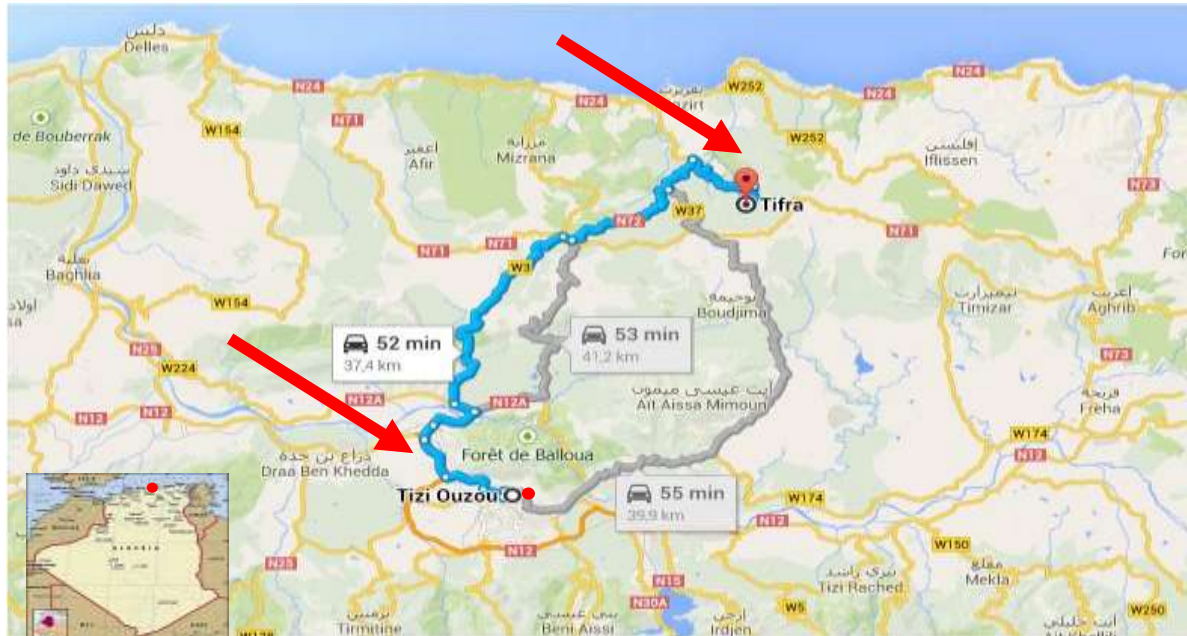


Figure 16: Situation géographique de la région de Tizirt.

2- Conditions climatiques

La région de Tizirt se caractérise par un climat méditerranéen, chaud et doux en été, froid et humide en hiver. Les données climatiques enregistrées tout au long de l'année sont rapportées dans les **Figures 17a et b**.

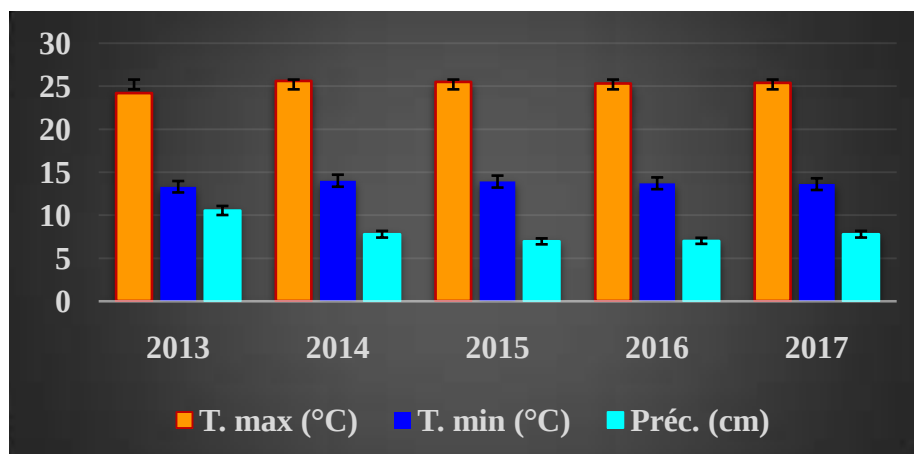


Figure 17a : Conditions climatiques de la région de Tizirt (Office national de métrologie Tizi-Ouzou 2013-2017).

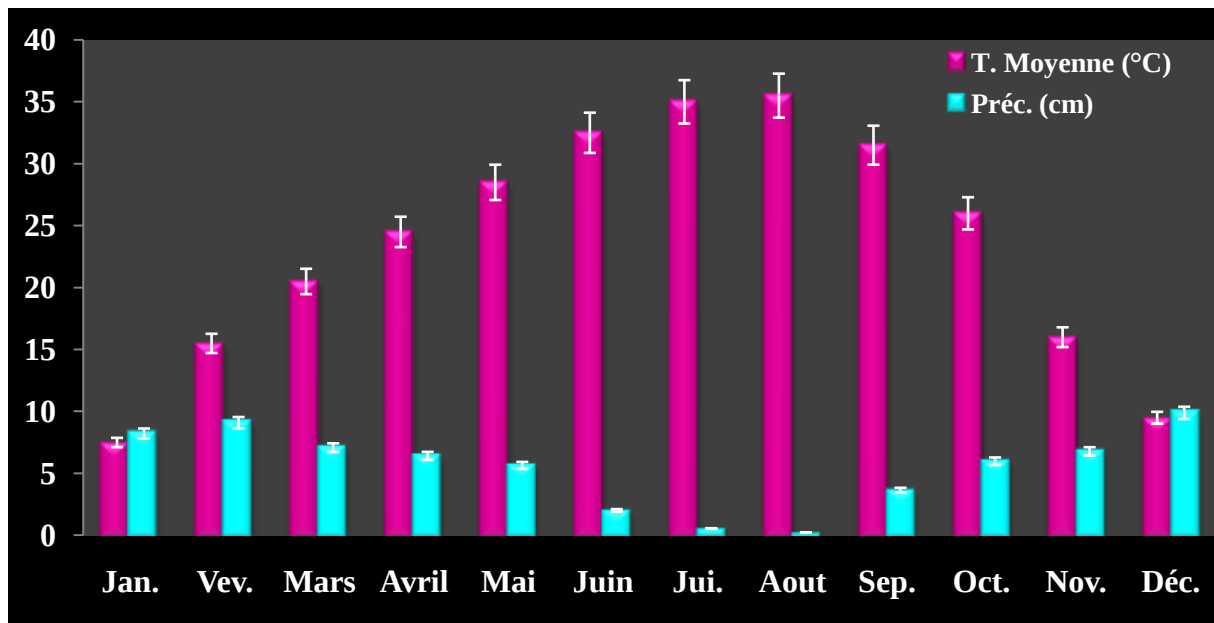


Figure 17b : Conditions climatiques de la région de Tizirt à différentes saisons (Office national de métrologie Tizi-Ouzou 2013-2017).

3- Bâtiment d'élevage

Le bâtiment comprend 2 salles (engraissement et maternité) et un magasin de stockage d'aliment. La bâtisse est pourvue de fenêtres assurant un éclairage et une aération naturels avec un programme lumineux de 16 heures/jour. En revanche, il n'y a pas de système de ventilation électrique, de chauffage, ni de refroidissement. Cependant, les animaux sont à l'abri des vents violents et des fortes températures grâce à un faux plafond (**Figures 18, 19**).



Figure 18: Vue extérieure de la station d'élevage de Tizirt.

La maternité renferme 200 cages grillagées disposées en flact-decket réparties en 2 rangées dont 160 cages mères munies de boîtes à nids métalliques. Chaque cage est dotée d'une pipette pour l'eau et d'une mangeoire commune pour deux cages.



Figure 19: Vue intérieure du bâtiment d'élevage.

4- Animaux

Le cheptel est composé par deux types génétiques d'animaux : les lapins de la population blanche (PB) et les lapins de la souche synthétique (SS). Il comprend en moyenne 200 femelles /année (120 SS et 80 PB) et 40 mâles (20 SS et 20 PB).

Les lapines PB sont les descendants d'hybrides commerciaux, importés de France dans les années 1980-1987 (Zerrouki *et al.*, 2007). Les lapines SS sont issues d'un croisement entre la population locale et la souche INRA2666, sélectionnée pour sa prolificité (Gacem *et al.*, 2008; Gacem *et al.*, 2009) (**Figure 20**).

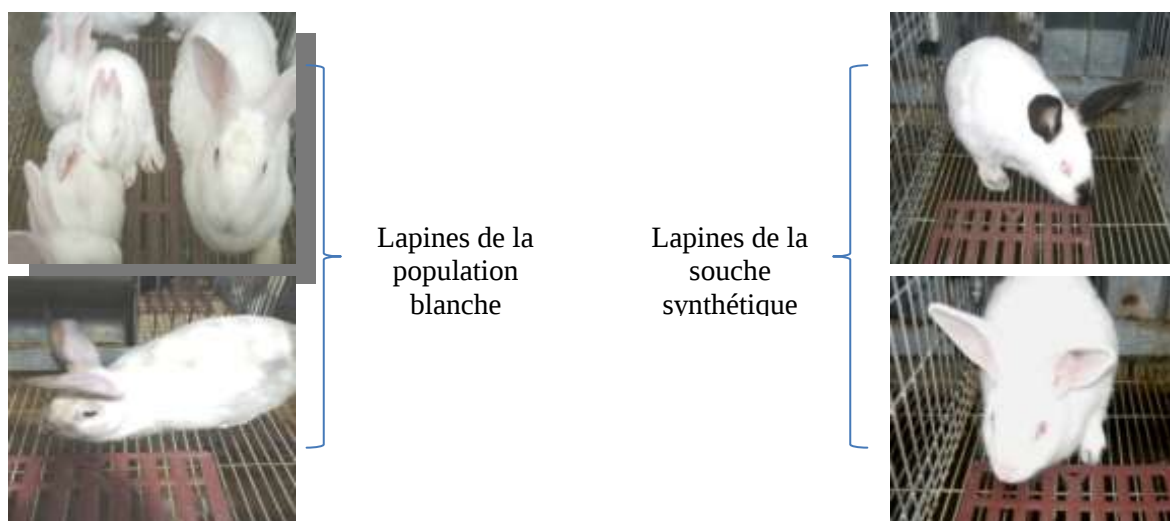


Figure 20 : Différents phénotypes des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

5-Conduite en reproduction

Les femelles sont mises en reproduction à l'âge de 3 à 4 mois. Dans un premier temps (2013-2015), les lapines ont été fécondées par saillie naturelle suivant un rythme semi intensif. Ce rythme consiste à saillir la lapine 10 jours après la mise bas (**Figure 21**).

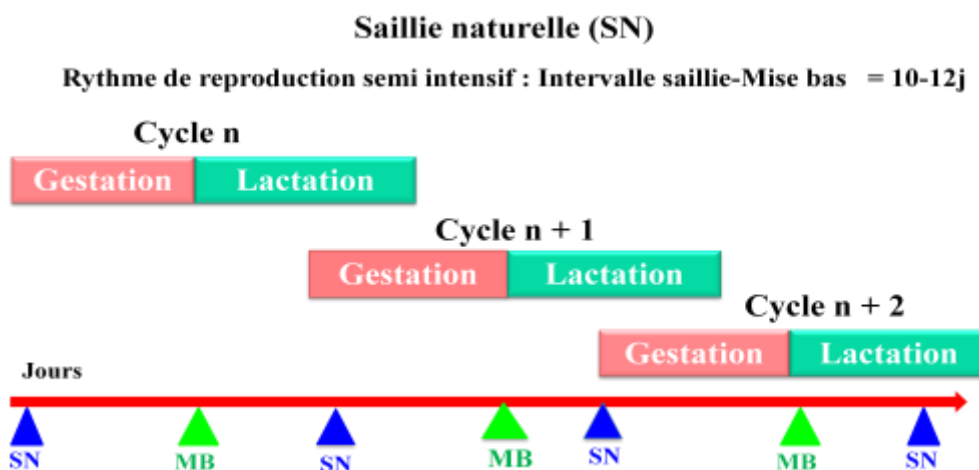


Figure 21 : Illustration du rythme de reproduction semi-intensif avec saillie naturelle (SN) pratiqué entre l'année 2013 et la mi- 2015.

SN : saillie naturelle, MB : mise bas

A partir du mois de juin de l'année 2015, et avec la mise en place d'un laboratoire au sein du clapier, les lapines ont été fécondées par insémination artificielle (IA) suivant un rythme de reproduction extensif. Ce rythme consiste à inséminer les femelles 25 jours après la mise bas (**Figure 22**).

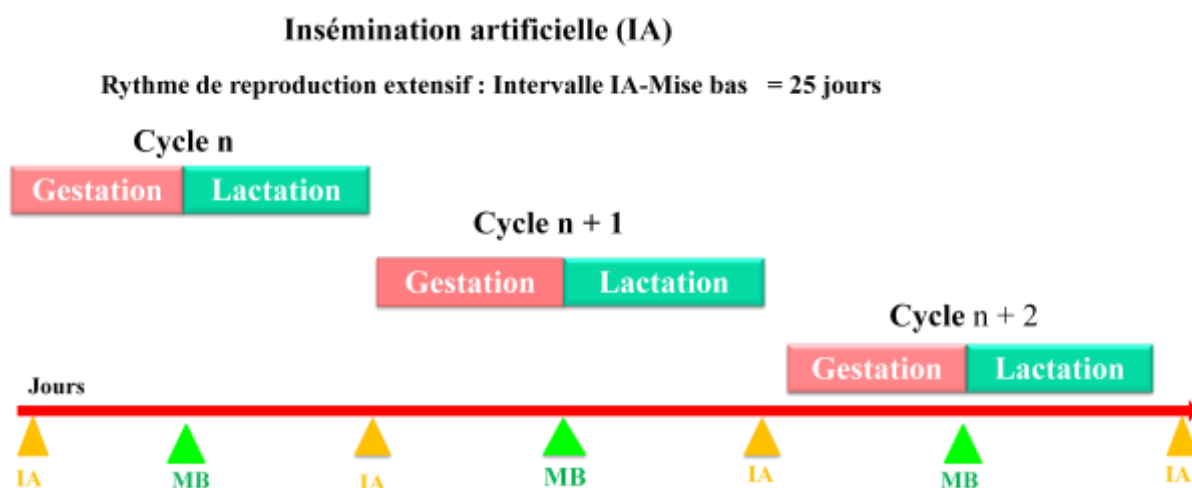


Figure 22 : Illustration du rythme de reproduction extensif avec insémination artificielle (IA) pratiquée à partir de la mi-2015.

IA : insémination artificielle, MB : Mise bas

Le diagnostic de gestation se fait par palpation abdominale vers le 12-13^{ème} jour de gestation (après l'insémination artificielle). Les femelles non gestantes sont aussitôt remises en reproduction (saillie ou insémination artificielle) en fonction de la période prise en considération.

La préparation des boîtes à nids s'effectue 3 à 4 jours avant la date prévue de la mise bas. Les portées sont dénombrées à la mise bas (nés totaux, nés vivants, morts nés). Ces informations sont notées sur une fiche spécifique à chaque femelle.

Après la parturition, les femelles ont accès à la boîte à nid une seule fois par 24 heures, le matin et pendant une durée ne dépassant pas les 3 min. La production laitière a été estimée à partir de la mesure du poids de la femelle et de la portée avant et après tétée quotidienne par 2 à 4 mesures par semaine de lactation, en allant de la naissance de la portée jusqu'à 21 jours.

6-Suivi des animaux

Les lapines ont été suivies durant plusieurs cycles de reproduction, de la saillie ou insémination (en fonction de la période considérée) jusqu'à la fin de la période d'allaitement de leurs portées. Elles ont été identifiées et tatouées à l'aide d'une pince à tatouer. Différentes fiches techniques ont été établies, où sont portées toutes les observations faites au cours des manipulations. Une fiche de reproduction individuelle a été établie, caractéristique de chaque femelle, où sont enregistrées toutes les informations relatives à la saillie ou l'IA, la palpation, et la mise bas. De même, y sont notées toutes les informations portant sur les portées. Les données enregistrées sont représentées sur la **Figure 23**.

7-Hygiène et prophylaxie

L'hygiène du bâtiment d'élevage est assurée par un nettoyage et une désinfection quotidiens du sol, des cages, des mangeoires, des abreuvoirs et des boîtes à nid, ainsi que les supports des cages. Le nettoyage est complété par le passage des cages au chalumeau pour éliminer les poils. Une fois par an, un vide sanitaire est pratiqué ainsi qu'une vaccination des lapines principalement contre la maladie hémorragique virale (VHD) et la myxomatose. En cas de diarrhée isolée, du vinaigre est additionné à l'eau de boisson. A l'entrée du clapier, un pédiluve est installé pour éviter les contaminations venues de l'extérieur.

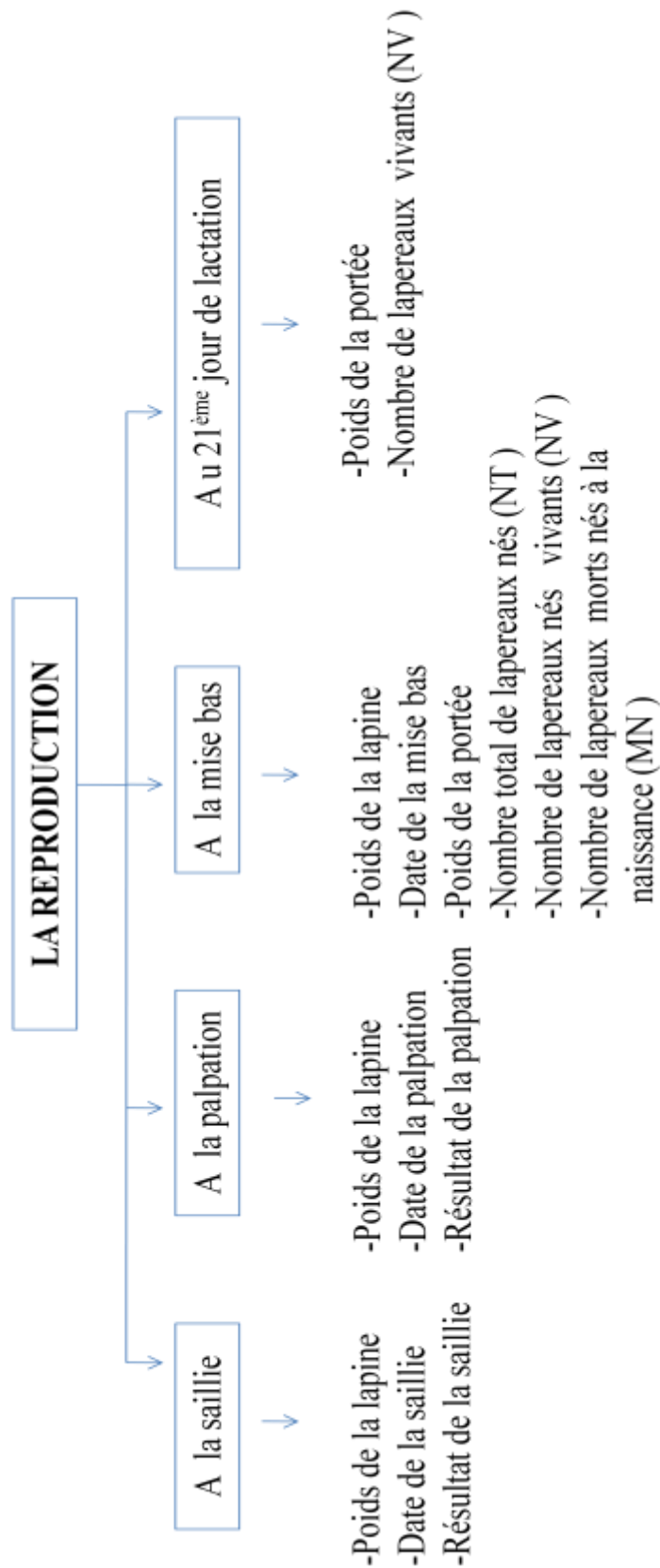


Figure 23 : Paramètres mesurés au cours du cycle de reproduction et de la lactation.

MN: Mort-nés ; NT : Nés Totaux ; NV: Nés Vivants

Expérimentations

Le travail est présenté en cinq expérimentations et chaque expérimentation comprend une présentation du protocole, le matériel et méthodes utilisés, l'analyse statistique et les résultats et discussion.

La première partie porte sur l'évaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en rapport avec la production laitière (quantité et qualité).

La seconde partie traite de l'étude histologique et morphologique de la glande mammaire et de son évolution à travers différents états physiologiques.

La troisième partie s'intéresse à l'étude de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement en rapport avec la quantité de lait produit, sa teneur en protéines totales, le développement de la glande mammaire et le taux de prolactinémie.

La quatrième partie correspond à un essai portant l'évaluation de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement en rapport avec l'origine génétique du lait tété.

La cinquième partie concerne une analyse fine et approfondie de la fraction protéique du lait et son éventuel impact sur la mortalité des lapereaux en période d'allaitement.

1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en rapport avec la production laitière

Chez les mammifères, l'alimentation du jeune dépend exclusivement du lait, liquide complexe dont les effets vont au-delà de sa valeur nutritionnelle. Le lait confère en effet au nouveau-né des avantages d'ordre protecteur et adaptatif, à travers des molécules bioactives qui sont transférées de la mère au jeune pendant la période d'allaitement. Dans ce contexte, les rôles joués par les composés bioactifs du lait dans le développement néonatal sont d'une importance capitale.

Une comparaison des performances de reproduction des lapines appartenant aux deux types génétiques élevées dans la région de Tizirt a montré une supériorité du type SS en ce qui concerne les caractères « prolificité à la naissance » et « poids des lapines et des portées nées » (Zerrouki *et al.*, 2014 ; Lebas *et al.*, 2010). Cependant la productivité au sevrage dans la souche SS, exprimée en nombre de lapereaux sevrés par femelle et par portée et/ou par an s'avère très faible surtout en période estivale. Ces faibles productivités sont liées à une forte mortalité durant la phase d'allaitement (Zerrouki *et al.*, 2014 ; Chibah-Aït Bouziad *et al.*, 2014). Afin d'identifier les causes de cette forte mortalité, des études portant sur l'évaluation quantitative de la lactation des lapines ont été réalisées. Dans cette perspective, nous avons évalué la mortalité des lapereaux SS en comparaison avec ceux du type PB et nous les avons mis en relation avec la production laitière des lapines (quantité et qualité).

1-1- Protocole expérimental

Parallèlement à l'estimation des performances de reproduction des lapines, l'expérimentation se présente sur deux volets :

1-1-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère

Avec une moyenne de 5 mises bas par an, la mortalité à la naissance et entre la naissance et 21 jours a été évaluée sur 250 portées PB et 320 portées SS. Ainsi la mortalité a été estimée par année et par saison et par stade de lactation sur chacun des deux types génétiques de lapines en tenant compte du rythme de reproduction (**Tableau 18**).

Tableau 18 : Effectifs des lapines utilisés en fonction du mode de reproduction.

	2013		2014		2015		2016		2017	
Mode de reproduction	Semi-intensif		Semi-intensif		Semi-int. et extensif		Extensif		Extensif	
Types génétiques	PB	SS	PB	SS	PB	SS	PB	SS	PB	SS
Effectif lapines	80	120	77	110	75	95	90	100	88	115
Mises bas (total)	400	600	385	550	375	475	450	500	440	575

1-1-2-Paramètres évalués

Tenant compte des différents enregistrements au cours de 5 ans d'investigations, les données recueillies ont permis le calcul des paramètres tels que la fertilité (exprimée par le taux de mise bas ou le taux de gestation), la mortinatalité ainsi que la mortalité en période d'allaitement, notamment au 21^{ème} jour de lactation (L21).

Les formules mathématiques utilisées sont les suivantes :

- **Taux de fertilité**

$$\text{Taux de mise bas} = \frac{\text{Nombre de femelles palpées positives}}{\text{Nombre de femelles saillies /inséminées}} \times 100$$

- **Taux de mortalité**

$$\text{Taux de mortinatalité} = \frac{\text{Nés totaux} - \text{Nés vivants}}{\text{Nés totaux}} \times 100$$

- **Mortalité naissances - J 21**

$$\text{Taux de mortalité naissance - J 21} = \frac{\text{Nés vivants} - \text{Nombre de lapereaux à J 21}}{\text{Nés vivants}} \times 100$$

1-1-3- Evaluation de la production laitière

L'évaluation de la production laitière comprend l'estimation de la production laitière (évaluation quantitative) ainsi que l'analyse biochimique des échantillons de lait collectés (évaluation qualitative).

1-1-3-1- Evaluation quantitative de la production laitière

L'évaluation quantitative de la production laitière a été réalisée suivant la méthode décrite par Lebas et Zerrouki (2011). La quantité de lait produit a été calculée par deux procédés : elle correspond à la différence de poids des femelles et de leurs portées respectives avant et après la tétée. Les collectes de lait ont été effectuées 4 fois par semaine pendant les 21 jours de lactation.

1-1-3-2- Evaluation qualitative de la production laitière

Les paramètres biochimiques (matière sèche, matière azotée totale et matière grasse) ont été évalués par des techniques biochimiques standards courantes sur des échantillons de lait prélevés manuellement (sans injections d'ocytocine) au nombre de 30 à 44 échantillons par type génétique et par cycle de reproduction. Chaque analyse a été réalisée 3 fois. Il est à signaler que les constantes physico-chimiques propres au lait de lapine ont été mesurées sur des échantillons de lait fraîchement collectés sur les deux types génétiques servant ainsi de références.

- **Organisation des collectes de lait**

La traite manuelle des femelles a été effectuée sans addition d'ocytocine et dans des conditions d'hygiène rigoureuses, nécessitant le nettoyage des mains entre chaque traite. Le lait a été collecté auprès de 10 lapines SS et 10 lapines PB, dans des tubes en plastique stérilisés et additionnés de thiomersal (0,005%) (antifongique et bactériostatique puissant). Les échantillons de lait ont ensuite été conservés à -20°C (**Figure 24**).



Figure 24 : Traite manuelle des lapines.

Les échantillons de lait congelés ont servi à des analyses biochimiques, plus précisément à l'évaluation des paramètres tels que la matière sèche (MS), le taux de matières azotées totales (MAT), la teneur en matière grasse (MG) et en protéines. Les jours consacrés à la traite n'ont jamais coïncidé avec les jours des pesées des lapines et de leurs portées respectives car cela pouvait fausser les résultats de l'évaluation quantitative de la production laitière. Afin de réaliser un tel protocole, une organisation *ad hoc* a été mise en place consistant à alterner les jours des traites avec les jours des pesées (**Figure 25**).

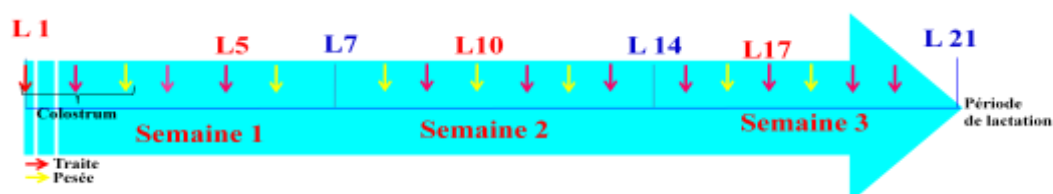


Figure 25 : Organisation des traites de lait et de l'évaluation de la production laitière au cours des trois semaines de lactation.

- **Analyses biochimiques du lait**

- **Dosage de la teneur en matière grasse par la méthode acido-butyrométrique dite de Gerber (Annexe 1)**

La manipulation consiste en une séparation de la matière grasse du lait par centrifugation dans un butyromètre et cela après destruction des éléments de ce dernier (excepté la matière grasse) par l'acide sulfurique. Cette séparation de la matière grasse est favorisée par l'addition de 1 mL d'alcool isoamylique par 10 mL de lait.

- **Dosage de la teneur en matière sèche (Annexe 2)**

On entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites ci-dessous : dessiccation par évaporation d'une quantité de lait et pesée du résidu. La différence entre la pesée initiale de la prise d'essai et de la pesée finale constitue la quantité d'eau contenue dans ce lait.

- **Dosage de la teneur en matière azotée totale par la méthode Kjeldhal (Annexe 3)**

Cette méthode comprend deux parties, la minéralisation et la distillation :

-Minéralisation d'une prise d'essai avec un mélange d'acide sulfurique concentré et de sulfate de potassium, en utilisant du sulfate de cuivre comme catalyseur pour convertir ainsi l'azote organique présent en sulfate d'ammonium, le sulfate de potassium permet d'élever le point d'ébullition de l'acide sulfurique et d'obtenir un mélange oxydant plus fort pour la minéralisation. L'addition d'hydroxyde de sodium excédentaire au minéralisât refroidi permet de libérer de l'ammoniac.

-Distillation : l'ammoniac libéré dans un excédent de solution d'acide borique est titré en utilisant de l'acide chlorhydrique.

La teneur en azote est calculée à partir de la quantité d'ammoniac produit.

- **Analyses physico-chimiques du lait**

Les données bibliographiques actuelles ne font pas mention des constantes physicochimiques propres au lait de lapines. Il s'agit notamment du pH, la densité, l'acidité Dornic...etc. L'évaluation des paramètres physicochimiques sur des échantillons de lait fraîchement collectés permet de fixer des repères en termes de conservation des échantillons. En effet, les échantillons de lait peuvent subir une dégradation de leurs composés biochimiques en rapport avec une acidification qui peut survenir soit à une mauvaise conservation ou à la manipulation

répétée de l'échantillon lui-même. Cette acidification est à l'origine des processus de protéolyse et de lipolyse qui causent la détérioration partielle ou totale de l'échantillon.

Dans un la détérioration partielle de l'échantillon, il est difficile de déceler cette dernière. Il est donc primordial de vérifier l'intégrité de l'échantillon en mesurant son pH par exemple et en se référant aux constantes physicochimiques préalablement mises en place.

▪ **Le pH**

Les mesures de pH effectuées sur les échantillons, sont basées sur une méthode potentiométrique dont le principe repose sur une mesure de la différence de potentiel entre une électrode dite de mesure et une de référence. Avant d'entreprendre les mesures, l'électrode du pH-mètre est nettoyée avec de l'eau de robinet puis rincée à l'eau distillée et séché. Le pHmètre est étalonné avec des solutions tampon de pH 1, 4 et 9 avant de procéder à la manipulation. La mesure se fait par immersion du bout de l'électrode dans le lait jusqu'à stabilisation de la valeur du pH qui s'affiche sur l'écran. Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode doit être à nouveau nettoyée et rincée.

▪ **Acidité Dornic (Annexe 4)**

L'acidité Dornic est la résultante de l'acidité naturelle du lait liée à sa richesse en protéines et minéraux à laquelle vient s'ajouter l'acidité développée grâce à l'action des ferments lactiques qui transforment le lactose du lait en acide lactique. L'acidité Dornic est un indicateur du degré de conservation du lait. Naturellement le lactose contenu dans le lait se dégrade progressivement en acide lactique par les bactéries. La quantité d'acide lactique contenue dans un échantillon de lait est inversement proportionnelle à la fraîcheur du lait.

▪ **Densité**

Le paramètre densité est en rapport direct avec la richesse de l'échantillon de lait en matière grasse et en extrait sec.

La mesure de la densité des différents échantillons s'est faite via le calcul de la masse volumique de ces derniers. La mesure a été effectuée à l'aide d'un pycnomètre (**Figure 26**).



Figure 26 : Pycnomètre.

Lorsqu'on ajuste le bouchon sur la fiole, l'excès du liquide s'échappe par l'extrémité supérieure du tube. Dans la mesure où le tube est très fin, le volume du liquide est déterminé avec une grande précision. La contenance du pycnomètre est connue (5 mL), il suffit de peser le flacon avant et après le remplissage pour calculer la masse volumique du contenu. Le remplissage du pycnomètre avec de l'eau distillée donne après calcul, la masse volumique de l'eau. En second lieu, le remplissage du pycnomètre avec du lait cru donne après calcul, la masse volumique du lait. Le rapport entre les deux mesures (2 masses volumiques) obtenu correspond à la densité du lait en question.

1-1-4-Variables calculées et analysées

Les paramètres mesurés dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS) sont les suivants :

- Mortalité des lapereaux de la naissance au 21^{ème} jour sur 5 années
- Quantité de lait produite (g) estimée à partir de la différence de poids des portées avant et après tétée
- Composition biochimique du lait (g/100g de lait trait).

1-1-5-Effets considérés

Les effets considérés au cours de cette expérimentation sont:

- Effets stade de lactation sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétique PB et SS (2 niveaux).
- Effets de la saison sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétique PB et SS (2 niveaux).
- Effets de la saison et du stade de lactation sur la production laitière (quantité et qualité) dans les deux types génétique PB et SS (2 niveaux).

- Interaction entre la production laitière (quantité et qualité) et la mortalité des lapereaux des deux types génétique PB et SS (2 niveaux).

1-1-6-Analyses statistiques

L'ensemble des variables a été soumis à une analyse de variance avec le logiciel R. Pour l'analyse des données de la mortalité de la quantité de lait produit et la composition biochimique du lait, des modèles linéaires mixtes ont été utilisés avec le package « nlme ».

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de tableaux et de graphes. Les présentations graphiques sont réalisées à l'aide de Microsoft Excel 2013.

Les significations statistiques sont notées :

- ns : non significatif;
- * : significatif au seuil de 5 p100;
- ** : significatif au seuil de 1 p 100 ;
- *** : significatif au seuil de 1 p mille.

Lorsque l'effet est globalement significatif, les moyennes sont comparées 2 à 2 par le test de Student ou le test non paramétrique de Mann-Whitney lorsque les effectifs sont inférieurs à 10 individus. Les moyennes significativement différentes au seuil de 5% sont suivies de lettres différentes (a, ab, b, c, ...).

1-2-Résultats

1-2-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en rapport avec la production laitière des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS)

Les résultats présentés portent sur deux volets, ils concernent d'une part l'étude de la mortalité des lapereaux sous la mère sur plusieurs années et dans différentes conditions d'élevage. D'autre part, ils ciblent l'étude de la production laitière (quantité et qualité) en rapport avec les variations saisonnières et le stade de lactation.

1-2-1-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère

La mortalité a été évaluée sur 5 années à différentes saisons à différents stades de lactation sur deux types génétiques de lapine PB et SS.

▪ *Mortalité à la naissance*

La mortalité à la naissance, également désignée par le terme mortinatalité, est un critère de

reproduction permettant l'évaluation des performances de reproduction des lapines. Ainsi, la mortinatalité moyenne enregistrée sur les portées PB est plus importante ($P < 0,001$) que celle enregistrée au niveau des portées SS avec un écart de 5,24% (**Tableau 19**).

Tableau 19 : Effectifs de toute la période (2013 à 2017).

Effectifs	PB	Poids moyen (g)	SS	Poids moyen (g)
Lapines (moyenne)	82 ± 4	3 255 ± 5,33	108 ± 6	4 098 ± 7,43
Mises bas (total) (moyenne)	317	350 ± 2,13	429	450 ± 5,23
Lapereaux/MB (moyenne) NT	7,3 ± 0,1	50 ± 0,45	9,0 ± 1,6	51 ± 1,03
Lapereaux/MB (moyenne) NV	6,78 ± 0,33	-	8,76 ± 0,56	-
Lapereaux nés (total) (moyenne)	2 994 ± 12	-	4 849 ± 10	-
Lapereaux nés vivants (total) (moyenne)	2 770 ± 9	-	4 739 ± 7	-
% Mortinatalité (moyenne)	7,48 ± 0,22	-	2,24 ± 0,01	-

MB : mise bas ; NT : Nés Totaux ; NV : Nés Vivants

Le mode et le rythme de reproduction semblent avoir un effet important sur la viabilité des lapereaux recensée à la naissance, dans les deux types génétiques de lapines. En effet, un taux de mortinatalité avoisinant les 10,50 % et 3 % a été enregistré respectivement dans les portées PB et SS, avec des mères conduites en reproduction suivant un rythme semi-intensif et mises en reproduction par saillie naturelle. En revanche, une baisse hautement significative de ces taux ($P < 0,001$) est observée lorsque les lapines sont soumises à un rythme de reproduction extensif et sous insémination artificielle (**Tableau 20**).

Tableau 20: Rythmes de reproduction et effectifs par année.

	2013		2014		2015		2016		2017	
Mode de reproduction	Semi-intensif		Semi-intensif		Semi-int. et extensif		Extensif		Extensif	
Types génétiques	PB	SS	PB	SS	PB	SS	PB	SS	PB	SS
Effectif lapines	80	120	77	110	75	95	90	100	88	115
Mises bas (Total)	400	600	385	550	375	475	450	500	440	575
Lapereaux/MB	7,5	8,2	6,9	9	7,5	10	8,1	8,9	6,5	9
Lapereaux nés	3 000	4 920	2 656,5	4 950	2 813	4 750	3 645	4 450	2 860	5 175
Nés vivants	2 700	4 743	2 342	4 800	2 566	4 656	3 500	4 399	2 744	5 099
% Mortinatalité	10,00	3,60	11,84	3,03	6,76	1,98	3,98	1,15	4,06	1,47

MB : mise bas

▪ **Mortalité des lapereaux en période d'allaitement (21 jours) en fonction des années**

Durant les 5 années qu'a duré cette étude, les taux de mortalités des lapereaux les plus importants ont été enregistrés chez les lapines de la population blanche (**Figure 27**).

Avec l'adoption de la technique de l'insémination artificielle (IA) et du rythme extensif (une IA tous les 2 à 2,5 mois) en 2015, une baisse de la mortalité a été observée. Cette baisse est très hautement significative ($P < 0,0001$) notamment au cours de l'année 2015 par rapport au début de l'expérimentation en 2013.

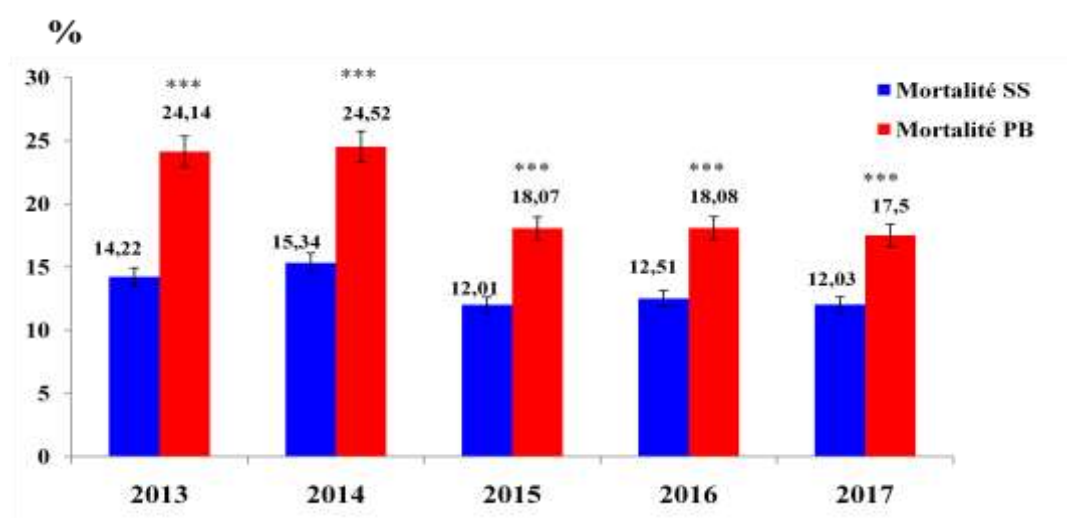


Figure 27 : Evaluation du taux de mortalité des lapereaux entre 0 et 21 jours chez les lapines de la population (PB) et de la souche synthétique (SS) entre 2013 et 2017.

➤ **Le mode et le rythme de reproduction ont ainsi un effet important sur la viabilité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques de lapines.**

▪ **Mortalité des lapereaux en période d'allaitement (21 jours) en fonction des saisons**

Les taux de mortalité les plus importants ont été observés chez les lapines PB et ce, quelle que soit la saison de l'enregistrement. Lorsque les deux types génétiques de lapines ont été pris en compte, une variation très hautement significative du taux de mortalité ($P < 0,0001$) a été observée en fonction des saisons.

Avec des écarts de mortalité entre 11,8% (SS) et 16,6% (PB) entre les saisons estivale et hivernale, les plus forts taux de mortalité ont été enregistrés au cours de l'été (**Figure 28**).

Taux de mortalité %

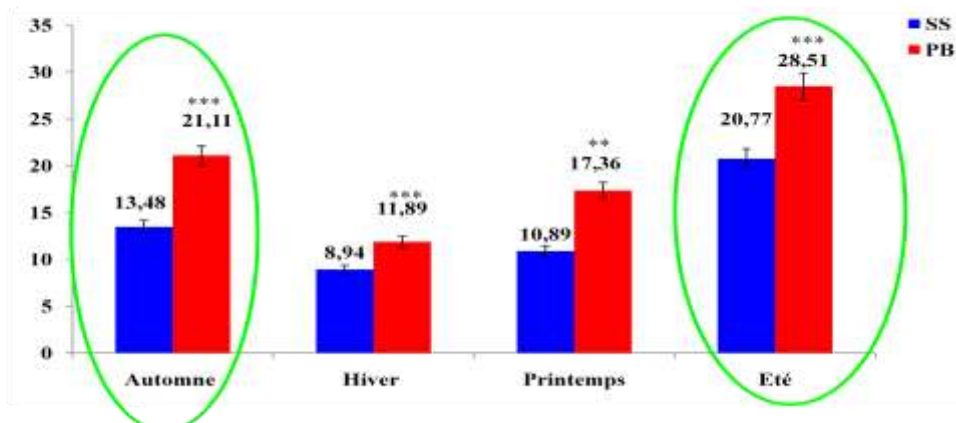


Figure 28 : Evaluation de la mortalité des lapereaux sous la mère en fonction des saisons dans les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS). (Effectifs des lapereaux nés vivants PB = 1 352, 1 419, 1 827, 445 et SS = 2 804, 2 642, 2 317, et 2 047 en automne, en hiver, au printemps et en été).

➤ **Les variations saisonnières ont ainsi un effet important sur la viabilité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques de lapines PB et SS.**

▪ **Mortalité des lapereaux en fonction du stade de lactation**

Au cours de la période péri-mise bas, notamment la période colostrale, de forts taux de mortalité ont été observés dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS). Avec une perte moyenne de 4 lapereaux/portée, les lapines PB présentent un fort taux de mortalité par rapport aux lapines SS qui présentent une mortalité moyenne de 2 lapereaux/portée. La seconde et troisième semaines de lactation sont caractérisées par une stabilité des effectifs au sein des portées SS. En revanche, un léger déclin des effectifs a été noté dans les portées PB avec une perte moyenne de 2 lapereaux /portée vers la fin de la seconde semaine de lactation (Figure 29).

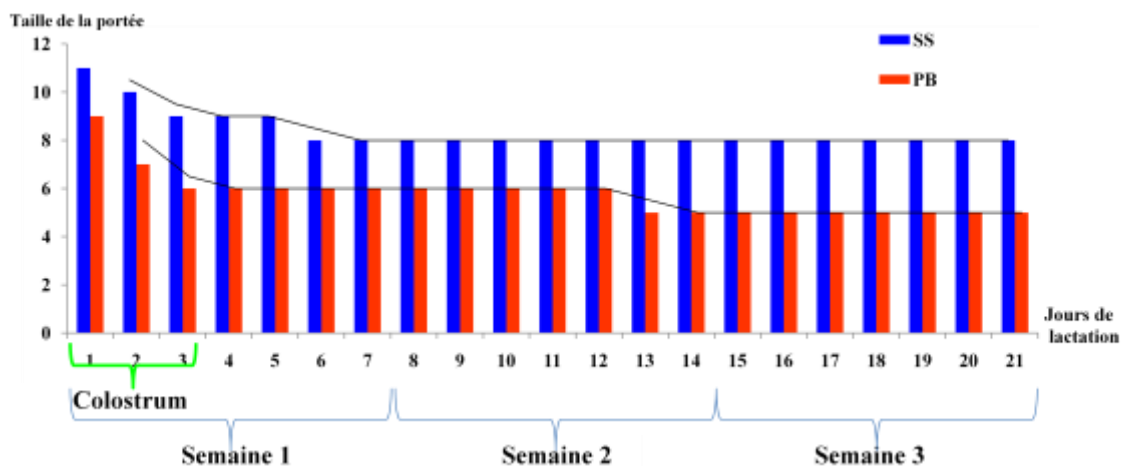


Figure 29 : Evaluation de la taille de portée au cours de la lactation chez les lapines PB et SS.

- **Le taux de mortalité le plus élevé dans les deux types génétiques est observé au cours de la période colostrale.**

1-2-2-Evaluation de la production laitière

La production laitière a été évaluée dans les deux types génétiques de lapines. Elle concerne en premier lieu la quantité de lait produit et en second lieu, elle s'intéresse à la composition biochimique du lait et son évolution en fonction du stade de lactation et à travers les saisons.

1-2-2-1- Evaluation quantitative de la production laitière

▪ *Quantité de lait produit*

Dans un premier temps, la quantité de lait produit a été évaluée pendant 4 phases d'allaitement au cours de la saison estivale en raison des forts taux de mortalité observés. La durée de la lactation considérée a été de 3 semaines après la mise bas, soit à 21 jours de lactation. Les résultats enregistrés suggèrent que dans les deux types génétiques de lapines la production laitière augmente progressivement à partir du stade colostrale jusqu'à la fin de la lactation. Cependant, les lapines SS produisent plus de lait par rapport aux lapines PB au cours de la période estivale avec une moyenne de $2\,800 \pm 10$ g contre $2\,320 \pm 11$ g (**Figure 30**).

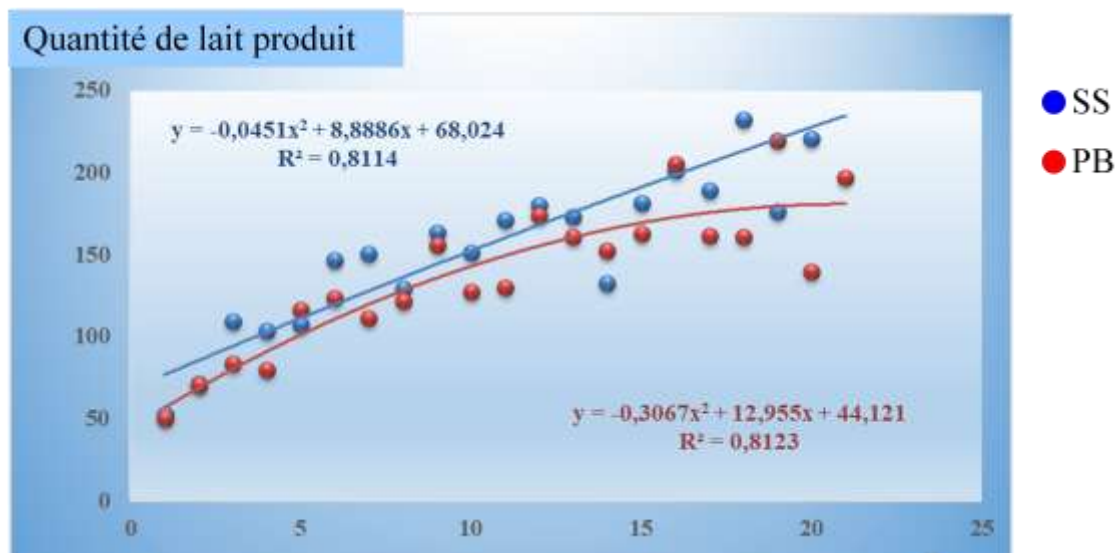


Figure 30 : Evolution comparée de la quantité de lait produit chez les deux types génétiques de lapines la population blanche et la souche synthétique (PB et SS).

▪ **Quantité de lait produit en fonction des saisons**

La quantité de lait produit pendant la lactation a été mesurée à différentes saisons parallèlement à l'évaluation des taux de mortalité dans les deux types génétiques de lapines. La durée de lactation était de 21 jours pour l'ensemble des lapines.

Les lapines SS ont produit plus de lait que les lapines PB au cours des 4 saisons avec des écarts plus marqués entre les périodes estivale et automnale d'une part et, hivernale et printanière, d'autre part. En effet, dans les deux types génétiques de lapines, la quantité de lait produit était plus importante en hiver et au printemps par rapport à celles mesurées en été et à l'automne. De ce fait, les variations saisonnières ont un effet très hautement significatif ($P < 0,0001$) sur la quantité de lait produit (**Figure 31**).

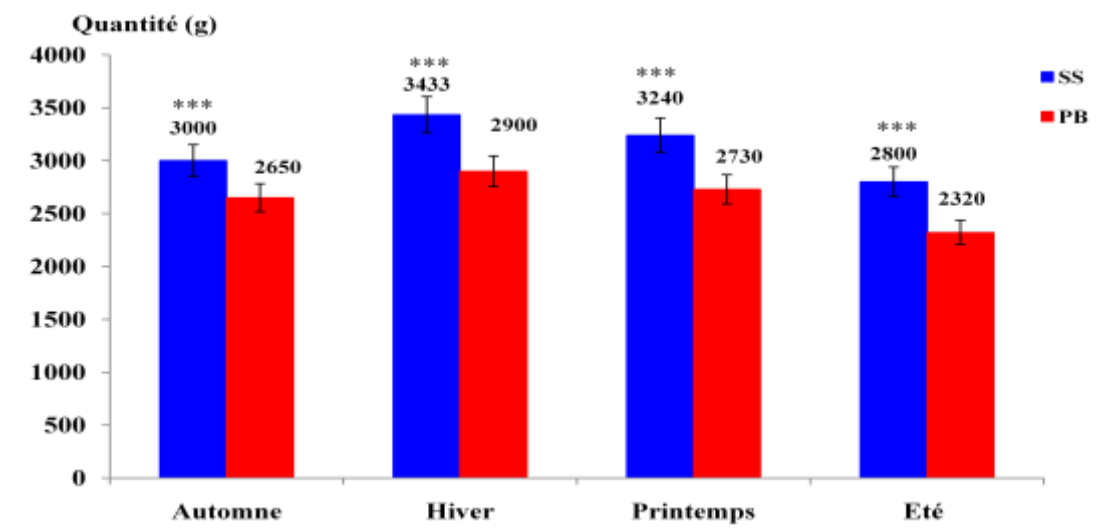


Figure 31 : Evaluation de la quantité moyenne de lait produit chez les lapines PB et SS en fonction des saisons.

➤ **Les variations saisonnières ont un effet significatif ($P < 0,0001$) sur la production laitière.**

▪ **Quantité de lait produit en fonction du stade de lactation**

La quantité de lait produit dans les deux types génétiques de lapines augmente progressivement à partir du stade colostré jusqu'à la troisième semaine de lactation (**Figure 32**).

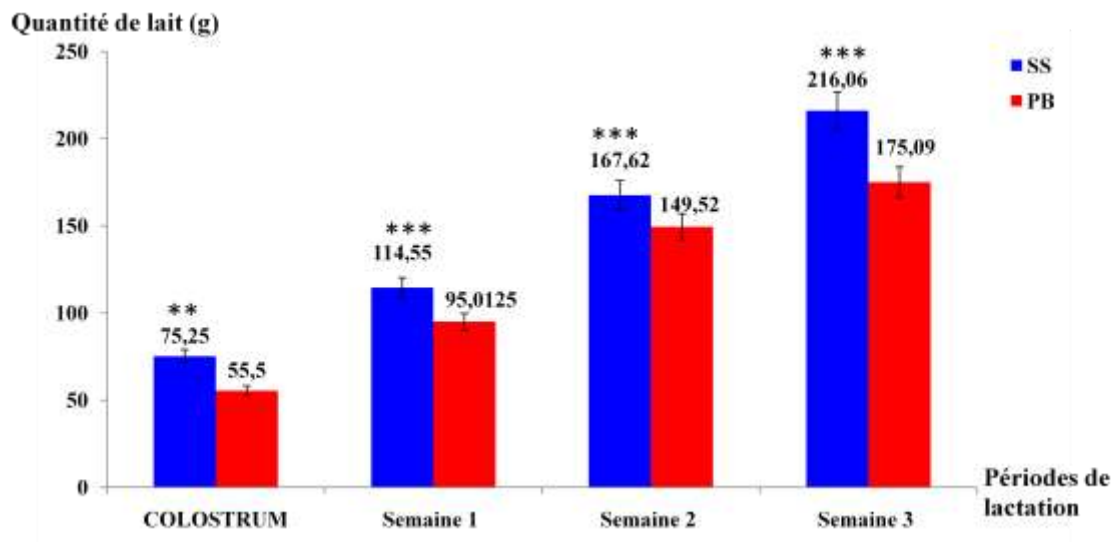


Figure 32 : Evaluation de la quantité de lait moyenne produit en fonction du stade de lactation chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

- **Effet stade de lactation :** Le stade de lactation influence ($P < 0,0001$) la production laitière aussi bien chez les PB que chez les SS.
- **Effet type génétique :** Le type génétique a un effet hautement significatif ($P < 0,0001$) sur la production laitière.
- **L'interaction entre les deux effets (type génétique et stade de lactation) est hautement significative** ($P < 0,0001$) sur la production laitière.

La production laitière a été également mesurée à différents stades de lactation, à différentes saisons et dans les deux types génétiques de lapines PB et SS. Les résultats observés sont représentés au niveau de la **Figure 33** et indiquent que :

- La production laitière est progressive au cours des quatre saisons.
- Les lapines SS produisent plus de lait que les lapines PB au cours des 4 saisons.
- L'interaction entre les effets type génétique, stade de lactation et variations saisonnières significative ($P < 0,0001$) et a un effet significatif sur la quantité de lait produit.

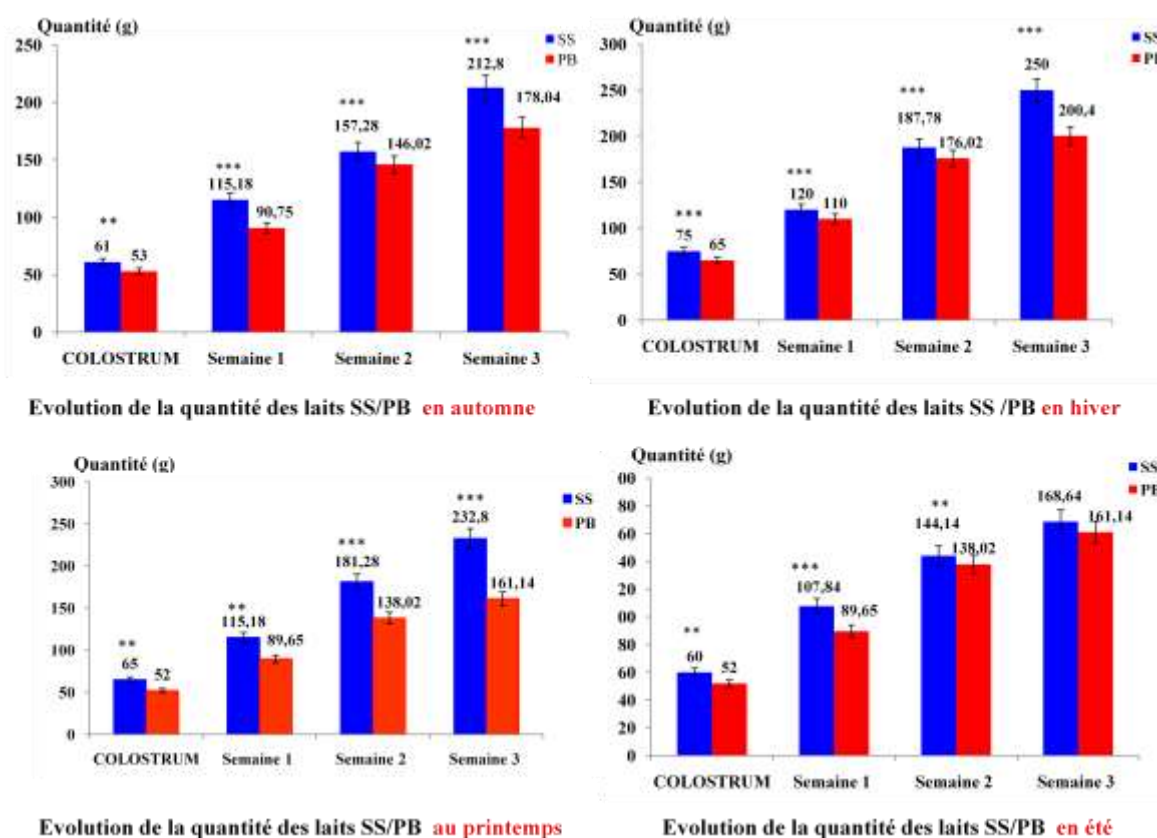


Figure 33 : Evaluation de la quantité de lait en fonction du stade de lactation et des saisons chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

1-2-2-2-Evaluation qualitative de la production laitière

▪ Identification des paramètres physicochimiques du lait de lapines

La détermination des constantes physicochimiques des échantillons de lait de lapines fraîchement collectés sur les deux types génétiques PB et SS est indispensable à la suite des analyses biochimiques du lait.

Ces constantes ainsi fixées peuvent nous renseigner sur l'état de conservation des échantillons de lait avant de procéder à leur analyse biochimique garantissant ainsi la fiabilité des résultats enregistrés. Les paramètres en question sont le pH, la densité et l'acidité Dornic (**Figure 34**).

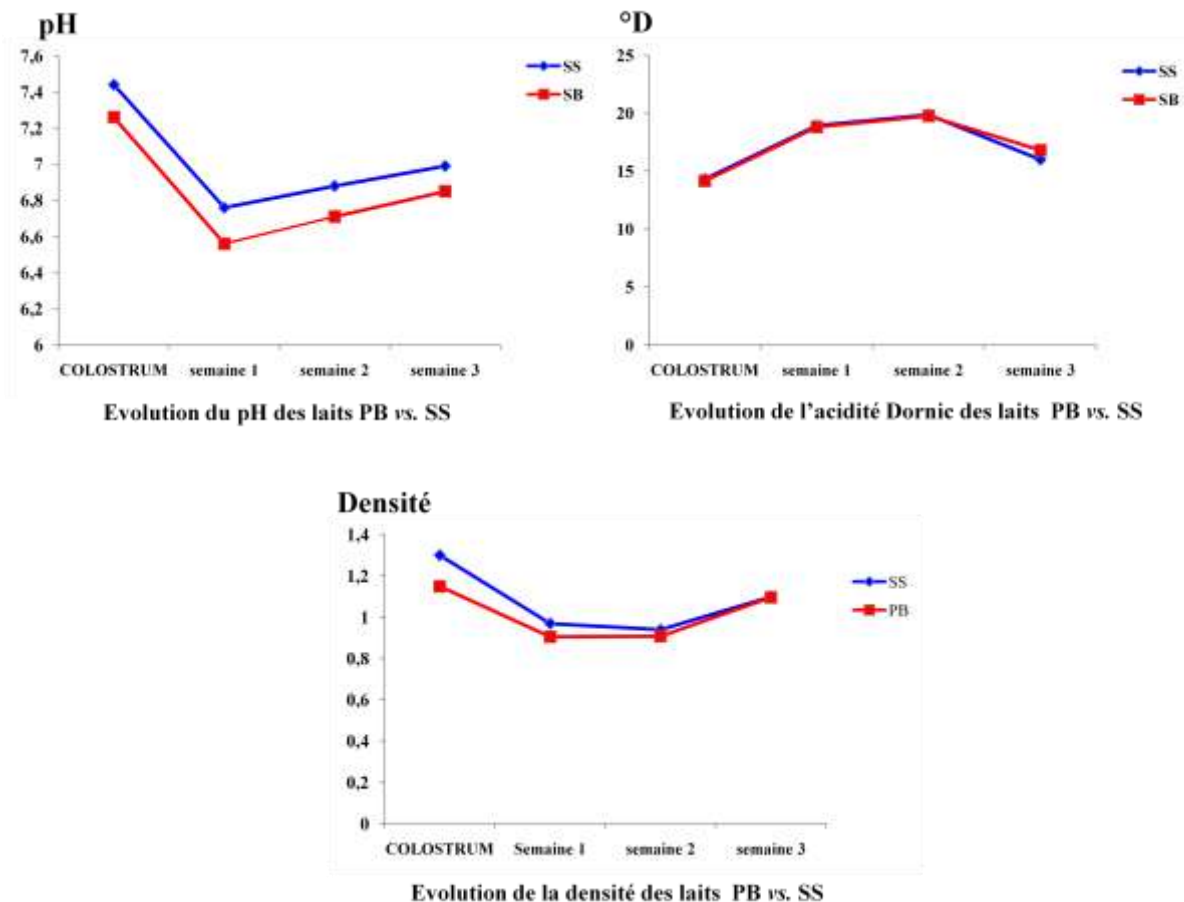


Figure 34 : Evolution des paramètres physicochimiques mesurés sur les laits PB et SS collectés à différents stades de lactation.

Les échantillons de laits PB et SS présentent respectivement un pH moyen de $6,84 \pm 0,78$ et $7,01 \pm 0,97$ ces pH sont légèrement plus élevés par rapport aux pH mesurés sur des laits bovin et caprin ($6,70 \pm 0,10$ et $6,50 \pm 0,20$).

Des variations du pH sont notées au sein des laits PB et SS, avec un des valeurs élevées au stade colostral (PB : 7,26 et SS : 7,44). Aux stades première et seconde semaine de lactation, le pH chute pour connaître une augmentation au cours de la dernière semaine de lactation.

L'acidité Dornic mesurées sur les différents échantillons de lait indique une moyenne de $17,40 \pm 0,65^{\circ}\text{D}$ dans le lait PB et une moyenne de $17,30 \pm 0,22^{\circ}\text{D}$ dans le lait SS.

Ces résultats sont plus élevés par rapport à l'acidité Dornic mesurée sur les laits bovin et caprin ($14^{\circ}\text{D} - 16^{\circ}\text{D}$ et $12^{\circ}\text{D} - 16^{\circ}\text{D}$).

Des variations de l'acidité Dornic sont notées dans les laits PB et SS au cours des différents stades de lactation.

En effet, l'acidité Dornic augmente progressivement du stade colostral jusqu'à la première semaine de lactation, connaît une stabilité au cours de la seconde semaine et chute vers la fin

de la lactation.

Les laits PB présente une densité moyenne de $1,014345 \pm 0,0003$ alors que le lait SS présente une densité moyenne de $1,07724 \pm 0,00023$.

Ces résultats semblent indiquer que les laits de lapine PB et SS sont plus dense que les bovins et caprin dont les densités respectives sont de l'ordre de 1,028 - 1,033 et 1,0260 - 1,0420.

- **Le lait de lapine présente des constantes physico-chimiques spécifiques variant au cours des différents stades de lactation. Ces constantes sont différentes de celles des laits bovin et caprin.**
- **Les constantes physico-chimiques ainsi fixées pour le lait de lapine à différents stades de lactation, nous permet de vérifier l'état de conservation de chaque échantillon de lait avant de procéder à son analyse biochimique.**

▪ **Composition biochimique du lait en fonction des saisons**

La composition biochimique du lait produit a été évaluée à différentes saisons dans les deux types génétiques de lapines. Les lapines SS ont produit un lait plus riche en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et matière grasse (MG) que les lapines PB au cours des 4 saisons avec des écarts plus marqués entre les périodes estivale, automnale et hivernale, printanière.

En effet, la composition des laits a varié significativement ($P < 0,0001$) en fonction des saisons : les laits étaient plus riches au cours des saisons hivernale et printanière (**Figure 35**).

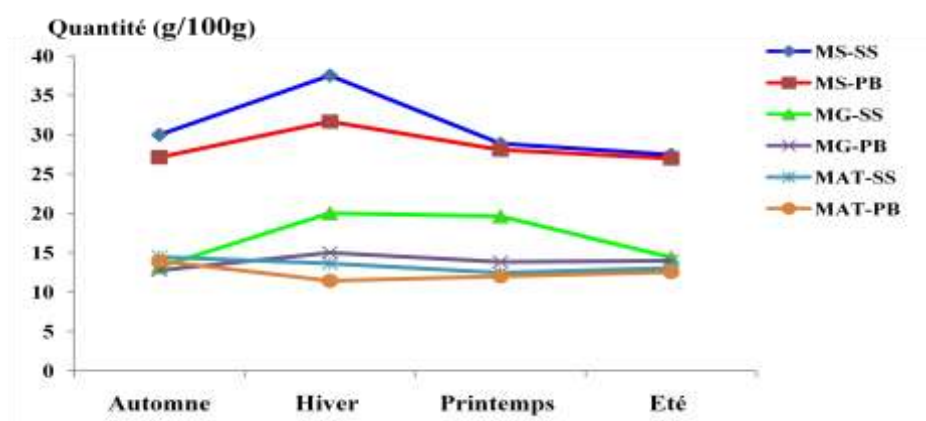


Figure 35 : Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et matière grasse (MG) des laits en fonction des saisons dans les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) saisons (n = 12, 12, 12 et 12 lactations en automne, en hiver, au printemps et en été pour PB et SS).

Pour résumer :

- Il existe une interaction très significative ($P < 0,001$) des deux effets (saison et origine génétique du lait) sur la composition des laits.
- La composition des laits varie hautement ($P < 0,0001$) en fonction des saisons : les laits sont plus riches au cours des saisons hivernale et printanière.

▪ *Composition biochimique du lait en fonction du stade de lactation*

La composition des laits PB et SS varie significativement ($P < 0,0001$) en fonction du stade de lactation. En effet, les laits collectés au stade **colostral** sont très riches en MS, MG et MAT. Une baisse significative ($P < 0,0001$) des taux est observée au cours des première et seconde semaines de lactation. Une augmentation sensible en matières utiles est observée vers la troisième semaine de lactation (**Figure 36**).

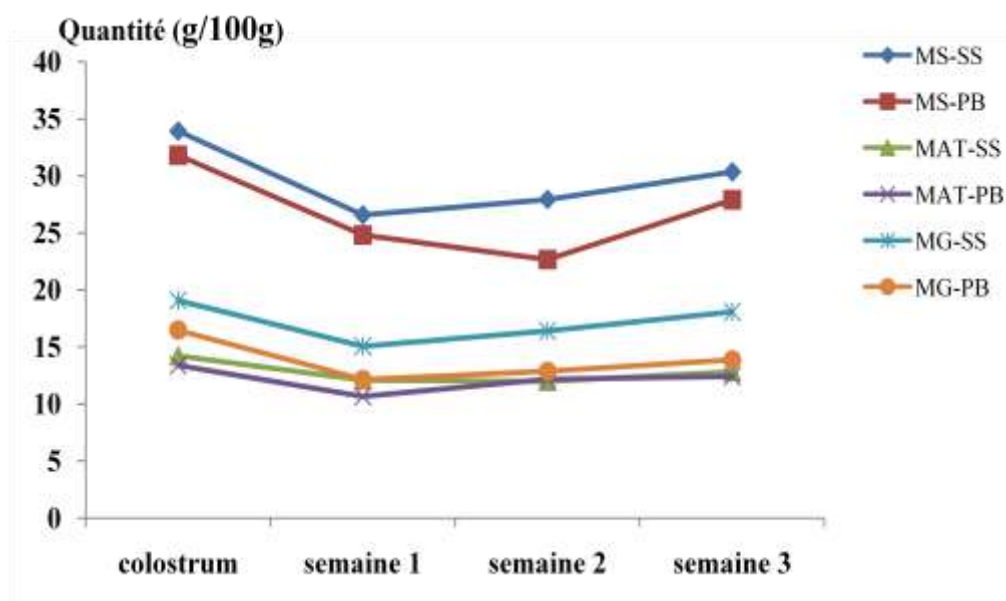


Figure 36 : Evaluation des teneurs en matière sèche (MS), matière azotée totale (MAT) et matière grasse (MG) des laits en fonction du stade de lactation les deux types génétiques de lapines la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS).

La biochimie du lait a également été analysée à différents stades de lactation, à différentes saisons et dans les deux types génétiques de lapines. Les résultats observés sont représentés au niveau des **Figures 37 et 38**.

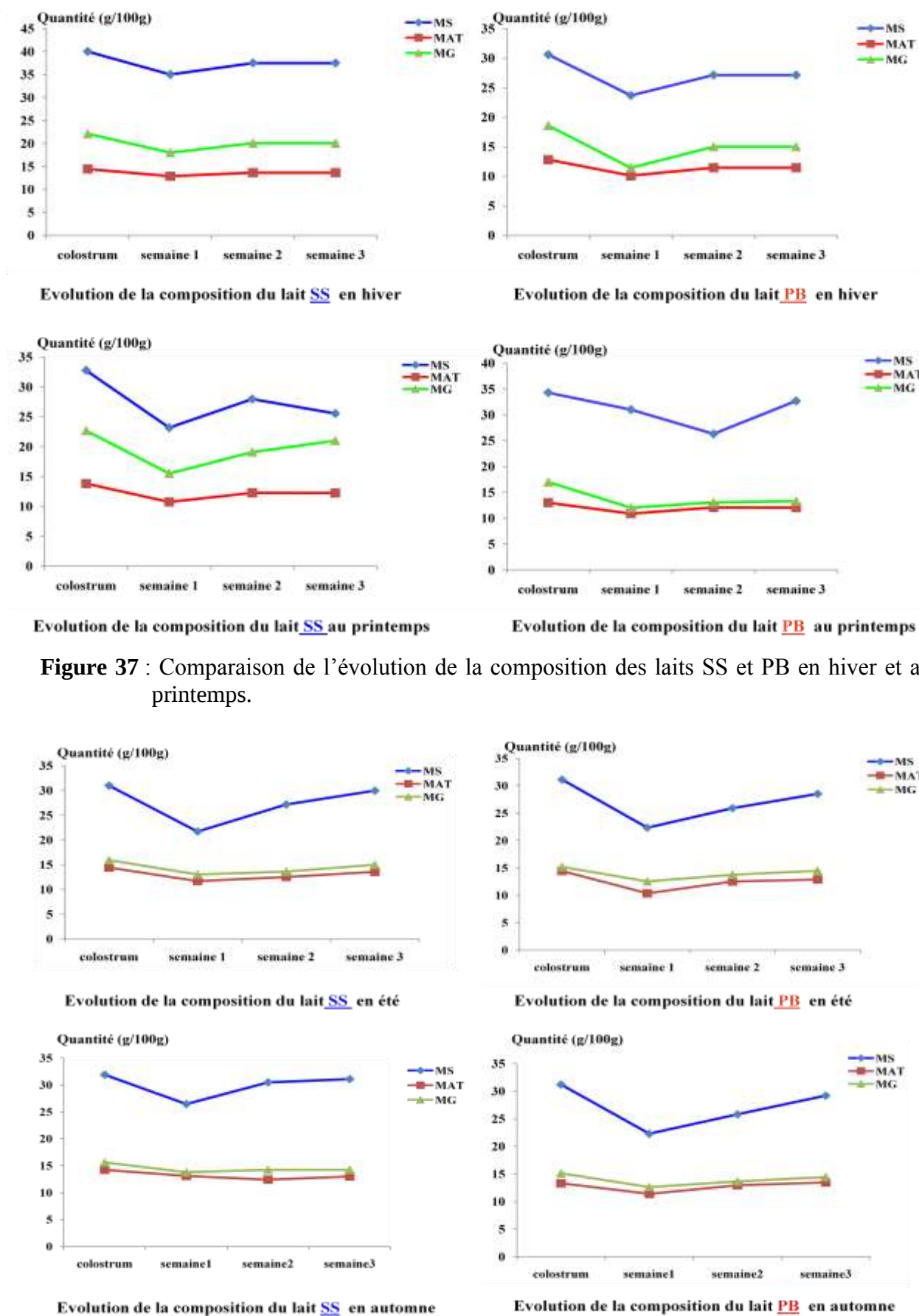


Figure 38 : Comparaison de l'évolution de la composition des laits SS et PB en été et en automne.

Ces résultats indiquent que la progression de la composition biochimique des laits PB et SS varie significativement ($P < 0,0001$) en fonction du stade de lactation et suit la même trajectoire au cours des quatre saisons à savoir, les laits sont très riches (MS, MG et MAT) au stade colostral. Une baisse est observée au cours des première et seconde semaines de lactation. L'augmentation des taux est également observée durant la troisième semaine d'allaitement.

- **La composition biochimique du lait de lapines varie en fonction du stade de lactation et des saisons.**
- **Les lapines SS produisent un lait plus riche par rapport à celui produit par les lapines PB au cours des 4 saisons et à chaque stade de lactation.**
- **L'interaction entre les effets type génétique, stade de lactation et variations saisonnières est significative ($P < 0,0001$), ce qui se traduit par un effet sur la composition biochimique du lait.**

Les variations saisonnières et le stade de lactation semblent avoir des effets significatifs ($P < 0,0001$) à la fois sur la qualité, quantité de lait produit et sur la mortalité des lapereaux. Aussi, les expérimentations menées sur plusieurs années à travers différentes saisons, sur les deux types génétiques de lapines ont révélé une nette supériorité des lapines SS en termes de productivité ($9 \pm 1,6$ lapereaux SS contre $7,3 \pm 0,1$ lapereaux PB) et de production laitière ($3\,118 \pm 20$ g contre $2\,750 \pm 17$ g) (**Tableau 21**).

Tableau 21 : Performances de reproduction et de production laitière des lapines PB et SS en rapport avec le taux de mortalité enregistrés sur 5 années d'investigations.

	Population blanche (PB)	Souche synthétique (SS)
Effectif (portées)	2 050	2 700
Production laitière (g)	$2\,750 \pm 17$	$3\,118 \pm 20$ ***
Durée de lactation (jours)	21	21
% Mortalité des lapereaux entre 0 et 21 jours	$19,7 \pm 1,6$ ***	$13,5 \pm 0,4$

(*** $P < 0,05$)

Pour résumer :

- **Les taux de mortalité les plus importants sont notés en périodes estivale et automnale.**
- **Les taux de mortalité les plus élevés sont notés au cours de la période colostrale.**

- **La quantité et qualité du lait varient en fonction du stade lactation du type génétique et de la saison. Il existe une corrélation entre l'origine génétique du lait, le stade de lactation, les variations saisonnières et la mortalité des lapereaux.**

1-3-Discussion

Sur les cinq années d'investigation, on enregistre le plus fort taux de mortalité 0 à 21 jours chez les lapereaux PB ($19,7 \pm 1,6$ vs. $13,5 \pm 0,4$ pour les SS). L'introduction de l'insémination artificielle comme mode de reproduction et l'adoption du rythme extensif (IA 25 jours après mise bas) semblent avoir réduit significativement la mortalité dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS). Avec ce mode de reproduction, la fertilité de ces lapines, a connu une sensible amélioration.

Le mode de reproduction traditionnel additionné d'un rythme de reproduction semi-intensif (saillie à 10 jours après la mise bas) implique un chevauchement des deux états physiologiques que sont la gestation et la lactation. En revanche, le nouveau mode de reproduction adopté implique une insémination artificielle (IA) suivie par un rythme extensif (IA 25 jours après mise bas) ce qui permet une séparation des deux états physiologiques (**Tableau 22**).

Tableau 22 : Evolution des taux de mortalité des lapereaux et de la fertilité des lapines de la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) en fonction du mode de reproduction.

Années	Mode de reproduction	Rythme de reproduction	% Mortalité			% Fertilité		
			SS	PB	<i>p</i>	SS	PB	<i>p</i>
2013	SN	Semi-intensif	$14,2 \pm 1,2^a$	$24,1 \pm 1,1^b$	<0,001	$76,7 \pm 3,2^a$	$68,4 \pm 1,3^b$	<0,01
2014	SN	Semi-intensif	$15,3 \pm 2,0^a$	$24,5 \pm 2,4^b$	<0,001	$78,0 \pm 3,0^a$	$66,2 \pm 2,0^b$	<0,001
2015	SN + IA	Semi-intensif Extensif	$12,0 \pm 1,0^a$	$18,0 \pm 1,5^b$	<0,001	$97,2 \pm 3,4^a$	$75,4 \pm 2,0^b$	<0,001
2016	IA	Extensif	$12,5 \pm 0,9^a$	$18,1 \pm 2,2^b$	<0,001	$96,4 \pm 1,8^a$	$80,3 \pm 2,3^b$	<0,001
2017	IA	Extensif	$12,0 \pm 0,6^a$	$17,5 \pm 2,3^b$	<0,001	$90,1 \pm 1,3^a$	$85,4 \pm 3,4^b$	<0,001

*Les chiffres suivis d'indices différents (*a*, *b*) sont différents ($p < 0,05$).

SN : Saillie Naturelle, IA : Insémination artificielle.

Les changements au cours des années concernant les performances de reproduction aussi bien chez les lapines PB et SS pourraient être ainsi expliqués.

Ces résultats, rejoignent ceux rapportés par Fortun-Lamoth et Bolet 1995. Ils soulignent que la lactation a un effet négatif sur le pourcentage de femelles ovulant, le taux de gestation, et la viabilité fœtale.

L'hyperprolactinémie et la faible progesteronémie chez les lapines simultanément gravides et allaitantes, ainsi que le déficit nutritionnel engendré par la production laitière, semblent être les principaux facteurs responsables des effets observés.

Cette étude a révélé une corrélation entre les effets saison, stade de lactation et la mortalité des lapereaux en période d'allaitement. En effet, les plus forts taux de mortalité ont été observés chez les lapines de la population PB en été et en automne et plus précisément au cours de la période colostrale (**Figure 39**).

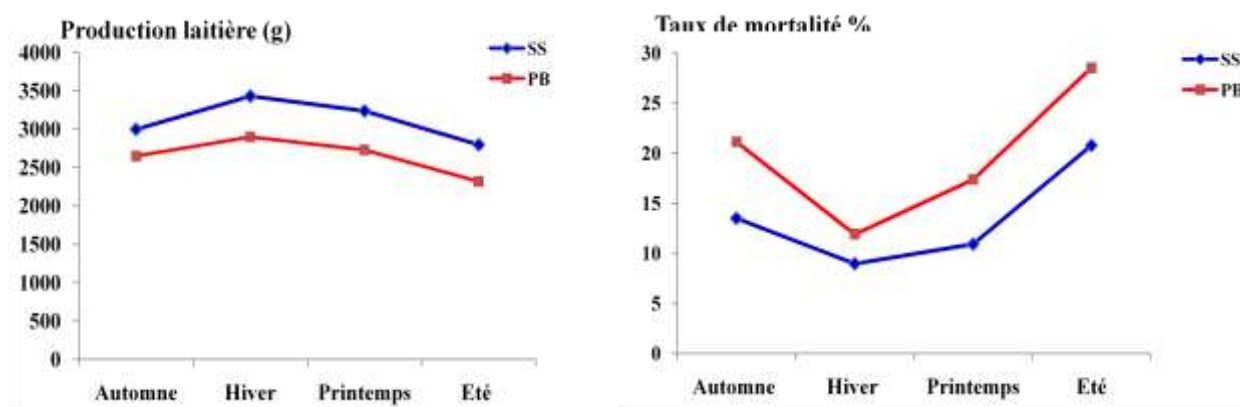


Figure 39 : Variations saisonnières de la quantité de lait produit par les lapines PB et SS comparées à la variation saisonnière de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement.

Ces données concordent avec les résultats enregistrés sur la population de lapines locales par Zerrouki *et al.*, (2003) qui associent l'effet saison à la mortalité des lapereaux en période d'allaitement particulièrement marqué au cours de la période automnale. Pour Abdelli (2016), la saison de mise bas influe sur la viabilité des lapereaux et la saison printanière reste la plus favorable. Il est à signaler que l'effet saison s'observe différemment en fonction des climats. En effet, sous un climat tropical, la saison des fortes pluies, correspond aux taux de mortalité les plus importants par rapport aux saisons les plus sèches (Kpodekon *et al.*, 2006).

L'évaluation de la production laitière (aspect quantitatif) chez les deux types génétiques de lapines indique une influence significative des variations saisonnières et du stade de lactation sur la quantité de lait produit. En effet, la production laitière est progressive : elle est plus importante chez les lapines SS quelle que soit la saison considérée ainsi que le stade d'allaitement. Les plus faibles productions lactières ont été observées en été et en automne rejoignant ainsi les plus forts taux de mortalité des lapereaux. Ces résultats ont également été

rapportés par Zerrouki *et al.*, (2005), Hassan (2005) et Fajemilehin *et al.*, (2013) qui soutiennent que la production laitière présente une évolution progressive du début jusqu'à la fin de la période d'allaitement avec un pic de lactation vers le 18^{ème} jour. La production laitière augmente fortement jusqu'au pic de lactation, puis elle diminue progressivement.

Une variation de la quantité de lait produit en rapport avec les changements saisonniers (température ambiante) a été largement étudiée. En effet, Maertens *et al.*, (1994, 2005, 2006a, 2006b) ont montré qu'une température ambiante supérieure à 30°C est néfaste pour la production laitière des lapines qui diminue de 9 %. Szendrö *et al.*, (1999) ont observé que la production laitière totale diminue de 29 % lorsque la température varie entre 23°C et 30°C. Ce fait serait lié aux grandes difficultés d'adaptation de l'espèce cunicole aux fortes températures, notamment celles enregistrées en périodes estivale et automnale. Les aptitudes de reproduction et de production laitière se trouvent ainsi réduites (Rouvier, 1990 ; Lebas, *et al.*, 1991).

En effet, Matheron (1982) a constaté qu'à des températures supérieures à 30°C en France, moins élevées qu'en Algérie, le taux d'ovulation était réduit de 5%. Ici les différences de production laitière ont été en moyenne de 22% (SS) et 25% (PB) de plus en hiver qu'en été. De plus, Arveux (1988), affirme que les fortes chaleurs sont en partie à l'origine de la diminution de la fertilité et de la prolificité. Lebas (1987), explique cet effet par la diminution du poids corporel des femelles, entraîné par la baisse du niveau d'ingestion à cause des températures élevées.

Saleil *et al.*, (1998) ont montré que les meilleurs résultats de fertilité ont été obtenus à des températures de 16°C à 18°C. De plus, les températures élevées influencent négativement le nombre de nés vivants (6 vs.13). Sachant que la taille de la portée influence significativement la quantité de lait produit (Lebas, 1987 ; Chibah-Ait Bouziad et Zerrouki-Daoudi, 2015), les fortes températures qui réduisent la prolificité des lapines réduisent de façon indirecte la production laitière en plus de l'influence du mécanisme de thermorégulation engagé par l'organisme de la femelle pour lutter contre la chaleur.

L'estimation de la production laitière (aspect qualitatif) chez les lapines appartenant aux deux types génétiques, indique une forte influence de la saison sur la qualité du lait produit. En effet, les laits les plus riches sont produits par les lapines SS particulièrement en périodes

hivernale et printanière. Les laits les moins riches sont collectés en été et en automne concordant ainsi les plus forts taux de mortalité des lapereaux (**Figure 40**).

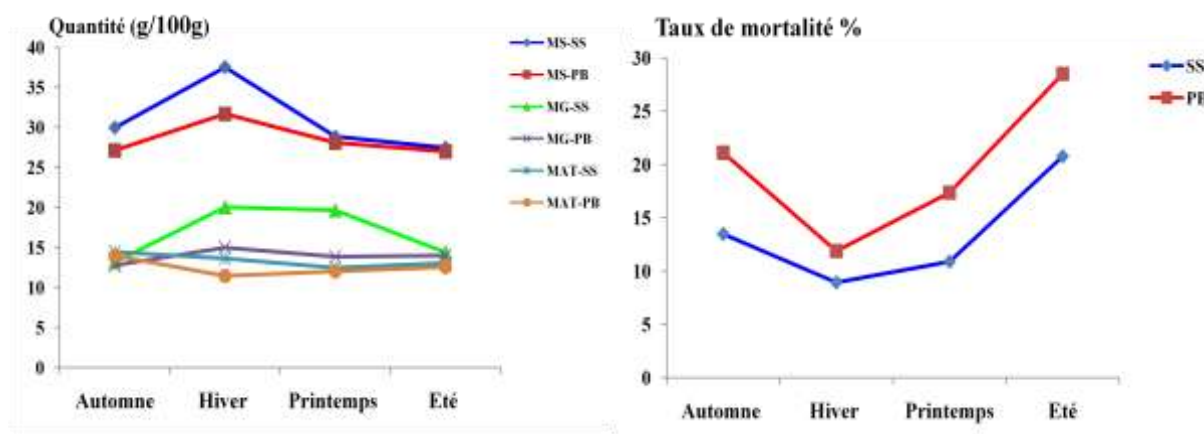


Figure 40: Variation saisonnière de la qualité du lait produit par les lapines PB et SS comparée à la variation saisonnière de la mortalité des lapereaux en période d'allaitement.

L'effet des variations saisonnières, notamment les changements de températures, ne semble pas très précis en bibliographie. Seulement à 30°C, une tendance à la diminution de la teneur en matières grasses, protéines et surtout lactose a été observée (Kustos *et al.*, 1999). Ces informations confortent nos données qui indiquent une forte chute des teneurs en MG et en protéines au cours des périodes estivale et automnale avec des températures journalières moyennes excédant les 30°C.

L'influence du stade de lactation a été très significative dans les deux types génétiques de laits (PB, SS). Les taux de matière grasse et de matière azotée totale sont très importants au cours de la période péri-mise bas. Ils connaissent une chute importante durant la première et seconde semaine de lactation pour connaître une nette augmentation vers la troisième semaine d'allaitement. Cette même évolution a été décrite par Maertens *et al.*, (2006) dont les travaux se focalisent sur les impacts des facteurs non alimentaires sur la quantité et qualité du lait produit par la lapine (**Tableau 23**).

Boucher *et al.*, (2007) se sont également intéressés à la composition biochimique du lait de lapine et à son évolution au cours de la période d'allaitement et leurs résultats rejoignent nos données.

Tableau 23 : Synthèse bibliographique portant sur l'évolution de la composition biochimique du lait de lapines (différentes races) en fonction du stade de lactation (Maertens *et al.*, 2006a).

	Semaines de lactation	Moyenne $\pm$ SEM	n	Lait SS	Lait PB
MS (g/100g)	Colostrum	32,6 $\pm$ 1,1	1	33,91 $\pm$ 0,91	31,80 $\pm$ 1,18
	1	29,8 $\pm$ 1,6	3	26,57 $\pm$ 0,97	24,82 $\pm$ 0,08
	2	30 $\pm$ 3,1	5	27,93 $\pm$ 0,64	22,66 $\pm$ 0,72
	3	29,5 $\pm$ 3,7	7	30,34 $\pm$ 0,69	27,90 $\pm$ 0,21
Protéines (g/100g)	Colostrum	14,7 $\pm$ 1,2	1	14,20 $\pm$ 0,20	13,37 $\pm$ 0,51
	1	12,8 $\pm$ 2	4	12,09 $\pm$ 0,54	10,67 $\pm$ 0,28
	2	12,2 $\pm$ 1,9	6	11,98 $\pm$ 0,41	12,17 $\pm$ 0,53
	3	11,9 $\pm$ 2,4	8	12,83 $\pm$ 0,40	12,42 $\pm$ 0,64
MG (g/100g)	Colostrum	16,3 $\pm$ 4,1	2	19,06 $\pm$ 2,71	16,47 $\pm$ 1,16
	1	12,7 $\pm$ 3,4	3	15,07 $\pm$ 1,09	12,14 $\pm$ 0,27
	2	13,1 $\pm$ 3,9	5	16,40 $\pm$ 0,04	12,86 $\pm$ 0,89
	3	12,9 $\pm$ 3,7	7	18,07 $\pm$ 0,86	13,86 $\pm$ 0,64

n = numéro de la référence bibliographique utilisée dans le tableau.

(1) Christ *et al.*, (1996), (2) Cole *et al.*, (1983), (3) Fraga *et al.*, (1989), (4) Kowalska and Bielanski (2004), (5) Lebas *et al.*, (1996), (6) Maertens *et al.*, (2005), (7) Pascual *et al.*, (2000), (8) Xiccato *et al.*, (1999).

Chez la majorité des mammifères, la quantité de lait produit par la femelle est inversement proportionnelle à sa quantité. Chez la lapine, début de la lactation à savoir le stade colostrale, est marqué par une faible quantité de lait doté d'une composition biochimique très particulière : teneurs en matière grasse et en protéines très élevées. L'espèce cunicole ne semble pas s'aligner avec les autres espèces mammifères en termes de production laitière (quantité et qualité). Il est à signaler que la période colostrale est marquée par les plus forts taux de mortalité des lapereaux en dépit de la richesse du colostrum tété. Ce fait serait lié d'une part, à la faible quantité de colostrum produit associé à une taille de portée importante et, d'autre part, au changement brutal de la composition du lait lors du passage du stade colostrum au stade lait mature.

En conclusion, l'étude des paramètres zootechniques, précisément la mortalité des lapereaux sous la mère, la production laitière et ses variations a montré que:

- **La mortalité des lapereaux est plus importante chez les lapines PB que SS.**
- **Les taux de mortalité les plus importants sont notés en périodes estivale et automnale notamment au cours du stade colostrum.**

- **La quantité et qualité du lait varient en fonction du type génétique et de la saison : les lapines SS produisent plus de lait avec plus de matières énergisantes (protéines et matières grasses).**
- **Il existe un rapport étroit entre l'origine génétique du lait, les variations saisonnières et la mortalité des lapereaux : les plus forts taux de mortalité sont observés en été et en automne alors que le lait produit est plus abondant et plus riche en périodes printanière et hivernale.**
- **L'introduction de l'insémination artificielle comme mode de reproduction et d'un rythme extensif (IA pratiquée 25 jours après mise bas), suggère que de cette technique améliore relativement les performances des lapines à travers l'augmentation du taux de fertilité et la baisse du taux de mortalité des lapereaux sous la mère.**

2-Etude histologique du tissu mammaire

Comme il a été largement décrit au niveau de la partie bibliographique, le développement de la glande mammaire au cours de la gestation est régi par une imprégnation hormonale précise, déterminent le processus de la lactation après la mise bas.

L'expérimentation 1 a confirmé la supériorité des lapines de la souche synthétique par rapport aux lapines de la population blanche en termes de production laitière (qualité et quantité). L'objectif de l'expérimentation 2 consiste à mettre en évidence l'évolution du tissu mammaire au cours des différents stades physiologiques (non gravide, gravide et allaitante) chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

L'étude histologique de la glande mammaire à différents stades physiologiques dans les deux types génétiques de lapines permettrait de déceler d'éventuelles différences morphologiques de la glande mammaire pouvant être à l'origine des différences de production laitière dont dépend étroitement la survie des lapereaux en période d'allaitement.

2-1-Protocole expérimental

L'expérimentation s'est déroulée du mois mai au mois de juillet 2015. L'effectif ciblé était composé de 32 lapines nullipares (16 SS et 16 PB) palpées positivement au 10^{ème} jour de gestation suivant l'insémination artificielle et suivies sur un cycle de reproduction. A chaque stade physiologique (non gravide, mi-gestation et mi-lactation), 3 lapines ont été sacrifiées en vue de réaliser une étude histologique du tissu mammaire (**Figure 41**).

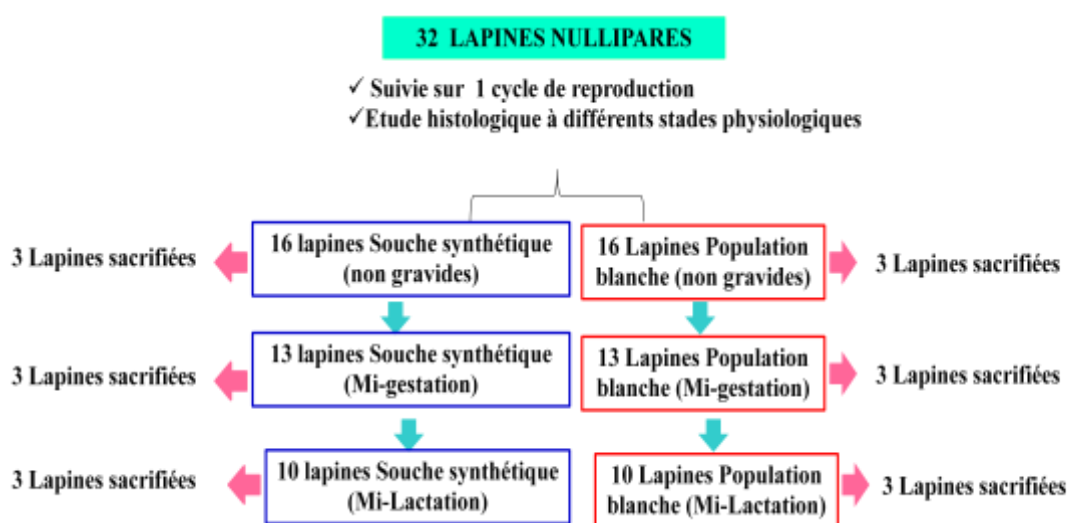


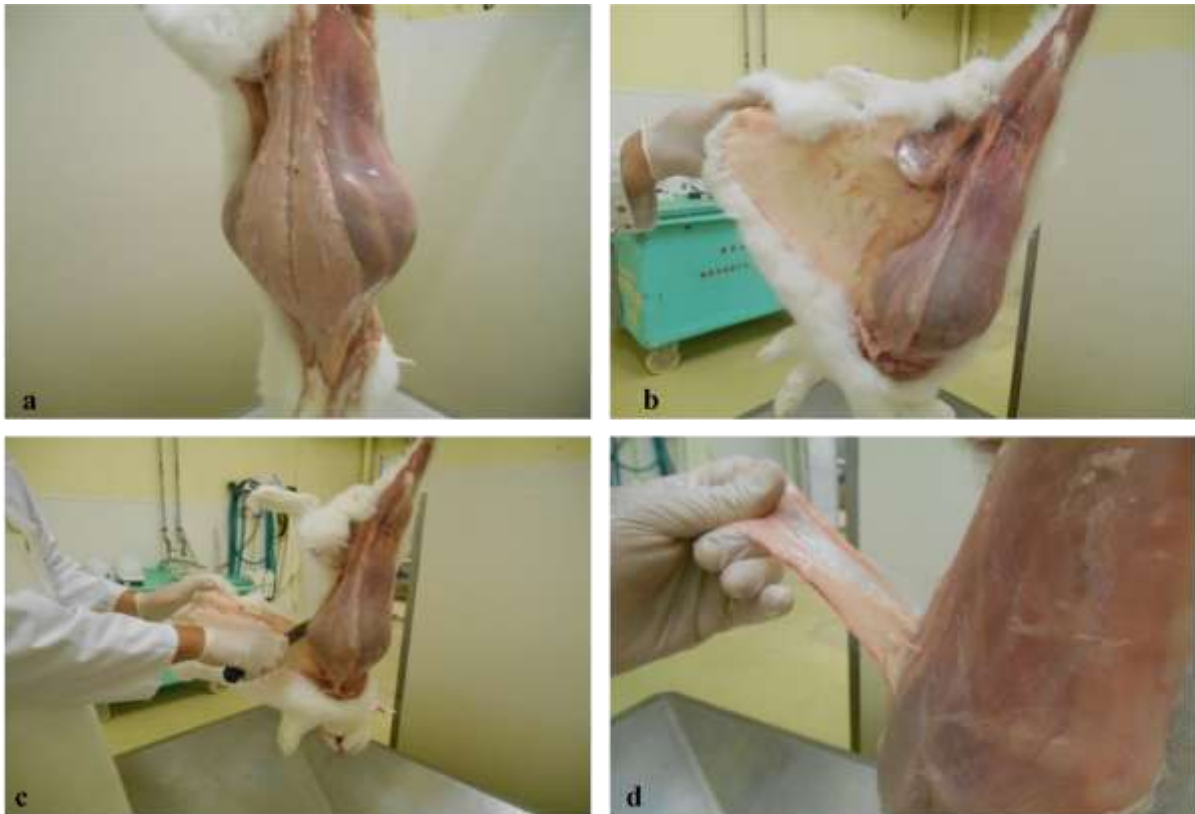
Figure 41 : Schéma du protocole expérimental résumant l'organisation des prélèvements des glandes mammaires et des prélèvements sanguins, réalisés sur les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

2-1-1-Etude histologique de la glande mammaire

La procédure suivie au cours de cette manipulation repose sur la technique décrite par Gabe (1968). Des prélèvements de glande mammaires ont été réalisés en vue d'une étude histologique sur 3 lapines de chaque type génétique, sacrifiées aux 3 stades physiologiques précédemment décrits.

- **Prélèvement et dissection de la glande mammaire**

Après sacrifice, une incision sur la peau au niveau de la naissance de la cuisse est réalisée. Afin de prélever le tissu mammaire, une incision est effectuée permettant ainsi de détacher le tissu mammaire de la peau et de l'abdomen de l'animal (**Figure 42**).



Figures 42 (a, b, c, d) : Différentes étapes de prélèvement de la glande mammaire.

Le tissu mammaire est posé sur une plaque en verre qui repose sur de la glace afin de limiter la dégradation du tissu (**Figure 43**).

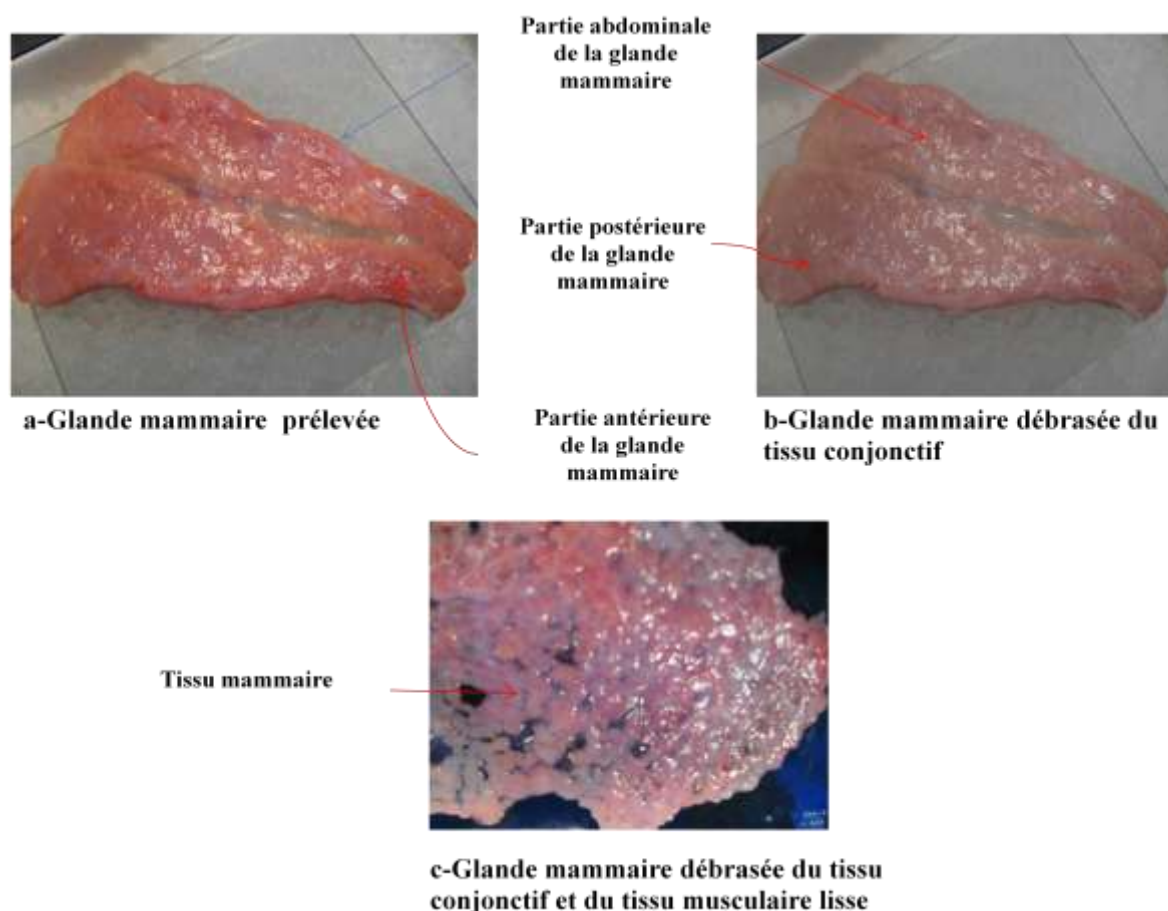


Figure 43 (a, b, c) : Etapes de dissection de la glande mammaire.

▪ **Fixation des prélèvements et inclusion en paraffine**

Une fois disséquée, des fragments de la glande mammaire inguinale sont prélevés pour une étude histologique. Cette étude comprend plusieurs étapes :

-Fixation

Le but de la fixation est de conserver les structures. En effet, le prélèvement des tissus provoque leur mort : les cellules déversent leurs enzymes, ce qui provoque une autodigestion du tissu. De plus, à l'air ambiant, les prélèvements peuvent être contaminés par des bactéries, ce qui entraîne une putréfaction des tissus. Le fixateur le plus commun en microscopie optique (MO) et le plus utilisé dans le monde est le formol à 4% (formaldéhyde à 10%). Son action repose sur le fait qu'il réagit avec les groupements aminés des protéines. La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer : quelques heures suffisent donc pour fixer les petits fragments de glande mammaire.

-Inclusion dans de la paraffine

Pour que la lumière puisse passer à travers le tissu à examiner, celui-ci doit être très fin. Or les tissus sont mous, il faut donc leur donner une consistance solide. C'est le principe de l'inclusion. L'inclusion en paraffine consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner avec de la paraffine.

L'inclusion est précédée de deux étapes essentielles. Il faut tout d'abord procéder à la déshydratation: les tissus sont immergés dans des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99°, puis enfin 100°). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur. L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : il s'agit soit de xylène, soit de toluène (hydrocarbures). Ces substances éliminent l'éthanol.

Au fur et à mesure de leur infiltration par le solvant, les tissus ont tendance à s'éclaircir : cette étape est donc parfois appelée éclaircissement ou clarification. Une fois totalement imprégné, le tissu est placé dans de la paraffine fondue (portée à 56/58°C) ; la chaleur provoque l'évaporation du solvant: les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine. Par la suite, l'ensemble tissu + paraffine est placé dans des moules dédiés, à température ambiante, ce qui provoque un durcissement et donc la rigidification des fragments tissulaires prélevés. On procède alors au démoulage : on obtient ainsi des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine (**Figure 44**).



Figure 44 : Inclusion dans de la paraffine

- **Préparation des coupes histologiques**

Les prélèvements inclus dans la paraffine sont ensuite coupés à une épaisseur de 5 μm à l'aide d'un microtome à mouvement vertical muni d'un réglage de l'épaisseur des coupes, la paraffine apparaissant translucide. Les coupes obtenues sont déposées sur des lames de qualité

Super Frost (VWR, France) préalablement identifiées et doivent être couvertes d'une goutte d'albumine glycinée. Ces lames sont placées sur une platine chauffante à 46°C afin de permettre leur étirement, puis séchées à l'étuve (1 heure à 37°C) avant d'être colorées (**Figure 45**).



Figure 45 : Réalisation des coupes histologiques au microtome

- **Coloration des lames**

Les tissus de l'organisme ne sont pas spontanément colorés, ce qui rend les observations difficiles. Les colorants utilisés en histologie sont plus ou moins sélectifs ; la plupart sont des composants acides ou basiques en milieu aqueux qui forment des sels avec les radicaux ionisés des tissus. Des composants acides sont utilisés pour les zones tissulaires basophiles, et des composants basiques sont utilisés pour les zones tissulaires acidophiles. La coloration la plus utilisée est une coloration à l'hématoxyline/éosine/safran (HES). L'hématoxyline est une substance basique, qui colore les noyaux en violet en colorant les acides nucléiques. L'éosine est une substance plutôt acide, qui colore les cytoplasmes en rose, donc les protéines.

Cependant, pour que l'on puisse utiliser une coloration, la paraffine doit être éliminée. On procède donc au déparaffinage qui consiste à passer les lames dans des bains de toluène ou de xylène afin de dissoudre la paraffine. On effectue ensuite une réhydratation : l'alcool se mélange avec l'eau et le toluène, on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (de 100° à 70°, voire 50/40°) (**Figure 46**).

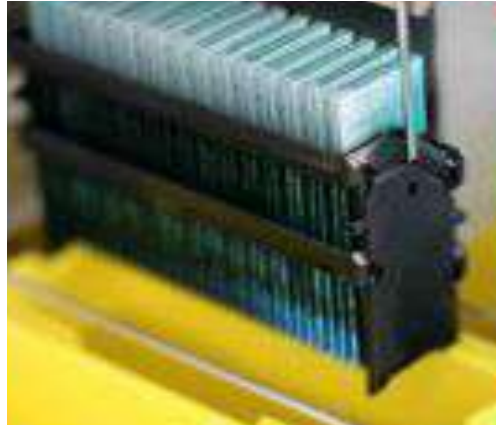


Figure 46 : Préparation des lames histologique à l'étape de la coloration

- **Montage des lames histologiques**

Les lames sont montées pour préserver les colorations. Elles sont déshydratées grâce à 2bains successifs de toluène puis des lamelles de verre sont collées par-dessus (grâce à des résines synthétiques) afin de préserver les préparations. Les lames ainsi montées peuvent être conservées et observées au microscope optique à différents grossissements ou scannées au nanozoomer.

- **Scanner des lames au nanozoomer et observations**

Le nanozoomer permet de scanner et observer les coupes histologiques à différents grossissements avec une grande résolution. Trois lames/animal colorées avec de l'hématoxyline et l'éosine safran ont été examinées sous la lumière microscopie optique et numérisées à l'aide du NanoZoomer (Hamamatsu Photonics, Tokyo, Japon), soit au total 9 lames/type génétique/stade physiologique.



Figure 47 : Nanozoomer (Hamamatsu Photonics, Tokyo, Japon)

Le logiciel Case Viewer qui accompagne le traitement des scanners garantit l'accès à différents agrandissements et procure une haute résolution. Il permet également d'effectuer des mesures de surfaces et de distances. Il s'agit notamment de la surface totale de la coupe, la surface du tissu épithélial (TE), la surface du tissu conjonctif (TC) ainsi que la surface totale.

L'objectif ciblé par la détermination des différentes surfaces sur l'ensemble des coupes histologiques (30/type génétique) est de déterminer la morphologie de la glande mammaire en fonction du stade physiologique et du type génétique en fonction de la proportion relative de la surface occupée par le TE par rapport au TC.

2-1-2- Variables calculées et analysées

Dans les deux types génétiques de lapines, la proportion relative du tissu épithélial (TE) par rapport au tissu conjonctif (TC) a été mesurée à 3 stades physiologiques.

2-1-3-Effets considérés

Les effets considérés sont:

- Effets du stade physiologique sur le développement du tissu épithélial mammaire (exprimé en proportion relative en TE).
- Effets du type génétique sur le développement du tissu épithélial mammaire (exprimé en proportion relative en TE).
- Comparaison du développement du tissu épithélial mammaire entre les deux groupes de lapines (PB et SS) à 3 stades physiologiques.

2-1-4- Analyses statistiques

Pour les données concernant les proportions relatives au tissu épithélial (TE) mesurées sur chaque section de chaque coupe histologique, les valeurs sont présentées sous forme de valeurs moyennes suivies de l'erreur standard à la moyenne. La signification statistique des différences entre les moyennes comparées est appréciée par le test "t" de Student, utilisant le logiciel Statistica.

-Si $P > 0,05$: la différence n'est pas significative (NS)

- Si $P \leq 0,05$: la différence est significative (*)

- Si $P < 0,01$: la différence est très significative (**)
- Si $P < 0,001$: la différence est hautement significative (***)
- Si $P < 0,0001$: la différence est très hautement significative (****)

La présentation graphique des résultats obtenus a été réalisée en utilisant Microsoft Excel 2013.

Pour les résultats portant sur le dosage de la prolactine, les données sont présentées sous forme de valeurs moyennes suivies de l'erreur standard à la moyenne. La signification statistique des différences entre les moyennes comparées est appréciée par le test non paramétrique de Mann & Whitney V5.1.1 ($n < 10$).

L'ensemble des variables a été soumis à une analyse de variance avec le logiciel R. Pour l'analyse des données portant sur la proportion relative du TE et les taux hormonaux, des modèles linéaires mixtes ont été utilisés avec le package « nlme ».

2-2- Résultats et discussion

2-2-1-Etude morphologique de la glande mammaire

L'étude morphologique de la glande mammaire PB et SS qui a été entreprise au moyen d'analyses histologiques, a révélé une évolution progressive du tissu épithélial (TE) au détriment de la surface occupée par les tissus conjonctif (TC) et adipeux (TA) aux 3 stades physiologiques étudiés, non gravide, mi-gestation et mi-lactation.

Les **Figures 48 et 49** montrent des coupes de glandes mammaires à 15 jours de gestation, réalisées à partir de fragments mammaires issus des lapines PB et SS, après analyse au nanozoomer. Les coupes histologiques photographiées à deux grossissements, montrent une densité en acini mammaires (tissu épithélial) qui connaît une évolution progressive en fonction du stade physiologique considéré.

Figure 48: Analyses histologiques des glandes mammaires prélevées à différents stades physiologiques sur des lapines de la population blanche (PB). Les coupes ont été colorées à l'hémaroxyline safran (HES) et observées à différents grossissements. *TA : tissu adipeux, TC : tissu conjonctif, TE : tissu épithélial*

Figure 49 : Analyses histologiques des glandes mammaires prélevées à différents stades physiologiques sur des lapines de la souche synthétique (SS). Les coupes ont été colorées à l'HES et observées à différents grossissements. *TA : tissu adipeux, TE : tissu épithélial, TC : tissu conjonctif*

Au stade non gravide, une différence hautement significative ($P < 0,001$) est notée entre les proportions relatives représentées par les tissus adipeux et conjonctif par rapport à celles occupées par le tissu épithélial (PB : TA + TC = $97,95 \pm 1,22$ vs. TE = $2,05 \pm 0,51$; SS : TA + TC = $98,01 \pm 1,20$ vs. TE = $1,99 \pm 0,22$) chez les lapines PB et SS respectivement.

A la mi-gestation, nous observons une augmentation très significative ($P < 0,01$) de la proportion relative correspondant au tissu épithélial par rapport aux tissus adipeux et conjonctif PB : TE = $99,65 \pm 0,32$ vs. TA + TC = $0,35 \pm 0,01$; SS : TE = $99,51 \pm 0,43$ vs. TA + TC = $0,49 \pm 0,20$).

A la mi-lactation, nous assistons à une augmentation hautement significative ($P < 0,001$) en termes de proportions relatives du tissu épithélial par rapport aux tissus adipeux et conjonctif PB : TE = $99,65 \pm 0,32$ vs. TA + TC = $0,35 \pm 0,01$; SS : TE = $99,51 \pm 0,43$ vs. TA + TC = $0,49 \pm 0,20$) chez les lapines PB et SS.

En revanche, on ne note pas de différences significatives ($P > 0,05$) de la structure morphologique des glandes mammaires prélevées sur les deux types génétiques de lapines et à différents stades physiologiques (**Tableau 24**).

Tableau 24: Comparaison des proportions relatives du tissu épithélial (TE) par rapport aux tissus adipeux (TA) et conjonctif (TC) sur les glandes mammaires prélevées sur les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS) à différents stades physiologiques.

	Non gravide			Mi-Gestation			Mi-Lactation		
	TE (%)	TA + TC (%)	p	TE (%)	TA + TC (%)	p	TE (%)	TA + TC (%)	p
PB	$2,05 \pm 0,51^b$	$97,95 \pm 1,22^a$	$<0,001$	$56,73 \pm 2,09^a$	$43,27 \pm 1,60^b$	$<0,01$	$99,65 \pm 0,32^a$	$0,35 \pm 0,01^b$	$<0,001$
SS	$1,99 \pm 0,22^b$	$98,01 \pm 1,20^a$	$<0,001$	$54,88 \pm 1,33^a$	$45,12 \pm 3,02^b$	$<0,01$	$99,51 \pm 0,43^a$	$0,49 \pm 0,20^b$	$<0,001$

*Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont différents ($p < 0,05$)

Ainsi :

- **Le stade physiologique semble avoir un effet hautement significatif ($P < 0,001$) sur le développement de la glande mammaire au sein des lapines PB et SS.**
- **Le type génétique ne semble pas affecter ($P > 0,05$) le développement de la glande mammaire.**

Ces analyses indiquent que l'aspect morphologique de la glande mammaire de lapine connaît trois phases principales au cours desquelles d'importantes différences en termes proportions

relatives de tissus épithéliale mammaire, adipeux et conjonctif peuvent être observées. Il s'agit d'une :

- phase proliférative, au cours de laquelle le tissu épithélial mammaire se développe progressivement sous l'action des hormones gestationnelles ;
- phase de production, au cours de laquelle le tissu épithélial occupe toute la surface de la glande mammaire. La lumière des acini sont larges indiquant une activité de production lactée ;
- phase d'involution ou de tarissement se situant vers la fin de la lactation, au cours de laquelle le tissu épithélial régresse laissant place aux tissus adipeux et conjonctif.

L'étude de la structure de la glande mammaire des deux types génétiques de lapines et son évolution entre 3 stades physiologiques ne révèle pas de différences significatives et ce, en dépit d'une différence importante de production laitière mise en évidence. Les résultats enregistrés nous servent donc de références et l'évolution du développement mammaire est considérée comme « normale » pour chacune des deux souches considérées.

3-Evaluation de la mortalité des lapereaux en rapport avec la prolactinémie, la production laitière et la morphologie du tissu mammaire

Les deux expérimentations précédentes suggèrent que les taux de mortalité sont plus importants au sein des portées de la population blanche et que ces taux sont plus marqués en période estivale. De plus, le facteur production laitière semble constituer le facteur le plus déterminant, malgré un développement mammaire similaire entre les deux types génétiques de lapines.

L'objectif de l'expérimentation 3 consiste à mettre en relation la mortalité des lapereaux en période d'allaitement avec la quantité de lait produit, sa teneur en protéines, directement liée au taux de prolactine sanguin et au développement de la glande mammaire au cours des différents stades de lactation.

3-1-Protocole expérimental

3-1-1- Animaux

L'expérimentation s'est déroulée du mois de mars au mois juillet 2016. L'effectif était composé de 80 lapines nullipares (40 PB et 40 SS), suivies sur trois cycles de reproduction. Trois inséminations artificielles ont été pratiquées sur ces lapines suivant un rythme extensif afin d'éviter le chevauchement entre les deux états physiologiques, la gestation et la lactation. En effet, ce chevauchement peut entraîner une perturbation de la production laitière en termes à la fois quantitatif et qualitatif (Fortun-Lamothe et Bolet 1995). Après ces trois cycles, 32 lapines multipares ont été classées en quatre groupes se distinguant par leurs performances de reproduction respectives (voir section Résultats).

Après leur 4^{ème} insémination artificielle, quatre groupes d'animaux ont été suivis et les paramètres mortalité, quantité de lait produit, teneur en protéines totales et prolactine sanguine ont été évalués à différents stades de la lactation.

Au 5^{ème} cycle de reproduction, des prélèvements de glande mammaires ont été réalisés au 14^{ème} jour de lactation, sur les lapines les plus performantes et les moins performantes des deux souches (**Figure 50**).

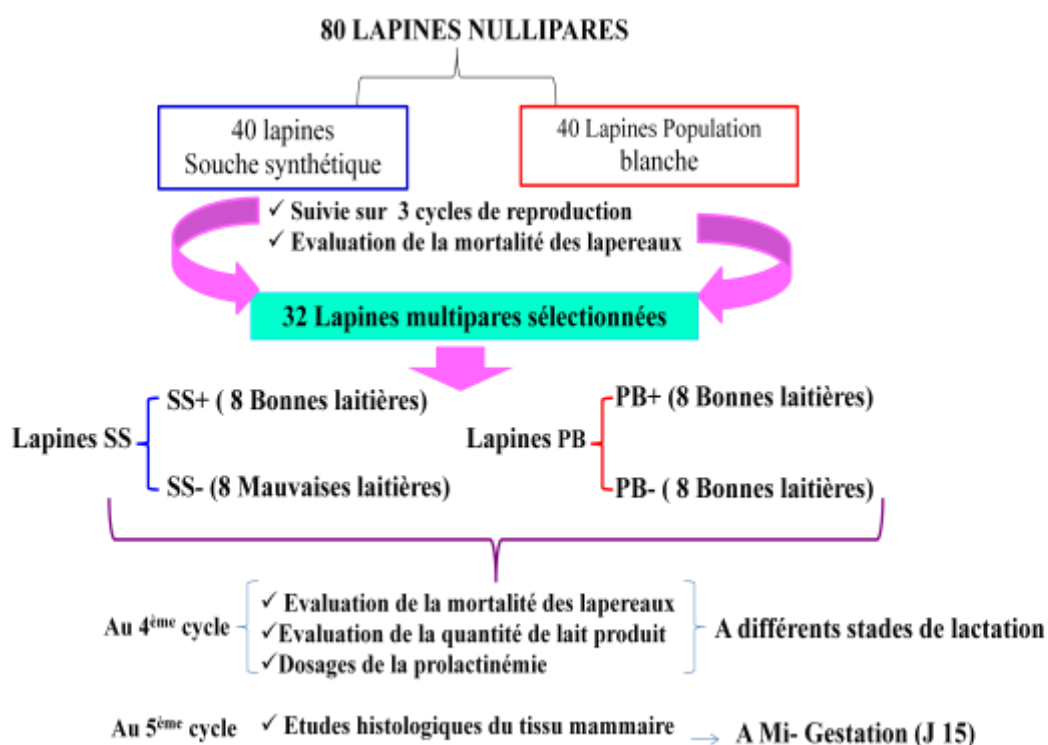


Figure 50 : Schémas du protocole expérimental permettant la mise en lots des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

3-1-2-Paramètres évalués

Au cours des trois cycles de reproduction, les enregistrements ont permis le calcul des paramètres tels que les mortinatalité et mortalité des lapereaux sous la mère. Les effectifs concernés par cette expérimentation sont représentés au niveau du **Tableau 25**.

Tableau 25 : Effectifs des lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

Effectifs	PB	SS	Total
Effectif de départ	40	40	80
Lapines (moyenne)	23	25	48
Nombre de cycles	3	3	3
Mises bas (total) (moyenne)	69	75	144

L'ensemble des résultats enregistrés a permis de sélectionner 32 lapines sur les 48 de départ qui ont mis bas régulièrement sur les 3 cycles de reproduction. Les trente-deux lapines ont été classées en deux groupes, bonnes (+) et mauvaises (-) laitières. Ainsi en tenant compte de l'origine génétique des femelles, quatre groupes d'animaux ont pu être formés : 8 lapines PB+

et 8 lapines PB- et 8 lapines SS+ et 8 lapines SS-. Cette mise en lot est liée aux performances des lapines exprimées suivant les paramètres fertilité des femelles et mortalité des lapereaux en période d'allaitement.

3-1-2-Evaluation de la mortalité

L'évaluation du taux de mortalité a été décrite au niveau de l'expérimentation I. Ce taux est calculé en fonction du stade de lactation :

- 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} semaine de lactation
- Mise bas, 21^{ème} jour de lactation

3-1-3-Evaluation de la quantité de lait produit

La mesure de la quantité de lait produit a été décrite au niveau de l'expérimentation I. Elle concerne différents stades de lactation à savoir : 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} semaine de lactation.

3-1-4-Dosage du taux de protéines totales (Kit BCA) (Annexe 5)

L'acide bicinchoninique (BCA) est un détergent utilisé pour la détection et la quantification colorimétrique des protéines totales. Cette méthode combine la réduction de Cu^{+2} en Cu^{+1} par les protéines en milieu alcalin avec la détection colorimétrique très sensible et sélective du cation cuivreux (Cu^{+1}) en utilisant un réactif unique, contenant de l'acide bicinchoninique. La couleur violette du produit de la réaction colorée de ce dosage est formée par la chélation de deux molécules de BCA avec un ion cuivreux. Ce complexe possède une absorbance optique maximale à 562 nm qui est mesurable et proportionnelle à la concentration de protéines sur une large plage (20 – 2 000 $\mu\text{g/mL}$). La concentration des protéines est généralement déterminée en se référant aux normes d'une protéine commune telle que la sérumalbumine bovine (BSA).

3-1-5-Dosage de la prolactine sanguine

Les dosages de prolactine sont faits sur des plasmas sanguins collectés au niveau des quatre groupes de lapines des deux types génétiques PB et SS précédemment décrits, à différents stades de lactation (1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} semaine). Ces dosages ont été réalisés dans le laboratoire d'analyses biochimiques de l'hôpital militaire de Ain Nadja (Alger).

Le **Tableau 26** montre l'organisation des prélèvements en fonction des groupes de lapines au cours de la période de lactation.

Tableau 26 : Organisation des prélèvements sanguins au cours de la période de lactation sur les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

Groupe	5 ^{ème} jour de lactation	14 ^{ème} jour de lactation	21 ^{ème} jour de lactation
SS+	8	8	5
SS-	8	8	8
PB+	8	8	8
PB-	8	8	5
Total	32	32	32

3-1-5-1-Prélèvements sanguins

Des quantités de sang allant jusqu'à 5 ml peuvent être collectées à partir de la veine marginale auriculaire, avec une aiguille 23 ou 25 G ou une aiguille 23 G à aileron, attachée à une seringue ou un tube. Un cathéter souple (système "catheter-over-needle", où l'aiguille sert de guide, seul le cathéter souple traverse les membranes et reste en place durant la collecte de sang) peut aussi être utilisé (**Figure 51**).



Figure 51 : Localisation de la veine marginale auriculaire

Dans le cadre du respect de l'animal, une anesthésie locale est réalisée afin de réduire la douleur et d'éviter toute agitation assurant ainsi le bon déroulement du prélèvement. De plus, cette anesthésie améliore la visibilité de la veine. Un antiseptique est également utilisé pour minimiser la survenue d'une éventuelle infection au niveau de l'échancrure causée par la seringue.

Après avoir rasé et application de l'anesthésie sur la région ciblée, la seringue est délicatement introduite dans la veine, le sang passe alors par capillarité dans le tube. Une fois que le prélèvement achevé, l'oreille est soigneusement désinfectée.

Une petite pression est exercée sur le point du prélèvement afin d'induire une

vasoconstriction et l'arrêt du flux sanguin (**Figure 52**).



Figure 52 : Etapes du prélèvement sanguin au niveau de la veine marginale de l'oreille.

Juste après le prélèvement les prélèvements sanguins sont centrifugés à 2000g, pendant 20 minutes et les plasmas sont récupérés dans des tubes Eppendorf, puis congelés à -18°C en attendant les analyses ultérieures.

3-1-5-2-Dosage de la prolactine par la méthode IRMA (Annexe 6)

Le dosage de la prolactine a été réalisé sur 96 plasmas répartis par groupes et par stade de lactation. Ce dosage repose sur la méthode IRMA (radioimmuno metric assay), qui est une technique *in vitro* utilisée en médecine nucléaire permettant de mesurer les substances

biologiques, comme les hormones, en utilisant des anticorps marqués (radioactifs).

Elle a recours à la méthode sandwich qui n'est applicable que si l'antigène à doser possède au moins deux déterminants antigéniques.

▪ Principe du dosage

Coat-A-Count Prolactine IRMA est un dosage radioimmunométrique en phase solide utilisant des anticorps monoclonaux et polyclonaux anti-prolactine : un anticorps monoclonal anti-prolactine marqué à l'iode 125, en phase liquide et un anticorps polyclonal anti-prolactine fixé à la paroi du tube en polysyrène.

La prolactine est capturée entre l'anticorps polyclonal et anti-prolactine fixé à la surface interne du tube en polystyrène et l'anticorps monoclonal anti-prolactine du traceur radiomarké. L'anticorps libre anti-prolactine marqué à l'iode 125 est éliminé du mélange réactionnel par décantation et lavage du tube ; il en résulte une très faible liaison non spécifique, assurant ainsi une excellente précision pour les valeurs basses.

La concentration de la prolactine est directement proportionnelle à la radioactivité présente dans le tube après l'étape du lavage. La radioactivité est mesurée grâce à un compteur gamma et les concentrations de prolactine dans les échantillons sont obtenues en comparant les valeurs enregistrées à la gamme d'étalonnage.

3-1-6-Histologie de la glande mammaire

Au 5^{ème} cycle de reproduction, 3 lapines du groupe PB- et 3 lapines du groupe SS+ ont été sacrifiées au 14^{ème} jour de lactation et des prélèvements de glandes mammaires ont été effectués en vue d'une étude histologique (voir protocole au niveau de l'expérimentation 2).

3-1-7- Variables calculées et analysées

Dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS) ont été mesurés les paramètres suivants :

- Mortalité des lapereaux de la naissance au 21^{ème} jour sur 4 cycles de reproduction.
- Quantité de lait produite (g) estimée à partir de la différence de poids des portées avant et après tétée.
- Teneur du lait en protéines totales.
- Taux de prolactinémie.

3-1-8-Effets considérés

Les effets considérés au cours de cette expérimentation sont:

- Effet stade de lactation sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques PB et SS (2 niveaux).
- Effet groupe génétique sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques PB et SS (2 niveaux).
- Effet taux protéique du lait sur la mortalité des lapereaux sous la mère.
- Effet taux de prolactine sur la production laitière (quantité et qualité) dans les deux types génétiques PB et SS.
- Interaction entre taux de prolactine et la production laitière (quantité et qualité) et la mortalité des lapereaux des deux types génétiques PB et SS (3 niveaux).

3-1-9- Analyses statistiques

L'ensemble des variables a été soumis à une analyse de variance avec le logiciel R. Pour l'analyse des données de la mortalité de la quantité de lait produit et la composition biochimique du lait, des modèles linéaires mixtes ont été utilisés avec le package « nlme ».

Tous les résultats sont présentés sous forme de valeurs moyennes suivies de l'erreur standard à la moyenne ($\bar{X} \pm \text{SEM}$). Les moyennes sont comparées deux à deux et la signification statistique des différences entre les moyennes comparées est évaluée par le test "t" de Student à l'aide du logiciel Statistica.

- Si $P > 0,05$: la différence n'est pas significative (NS)
- Si $P \leq 0,05$: la différence est significative (*)
- Si $P < 0,01$: la différence est très significative (**)
- Si $P < 0,001$: la différence est hautement significative (***)
- Si $P < 0,0001$: la différence est très hautement significative (****)

La présentation graphique des résultats obtenus a été réalisée en utilisant Microsoft Excel 2013.

Pour les données concernant les proportions relatives du tissu épithélial mesurées sur chaque section de chaque coupe histologique, les valeurs sont présentées sous forme de valeurs moyennes suivies de l'erreur standard à la moyenne. La signification statistique des différences entre les moyennes comparées est appréciée par le test "t" de Student utilisant le logiciel Statistica.

3-2- Résultats et discussion

3-2-1-Evaluation de la mortalité des lapereaux sur 3 cycles de reproduction

L'évaluation de la mortalité a été réalisée sur un total de 144 mises bas (69 PB et 75 SS) avec un effectif de départ de 80 lapines et un suivi sur 3 cycles de reproduction.

Les résultats enregistrés au cours de cette expérimentation rejoignent ceux de l'expérimentation 1. En effet, les plus forts taux de mortalité ont été enregistrés au sein des groupes de lapines PB et particulièrement au niveau du groupe classé PB- avec un taux de mortalité de $58,81 \pm 3,76\%$ sur toute la période d'allaitement (21 jours).

Les taux de mortalité les plus faibles ont été notés au niveau des portées des lapines SS, particulièrement au niveau du groupe classé SS+ avec des pertes de l'ordre de $8,70 \pm 0,70\%$ sur toute la période d'allaitement (21 jours).

Ces résultats ont permis la mise en place de lots qui se distinguent par leur taux de mortalité enregistrés au cours des 3 cycles de reproduction écoulés. Ainsi on distingue les groupes PB+ ($12,86 \pm 1,11\%$), PB- ($58,81 \pm 3,76\%$), SS+ ($8,70 \pm 0,70\%$) et SS- ($22,89 \pm 4,36\%$) (**Tableau 27**).

Tableau 27 : Evaluation de la mortalité (%) des lapereaux au sein des groupes de lapines de la population blanche (PB- et PB+) et de la souche synthétique (SS- et SS+) sur 3 cycles de reproduction.

Groupes génétiques	Effectifs	Nombre de lactations	Sous-groupes génétiques	Effectif après sélection	% Mortalité mise bas- 21 jours
PB	40	3	PB+	8	$12,86 \pm 1,11^c$
		3	PB-	8	$58,81 \pm 3,76^a$
		3	SS+	8	$8,70 \pm 0,70^a$

Expérimentations

* Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont différents ($p < 0,05$)

3-2-2-Evaluation de la mortalité des lapereaux en rapport avec la production laitière et la prolactinémie au sein des groupes PB-, PB+, SS- et SS+

3-2-2-1- Mortalité des lapereaux sous la mère

Au 4^{ème} cycle de reproduction et au cours des 3 semaines de lactation (21 jours), le plus fort taux de mortalité a été noté au niveau du groupe PB- alors que le plus bas a été enregistré au niveau du groupe SS+ ($68,85 \pm 3,43\%$ vs. $9,91 \pm 0,34\%$) avec une différence très hautement significative ($P < 0,0001$) (**Tableau 28**).

Tableau 28: Evaluation de la mortalité (%) des lapereaux au sein des groupes de lapines de la population blanche (PB+ et PB-) et de la souche synthétique (SS+ et SS-) au cours des 3 premières semaines de lactation.

	Taux de mortalité %			
	Population Blanche		Souche Synthétique	
	PB+	PB-	SS+	SS-
Semaine 1	$10,22 \pm 2,53^a$	$21,31 \pm 2,85^a$	$6,51 \pm 1,56^a$	$17,15 \pm 2,66^a$
Semaine 2	$5,72 \pm 3,22^b$	$19,81 \pm 3,12^a$	$2,35 \pm 1,68^b$	$7,14 \pm 1,08^b$
Semaine 3	$4,37 \pm 2,35^c$	$27,73 \pm 3,35^b$	$1,136 \pm 1,21^c$	$3,86 \pm 2,71^c$
Mise bas-21 ^{ème} jour de lactation	$20,31 \pm 1,66$	$68,85 \pm 3,43$	$9,91 \pm 0,34$	$28,15 \pm 2,29$

* Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont différents ($p < 0,05$)

Dans la plupart des élevages cunicoles, la mortalité se situe en moyenne entre 8 et 12% (Lebas *et al.*, 1991). Au sein des élevages français contrôlés, le taux de mortalité sous la mère est proche des 20%, selon Guerder (2002). De ce fait les groupes SS+ et PB+ présentent un taux de mortalité acceptable par rapport aux normes énoncées précédemment (**Figure 53**).

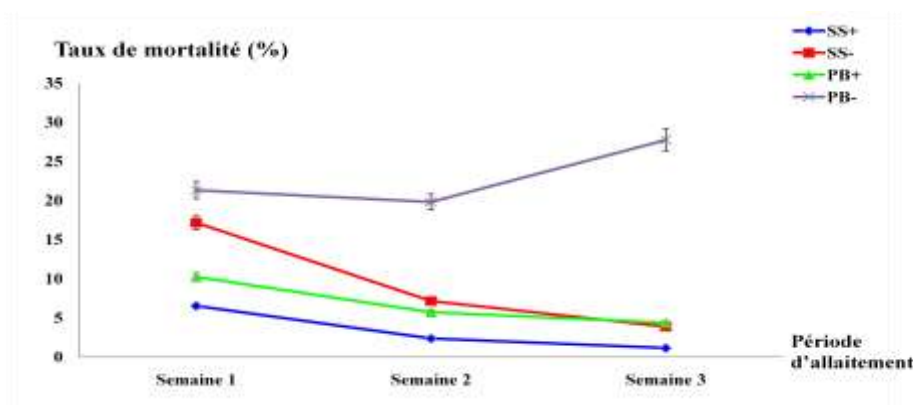


Figure 53 : Evolution des taux de mortalité au sein des groupes de lapines PB+, PB-, SS+ et SS- à différents stades de lactation. PB+ : lapines de la population blanche classées bonnes laitières, PB- : lapines de la population blanche classées mauvaises laitières, SS+ : lapines de la souche synthétique classées bonnes laitières, SS- : lapines de la souche synthétique classées mauvaises laitières

Dans les groupes SS+, SS- et PB+, une forte mortalité est enregistrée au cours de la première semaine de lactation (SS+ $6,51 \pm 1,56\%$, SS- $17,15 \pm 2,66\%$, PB+ $10,22 \pm 2,53\%$) par rapport au reste de la période d'allaitement. En revanche, dans les portées PB-, les pertes ont été importantes dès la première semaine post-partum ($21,31 \pm 2,85\%$), elles se stabilisent au cours de la seconde semaine ($19,81 \pm 3,12\%$) pour augmenter significativement ($P < 0,001$) à la dernière semaine de lactation ($27,73 \pm 3,35\%$).

Ces résultats rejoignent les travaux de Poigner *et al.*, (2000) qui soulignent un fort taux de mortalité à la première semaine d'âge des lapereaux ainsi qu'une mortalité enregistrée sous la mère de 13,3%. Un taux de mortalité de 8,40 % a été obtenu à la première semaine de lactation pour un taux global de 15,40% par Planinc *et al.*, (2011). La mortalité qui survient dans les jours qui suivent la mise bas est principalement liée à la disparition des lapereaux les plus légers (Poigner *et al.*, 2000; Szendrő, 2000 ; Perrier *et al.*, 2003).

Ainsi :

- **L'effet stade de lactation sur la mortalité des lapereaux sous la mère est très significatif ($P < 0,001$) dans les deux types génétiques de lapines.**
- **Les effets type génétique et groupe sur la mortalité sont très significatifs ($P < 0,001$) dans les deux types génétiques de lapines.**

3-2-2-2- Production laitière

▪ **Quantité de lait produit**

Avec une production de $1\,900 \pm 7,25$ g pendant les premiers 21 jours de lactation, le groupe de lapines PB- produit la plus faible quantité de lait par rapport aux autres groupes (PB+ : $2\,767 \pm 12$ g, SS+ : $3\,500 \pm 10$ g, SS- : $3\,148 \pm 18,56$ g) avec une différence très significative ($P < 0,001$). La quantité de lait produit par les lapines PB- ($1\,900 \pm 7,25$ g) est très faible par rapport à la quantité moyenne mesurée chez les lapines PB du même élevage au cours des 5 années d'enregistrement ($2\,750 \pm 17$ g). Elle est également plus faible par rapport à la production laitière des lapines de race Néozélandaise (3 970 g) (Lukefahr *et al.*, 1983) et Californienne (3 567g) (Mohamed et Szendrő, 1992).

En revanche, les lapines SS+ ($3\,500 \pm 10$ g) produisent davantage de lait par rapport à la

quantité moyenne mesurée chez les lapines SS du même élevage au cours des 5 années d'enregistrement ($3\,118 \pm 20$ g). Cette quantité reste inférieure à celle produite par les lapines de race Néozélandaise ($3\,970$ g) et ne diffère pas de la quantité de lait produit par les lapines de race Californienne ($3\,567$ g) (**Tableau 29**).

Tableau 29 : Evaluation de la production laitière (g) des 4 groupes de lapines de la population blanche (PB+ et PB-) et de la souche synthétique (SS+ et SS-) au cours des 3 premières semaines de lactation.

	Population blanche			Souche synthétique		
	PB+	PB-	<i>p</i>	SS+	SS-	<i>p</i>
Semaine 1	$81,31 \pm 4,83^a$	$71,84 \pm 1,04^b$	$<0,01$	$108,04 \pm 2,28^a$	$81,64 \pm 3,38^b$	$<0,0001$
Semaine 2	$140,11 \pm 2,21^a$	$105,50 \pm 4,83^b$	$<0,001$	$150,12 \pm 3,37^a$	$120 \pm 5,49^b$	$<0,0001$
Semaine 3	$148,76 \pm 5,89^a$	$45,50 \pm 4,52^b$	$<0,0001$	$214,12 \pm 4,13^a$	$167,87 \pm 13,46^b$	$<0,0001$
Mise bas-21e jours de lactation	$2\,767 \pm 12^a$	$1\,900 \pm 7,25^b$	$<0,0001$	$3\,500 \pm 10^a$	$3\,148 \pm 18,56^b$	$<0,0001$

* Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont différents ($p < 0,05$)

La production laitière augmente progressivement du début jusqu'à la fin de la lactation dans l'ensemble des groupes de lapines suivies. Cette production croissante a déjà été décrite par Hassan (2005), Zerrouki *et al.*, (2005) et Maertens *et al.*, (2006a). Avec $108,04\text{g/S1}$, $150,12\text{g/S2}$ et $214,12\text{g/S3}$, les femelles SS+ sont celles qui produisent le plus de lait par rapport aux trois groupes restants. Les femelles PB- produisent les plus faibles quantités de lait avec $71,84\text{g/S1}$, $105,5\text{g/S2}$ et $45,50\text{g/S3}$ (**Figure 54**). En revanche, une plus forte production laitière est observée au sein du groupe PB+ par rapport au groupe SS- au cours de la semaine 2 ($140,11\text{g}$ vs. 120g). Au-delà de la troisième semaine, la production laitière décroît sensiblement (Fortun-Lamothe et Bolet, 1995).

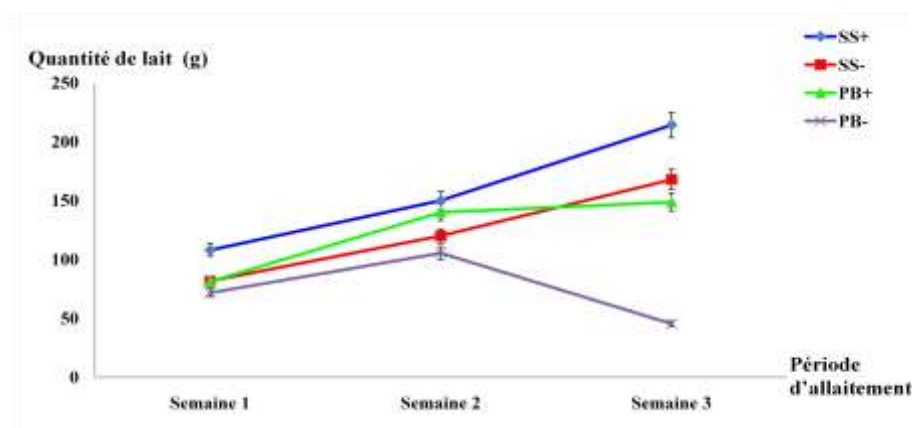


Figure 54 : Evolution des quantités de lait produit au cours de la période d'allaitement chez les lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS).

PB+ : lapines de la population blanche classées bonnes laitières, PB- : lapines de la population blanche classées mauvaises laitières, SS+ : lapines de la souche synthétique classées bonnes laitières, SS- : lapines de la souche synthétique classées mauvaises laitières.

Pour résumer :

- L'effet stade lactation sur la production laitière est très significatif ($P < 0,001$) dans les deux groupes génétiques de lapines.
- La quantité de lait produit affecte très significativement ($P < 0,001$) la viabilité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS).

▪ Taux protéique

La teneur en protéines totales a été mesurée sur les échantillons de lait collectés dans les 4 groupes de lapines (PB-, PB+, SS- et SS+) à différents stades de lactation. Les résultats enregistrés, rejoignent les données de l'expérimentation 1 à savoir une nette supériorité des lapines SS en termes de qualité (protéines) du lait produit. Dans les deux types génétiques de lapines, le taux protéique est important au début de la lactation, connaît une diminution au cours de la seconde semaine de lactation avant d'augmenter à nouveau à la troisième semaine de lactation (**Figure 55**).

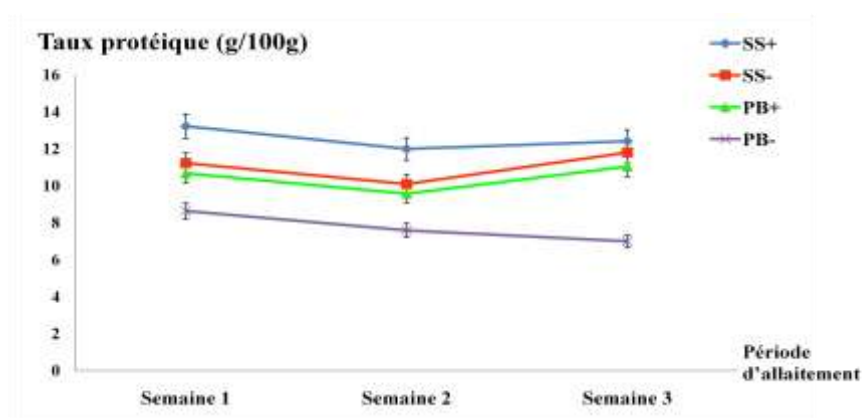


Figure 55 : Evolution de la teneur en protéines totales dans le lait de lapines PB+, PB-, SS+ et SS- au cours de la période d'allaitement.

PB+ : lapines de la population blanche classées bonnes laitières, PB- : lapines de la population blanche classées mauvaises laitières, SS+ : lapines de la souche synthétique classées bonnes laitières, SS- : lapines de la souche synthétique classées mauvaises laitières

Cette variation des taux protéiques a été également notée sur d'autres travaux de recherche (**Tableau 30**).

Tableau 30 : Evolution de la teneur en protéines totales du lait de lapines de la population blanche et de la souche synthétique en fonction du stade lactation comparée aux données bibliographiques.

	Taux protéique (g/100g)					
	Population Blanche		Souche Synthétique		n	Données bibliographiques
	PB+	PB-	SS+	SS-		
Semaine 1	10,67 ± 0,78	08,63 ± 0,49	13,22 ± 0,22	11,22 ± 0,54	1	12,80 ± 2,00
Semaine 2	9,56 ± 0,90	07,58 ± 0,53	11,99 ± 0,41	10,09 ± 0,33	2	12,20 ± 1,90
Semaine 3	11,04 ± 0,45	06,99 ± 0,33	12,41 ± 0,23	11,80 ± 0,29	3	11,90 ± 2,40

n: numéro de la référence bibliographique dans le tableau

(1) Kowalska et Bielanski (2004), (2) Maertens et al., 2005, (3) Xiccato et al., 1999

La teneur en protéines totales mesurée sur le lait collecté dans le groupe SS+ est nettement plus importante par rapport aux données bibliographiques, alors que la teneur en protéines totales mesurée sur le lait collecté dans le groupe PB- on est nettement plus inférieure (Xiccato et al., 1999 ; Kowalska et Bielanski 2004 ; Maertens et al., 2005).

Pour résumer :

- **L'effet stade lactation sur la teneur en protéines totales du lait est très significatif ($P < 0,001$) dans les deux groupes génétiques de lapines (PB et SS).**
- **La teneur en protéines totales de lait produit affecte très significativement ($P < 0,001$) la viabilité des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS).**
- **L'interaction des deux effets stade de lactation et production laitière affecte très significativement la survie des lapereaux sous la mère dans les deux types génétiques de lapines (PB et SS).**

3-2-2-3-Prolactinémie

Parallèlement à la production laitière (quantité et qualité), les taux de prolactine les plus importants ont été observés sur les prélèvements sanguins issus du groupe SS+, les plus faibles dans le groupe PB- au cours des 3 semaines de lactation (32,06 ng/mL vs. 24,58 ng/ml en S1, 36,75 ng/mL vs. 29,25 ng/mL en S2 et 48,93 ng/ml vs. 16,83 ng/ml en S3). En revanche, une prolactinémie plus élevée peut être notée au sein du groupe PB+ par rapport au groupe SS- au cours de la semaine 2 (34,5 ng/mL vs. 32,29 ng/mL) (**Figure 56**).

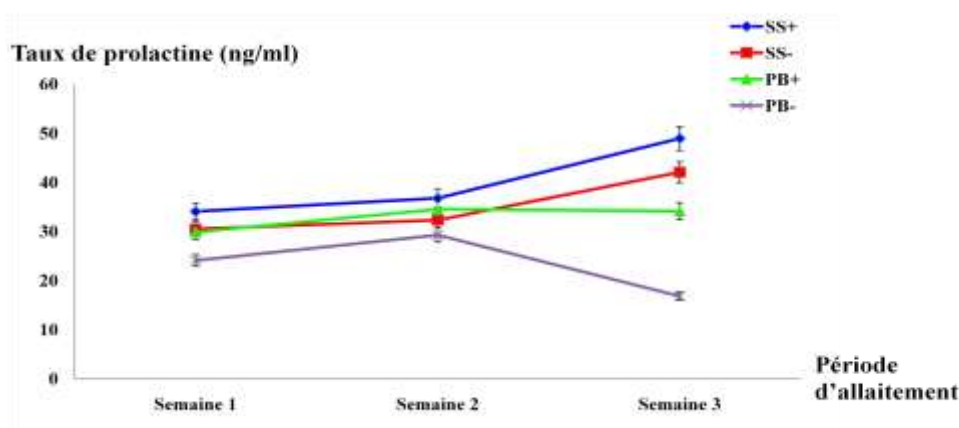


Figure 56 : Evolution des taux de prolactine sanguins au cours de la période d'allaitement chez les lapines PB et SS.

PB+ : lapines de la population blanche classées bonnes laitières, PB- : lapines de la population blanche classées mauvaises laitières, SS+ : lapines de la souche synthétique classées bonnes laitières, SS- : lapines de la souche synthétique classées mauvaises laitières

On note cependant une différence dans l'évolution de la prolactinémie au cours des trois semaines de lactation dans les deux groupes génétiques de lapines. En effet, les taux de prolactine notés aux niveaux des groupes SS+ et SS- connaissent une évolution progressive alors que dans les groupes PB+ et PB-, la prolactinémie décroît progressivement depuis la

Expérimentations

Ces résultats concordent avec ceux de Viard-Drouet *et al.*, (1983) qui soulignaient qu'un fort taux de prolactine est enregistré chez les femelles les plus performantes, en termes de production laitière, capables de sauvegarder l'intégrité de leurs portées.

La quantité et la qualité de lait produit varient significativement ($P < 0,001$) en fonction du type/groupe génétique et du stade de lactation et semblent être régies par les variations de la prolactinémie. Au sein des groupes PB+, SS- et SS+, la prolactinémie augmente progressivement et parallèlement à l'augmentation du taux protéique et de la quantité de lait produit. Au sein du groupe PB-, la faible quantité de lait produit peut être associée avec une prolactinémie faible. De plus, la mortalité des lapereaux sous la mère est plus importante dans les groupes de lapines produisant moins de lait avec une teneur faible en protéines, pouvant être corrélée avec une prolactinémie hautement basse ($P < 0,001$) (**Figure 56**).

La production laitière (quantité et qualité) semble être directement liée à la prolactinémie. Aussi, le type génétique ainsi que le groupe de classification semblent avoir un effet très

significatif ($P < 0,001$) sur la production laitière. En effet, plusieurs études (Guyette *et al.*, 1979 ; Teyssot et Houdebine, 1980 ; Houdebine, 1986 ; Gaye et Denamur, 1986 ; Péliissier et Ribadeau-Dumas, 1986) ont rapporté le rôle de la prolactine dans le développement de la glande mammaire en vue de la préparation à la fonction lactée, mais aussi dans la synthèse des constituants du lait, notamment des protéines et particulièrement des caséines. Ainsi les faibles taux de protéines dosés dans les échantillons de lait provenant des lapines PB- peuvent être reliés à la faible prolactinémie.

Pour résumer :

- **L'effet stade de lactation affecte très significativement ($P < 0,001$) le taux de prolactine sanguine dans les deux types génétiques de lapines.**
- **La prolactinémie présente un effet très significatif ($P < 0,001$) sur la production laitière dans les deux types génétiques de lapines.**
- **L'interaction des effets stade de lactation, production laitière et prolactinémie présente un effet très significatif ($P < 0,001$) sur la mortalité des lapereaux en période d'allaitement dans les deux types génétiques de lapines.**
- **Les résultats enregistrés indiquent une corrélation entre les effets type génétique de la lapine, groupe, aptitudes laitières, stade de lactation, prolactinémie sur la qualité du lait (teneur en protéines) et la survie des lapereaux sous la mère.**

3-2-3-Etude morphologique de la glande mammaire

L'étude morphologique de la glande mammaire a été entreprise au moyen d'analyses histologiques, à savoir une coloration des coupes de tissu mammaire à l'hématoxyline-éosine. L'observation des prélèvements de glandes mammaires réalisés sur les deux groupes d'animaux (SS+ et PB-) au stade mi-gestation (15^{ème} jour de gestation) a été entreprise afin de mettre en évidence d'éventuelles différences dans le développement du tissu épithélial mammaire.

La structure histologique de la glande mammaire prélevée sur des lapines issues de la souche SS présente un développement épithélial plus important par rapport aux animaux de la population blanche PB, qui se traduit par une proportion plus importante du tissu épithélial ainsi que par l'ouverture des acini mammaires (**Figure 57**). En effet, les coupes histologiques (30 coupes pour chaque groupe de lapines) soumises à des analyses morphométriques indiquent que la proportion relative en tissu épithélial mammaire est significativement

($P < 0,0001$) supérieure dans le groupe SS+ par rapport au groupe PB- ($35,26 \pm 0,28\%$ vs. $13,08 \pm 0,19\%$). Inversement, la proportion relative en tissu adipeux est plus importante ($P < 0,0001$) dans le groupe PB- par rapport au groupe SS+ ($75,91 \pm 0,21\%$ vs. $10,11 \pm 0,9\%$). A mi-gestation, les lapines du groupe PB- présentent un retard très significatif ($P < 0,001$) du développement du tissu épithélial (TE) mammaire par rapport aux lapines du même groupe génétique dites normales (PB expérimentation 2) au même stade physiologique ($23,08 \pm 0,19\%$ vs. $56,73 \pm 2,09\%$).

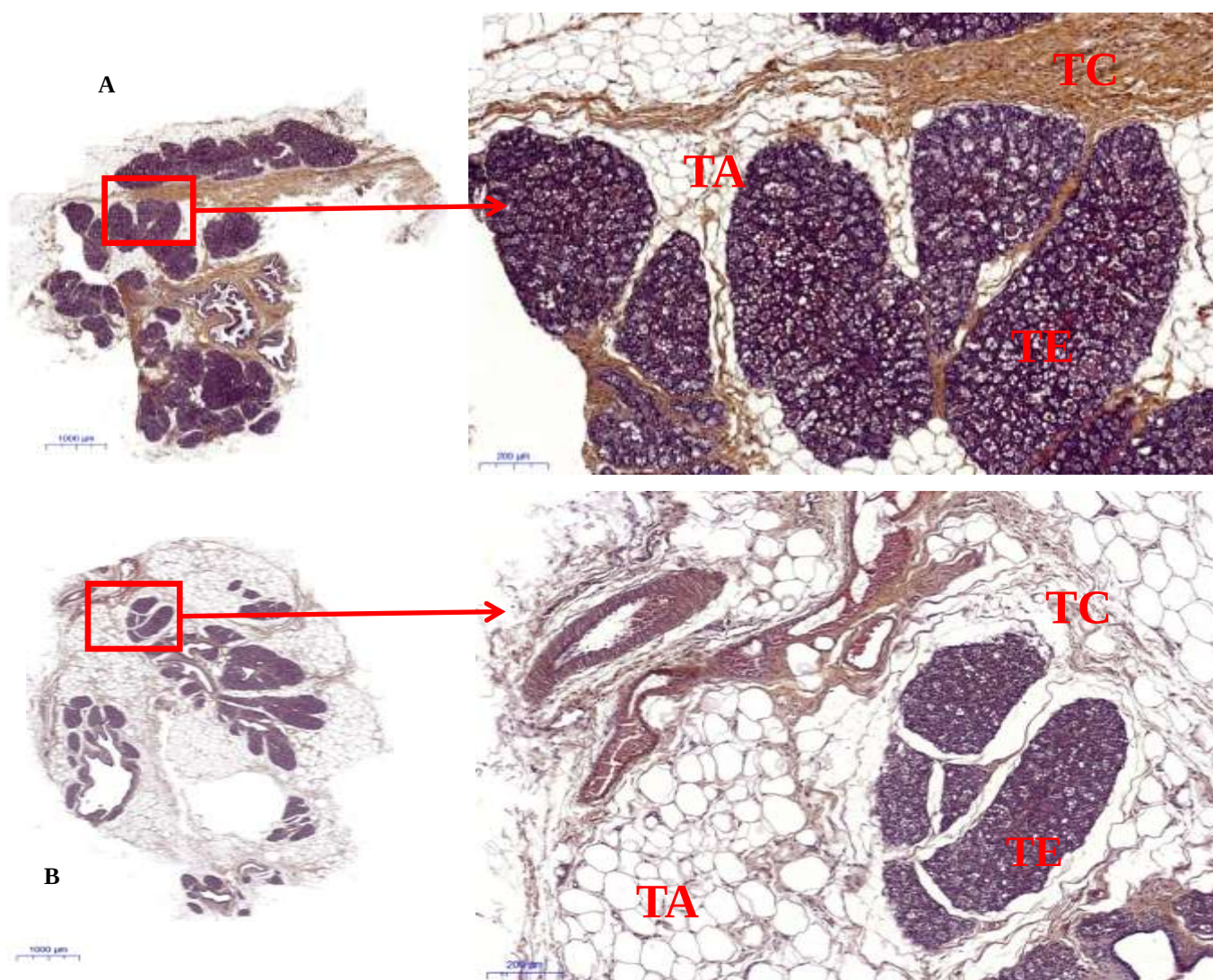


Figure 57 : Coupes histologiques d'une glande mammaire de lapine gestante au 15^{ème} jour de la gestation colorées à l'hématoxyline-éosine (HES) et observées à différents grossissements.

A : glande mammaire prélevée sur une lapine SS représentative B : glande mammaire prélevée sur une lapine PB représentative TA : tissu adipeux, TE : tissu épithélial, TC : tissu conjonctif

En revanche, les lapines du groupe SS+ présentent un développement significativement ($P < 0,001$) précoce de la glande mammaire par rapport aux lapines du même groupe génétique dites normales (SS expérimentation 2) au même stade physiologique ($54,88 \pm 1,33$ % vs. $77,26 \pm 0,28$ %) (**Tableau 31**).

Tableau 31: Comparaison des proportions relatives du tissu épithélial (TE) par rapport aux tissus adipeux (TA) et conjonctif (TC) sur les glandes mammaires prélevées sur les lapines des groupes PB- et SS+ au stade mi-gestation.

Mi-gestation			
EXPERIMENTATION 2			
	TE (%)	TA + TC (%)	P
PB	$56,73 \pm 2,09^a$	$43,27 \pm 1,60^b$	0,01
SS	$54,88 \pm 1,33^a$	$45,12 \pm 3,02^b$	0,01
EXPERIMENTATION 3			
	TE (%)	TA + TC (%)	P
PB-	$23,08 \pm 0,19$	$76,92 \pm 0,21$	0,001
SS+	$77,26 \pm 0,28$	$23,11 \pm 0,9$	0,001

*Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont différents ($p < 0,05$)

PB- : lapines de la population blanche mauvaises laitières

SS+ : lapines de la souche synthétique bonnes laitières

Ce retard et cette mauvaise préparation de la glande mammaire au cours de la gestation peut être à l'origine de la faible production laitière (quantité et qualité) expliquant les forts taux de mortalité enregistrés au sein du groupe PB-. Les forts taux de mortalité étant à l'origine de tailles de portées réduites pourraient trouver leur cause dans une faible prolactinémie.

Une meilleure préparation de la glande mammaire au cours de la phase gestationnelle s'accompagne d'une bonne production laitière (quantité et qualité), pouvant réduire le taux de mortalité des lapereaux en période d'allaitement. Les tailles des portées ainsi maintenues seraient en rapport direct avec la stimulation de la production de la prolactine conduisant à un taux de protéines totales correct.

Pour résumer :

- **La mortalité des lapereaux en période d'allaitement, fortement marquée au sein du groupe PB- peut être corrélée à une faible production laitière, un faible taux protéique, une faible concentration en prolactine sanguine et s'observe par un retard dans le développement du tissu mammaire au cours de la période de gestation.**

4-Effet des adoptions croisées des portées sur la mortalité

Le lait constitue le seul aliment des lapereaux durant les dix-sept premiers jours de vie (Amroun *et al.*, 2015). En quantité suffisante, il permet une croissance harmonieuse du jeune au cours de la période de lactation (Fortun-Lamothe et Gidenne, 2003). Nous nous sommes interrogés sur l'éventuelle implication du lait dans le phénomène de mortalité élevée observé dans la population blanche. Nous avons ainsi mis en place un protocole basé sur des adoptions croisées entre lapereaux PB et SS ayant pour objectif la mise en relation de l'origine génétique du lait tété par les lapereaux et de leur viabilité.

4-1-Protocole expérimental

La présente étude s'est déroulée sur une période qui s'étale du mois de septembre 2016 au mois de mai 2017. Cette étude comprend 40 lapines PB et 40 lapines SS qui ont été suivies sur trois cycles de reproduction. Les lapines ont été réparties respectivement en 4 lots dont 2 sont témoins, c'est-à-dire allaitant leur propre portée et 2 autres sont expérimentaux, autrement dit allaitant les portées adoptées (**Figure 58**).

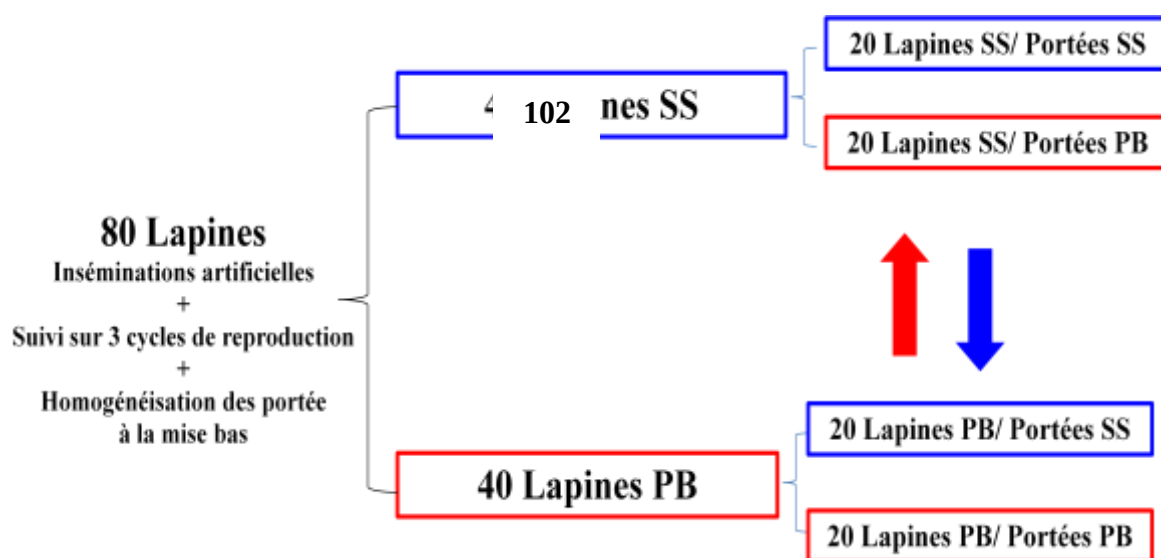


Figure 58 : Organisation des adoptions croisées des portées entre lapines de la population blanche (PB) et de la souche synthétique (SS) au sein des différents lots expérimentaux.

MB : Mise bas

À la mise bas, les portées ont été dénombrées, pesées et homogénéisées (8 lapereaux /lapine), puis réparties en 4 groupes (2 groupes témoins et 2 groupes expérimentaux) en fonction de l'origine génétique du lait tété et en tenant compte d'un poids moyen commun des portées après homogénéisation dans l'ensemble des lots (**Tableau 32**).

Tableau 32 : Effectifs des groupes d'animaux témoins et expérimentaux après croisement des portées entre les deux types de lapines (PB et SS).

	Lots	Effectifs lapines	Nombre de cycles	Nombre de portées	Taille de la portée après homogénéisation
Lots témoins	Lapereaux PB + Lait PB	20	3	60	8
	Lapereaux SS + Lait SS	20	3	60	8
Lots expérimentaux	Lapereaux PB + Lait SS	20	3	60	8
	Lapereaux SS + Lait PB	20	3	60	8
Total	-	80	-	240	-

PB : lapines de la population blanche, SS : lapines de la souche synthétique

Au sein des deux groupes témoins comme dans les deux groupes expérimentaux, les poids des portées ont également été homogénéisés à environ 400 g par portée (**Tableau 33**).

Tableau 33 : Homogénéisation des poids des portées à la mise bas dans les groupes témoins et expérimentaux après croisement des portées entre les deux types de lapines.

		Poids moyens individuels à la mise bas (g)	Taille de la portée L1	Poids moyen de la portée après homogénéisation (g)	Poids moyens individuels (g)
Lots témoins	Lapereaux PB+Lait PB	55 ± 3,71	8	399 ± 2,56	49,87 ± 1,63
	Lapereaux SS+Lait SS	60,16 ± 1,94	8	400 ± 11,2	50 ± 0,66
Lots expérimentaux	Lapereaux PB+Lait SS	-	8	398 ± 12,02	49,75 ± 2,02
	Lapereaux SS+Lait PB	-	8	405 ± 2,22	50,62 ± 0,54

PB : lapines de la population blanche, SS : lapines de la souche synthétique

L1 : 1^{er} jour de lactation, L21 : 21^{ème} jour de lactation

Les portées ont été dénombrées et pesées deux fois par semaine au cours de toute la période d'allaitement (21 jours) afin d'évaluer d'une part, la croissance des lapereaux et, d'autre part, la mortalité. Il est à noter que des prélèvements de lait ont été réalisés au cours de ce protocole en vue d'une analyse approfondie de leur fraction protéique.

4-1-2- Variables calculées et analysées

4-1-2-1- Mortalité des lapereaux sous la mère

La mortalité a été mesurée dans les 4 groupes d'animaux et sur 3 cycles de reproduction, pendant les 3 semaines de lactation.

$$\text{Taux de mortalité naissance – J 21} = \frac{\text{Nés vivants} - \text{Nombre de lapereaux à J 21}}{\text{Nés vivants}} \times 100$$

4-1-2-2- Croissance des lapereaux

La croissance des lapereaux au cours des 21 jours de lactation peut être mesurée par la formule suivante :

$$\text{Poids Moyen (PM)} : P_{mi} = PP_i / NV_i$$

-PP : poids de la portée (g)

-PMS : poids moyen des lapereaux à la naissance jusqu'au sevrage (g)

4-1-3- Effets considérés

Les effets considérés au cours de cette expérimentation sont :

- Effet de l'origine génétique du lait tété sur la mortalité des lapereaux (2 niveaux).
- Effet de l'origine génétique du lait tété par les lapereaux sur leur croissance (2 niveaux).
- Effet de l'origine génétique du lait sur la mortalité et la croissance des lapereaux (3 niveaux).

4-1-4-Analyses statistiques

L'ensemble des variables a été soumis à une analyse de variance avec le logiciel R. Pour l'analyse des données de la mortalité de la quantité de lait produit et la composition biochimique du lait, des modèles linéaires mixtes ont été utilisés avec le package « nlme ».

Tous les résultats sont présentés sous forme de valeurs moyennes suivies de l'erreur standard à la moyenne ($X \pm SEM$). Les moyennes sont comparées deux à deux et la signification statistique des différences entre les moyennes comparées est évaluée par le test "t" de Student utilisant le logiciel Statistica.

- Si $P > 0,05$: la différence n'est pas significative (NS)
- Si $P \leq 0,05$: la différence est significative (*)
- Si $P < 0,01$: la différence est très significative (**)
- Si $P < 0,001$: la différence est hautement significative (***)
- Si $P < 0,0001$: la différence est très hautement significative (****)

Lorsque l'effet est globalement significatif, les moyennes sont comparées 2 à 2 par un test de Student. Les moyennes significativement différentes au seuil de 5% sont suivies de lettres différentes (a, ab, b, c, ...). La présentation graphique des résultats obtenus a été réalisée en utilisant Microsoft Excel 2013.

4-2-Résultats et discussion

4-2-1- Evaluation de la mortalité des lapereaux

Les différentes observations réalisées au cours des périodes estivale et automnale (3 cycles de reproduction) indiquent un taux de mortalité important au sein des portées PB allaitées avec du lait PB ($18,50 \% \pm 0,19$) par rapport aux portées SS nourries avec le lait SS qui présentent un taux de mortalité de $12,50 \% \pm 0,03$ et la différence entre les deux est très significative ($P < 0,001$) (**Tableau 34**).

Tableau 34 : Evaluation des taux de mortalité des lapereaux allaités par les lapines SS et PB suivant le schéma des adoptions croisées (3 cycles de reproduction).

Portées + origine génétique du lait	Effectif lapines	Effectif lapereaux à L1	Poids moyens lapereau à L21	P	Taux de mortalité %	P
Lapereaux PB + Lait PB	20	480	$391,20 \pm 2,09^c$	$<0,001$	$18,50 \pm 0,18^c$	$<0,001$
Lapereaux SS + Lait SS	20	480	$420,00 \pm 1,23^b$	$<0,001$	$12,50 \pm 0,03^b$	$<0,001$
Lapereaux PB + Lait SS	20	480	$420,00 \pm 1,11^b$	$<0,001$	$12,50 \pm 0,01^b$	$<0,001$
Lapereaux SS + Lait PB	20	480	$350,40 \pm 3,41^a$	$<0,0001$	$27,00 \pm 0,04^a$	$<0,001$

*Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont significativement différents ($p < 0,05$)

L1 : 1^{er} jour de lactation, L21 : 21^{ème} jour de lactation

Ces résultats rejoignent ceux enregistrés au cours de l'expérimentation 1, ils s'accordent également avec les résultats présentés par Chibah *et al.*, (2014). Avec une différence de 6 %, les lapereaux PB, survivent mieux lorsqu'ils sont allaités avec le lait SS par rapport au groupe PB allaité avec le lait PB ($12,50 \% \pm 0,01$ vs. $18,50 \% \pm 0,19$) et cette différence est hautement significative ($P < 0,001$). En revanche, les lapereaux SS, allaités avec du lait PB présentent un taux de mortalité plus important par rapport au lot SS allaité avec du lait SS ($27,00 \% \pm 0,04$ vs. $12,50 \% \pm 0,03$), la différence de 14,50 % est très hautement significative ($P < 0,0001$).

Donc :

- **L'origine génétique du lait semble avoir un effet très significatif ($P < 0,01$) sur la viabilité des lapereaux. En effet, le lait PB semble être à l'origine du fort taux de mortalité des lapereaux du type génétique SS. En revanche, le lait SS semble améliorer la survie des lapereaux PB. De ce fait, la composition du lait semble jouer un rôle déterminant dans la mortalité des lapereaux PB.**

4-2-2- Evaluation de la croissance

Après avoir homogénéisé le poids moyen (400 g) à la mise bas et la taille de portée (8 lapereaux) dans l'ensemble des groupes de lapines, nous avons évalué la croissance des lapereaux en fonction de l'origine génétique du lait tété (**Tableau 35**).

Tableau 35 : Comparaison des poids des portées et des poids individuels au sein de lapines PB et SS suivant le schéma des adoptions croisées (3 cycles de reproduction).

Portées + origine génétique du lait	Poids moyen de portée après homogénéisation (g)	Taille de la portée L1	Poids moyens de la portée à (g)	P	Taille de la portée L21	P	Poids moyens individuels (g) L21	P
Lapereaux PB + Lait PB	399 ± 2,56	8	1 600 ± 1,09 ^c	0,001	6,5 ± 0,33 ^b	0,001	245,4 ± 1,02 ^d	0,001
Lapereaux SS + Lait SS	400 ± 11,2	8	1 820 ± 0,12 ^a	0,010	7,0 ± 0,02 ^a	0,010	257,1 ± 0,88 ^b	0,010
Lapereaux PB + Lait SS	398 ± 12,02	8	1 750 ± 1,22 ^b	0,001	7,0 ± 0,8 ^a	0,001	250,6 ± 1,66 ^c	0,001
Lapereaux SS + Lait PB	405 ± 2,22	8	1 600 ± 1,78 ^c	0,001	6,0 ± 0,54 ^c	0,001	283,3 ± 2,44 ^a	0,001

**Les chiffres suivis d'indices différents (a, b) sont différents ($p < 0,05$)*

L1 : 1^{er} jour de lactation, L21 : 21^{ème} jour de lactation

A la fin de la troisième semaine de lactation (L21), le poids moyen des portées SS du groupe (Lapereaux SS + Lait SS) est plus important ($P < 0,001$) que celui observé dans le groupe (Lapereaux PB + Lait PB), soit 1 820 ± 0,12 g vs. 1 600 ± 1,09 g (**Figure 59**).

Avec un taux de mortalité de 12,5 % ± 0,03 et une taille de portée moyenne de 7,00 ± 0,02, le groupe (Lapereaux SS + Lait SS) présente un poids moyen individuel de 257,1 ± 0,88 g à L21. Ce taux de mortalité n'est pas différent de celui observé au sein du groupe (Lapereaux PB + Lait SS), soit 12,50 ± 0,01.

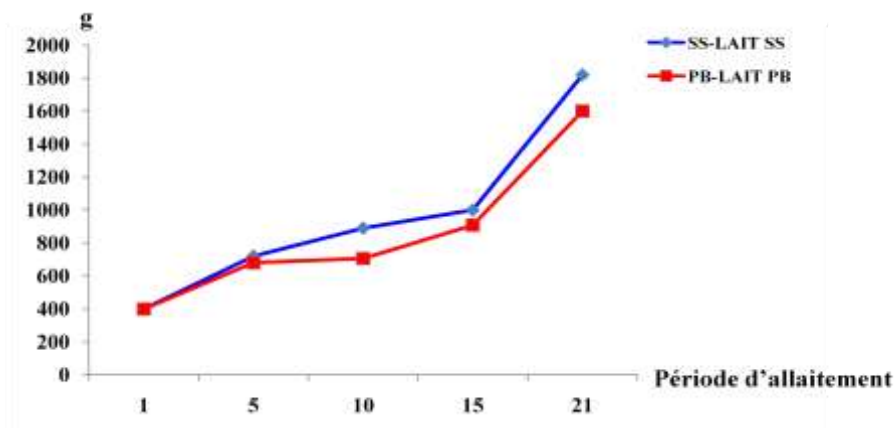


Figure 59 : Evolution du poids des portées PB et SS au cours de la période de lactation (groupes témoins).

A la fin de la troisième semaine de lactation (L21), les portées du groupe (Lapereaux SS / Lait SS) sont plus lourdes que celles du groupe (Lapereaux SS / Lait PB) (**Figure 60**).

En effet, une différence significative ($P < 0,01$) du poids de la portée a été notée entre le groupe (Lapereaux SS + Lait SS) et le lot (Lapereaux SS + Lait PB) ($1\,820 \pm 0,12$ g vs. $1\,700 \pm 1,78$ g). En revanche, le poids moyen individuel enregistré au sein du groupe (Lapereaux SS + Lait PB) est plus important par rapport au poids individuel au sein du groupe (Lapereaux SS + Lait SS) ($283,33 \pm 2,44$ g vs. $257,14 \pm 0,88$ g). Cette différence est liée à la taille de la portée au sein des deux groupes SS (témoin et expérimental). En effet, le groupe (Lapereaux SS + Lait PB) présente une taille de portée moyenne de $6,00 \pm 0,54$, alors que le groupe (Lapereaux SS + Lait SS) présente une taille de portée moyenne de $7,00 \pm 0,02$ et la différence entre les deux est significative ($P < 0,01$).

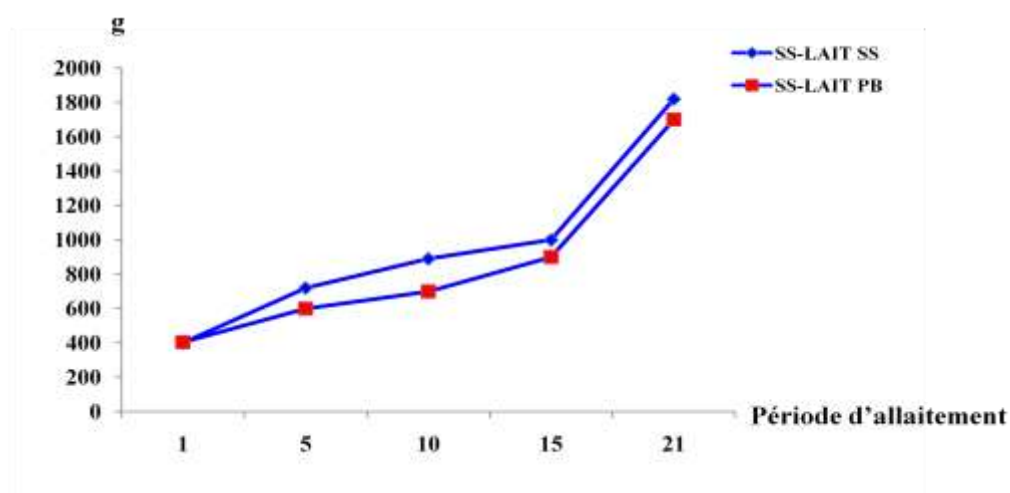


Figure 60 : Evolution du poids des portées des groupes (Lapereaux SS / Lait SS) et (Lapereaux SS / Lait PB) au cours des premiers 21 jours de lactation.

Les portées du groupe expérimental (Lapereaux PB + Lait SS) présentent une meilleure croissance par rapport aux portées du groupe témoins (Lapereaux PB + Lait PB) (**Figure 61**), avec pour le groupe (Lapereaux PB + Lait SS) au 21^{ème} jour de lactation, une taille de portée moyenne de $7,00 \pm 0,8$, un poids de la portée moyen de $1\,750 \pm 1,22$ g et un poids individuel moyen de $250,66 \pm 1,66$ g.

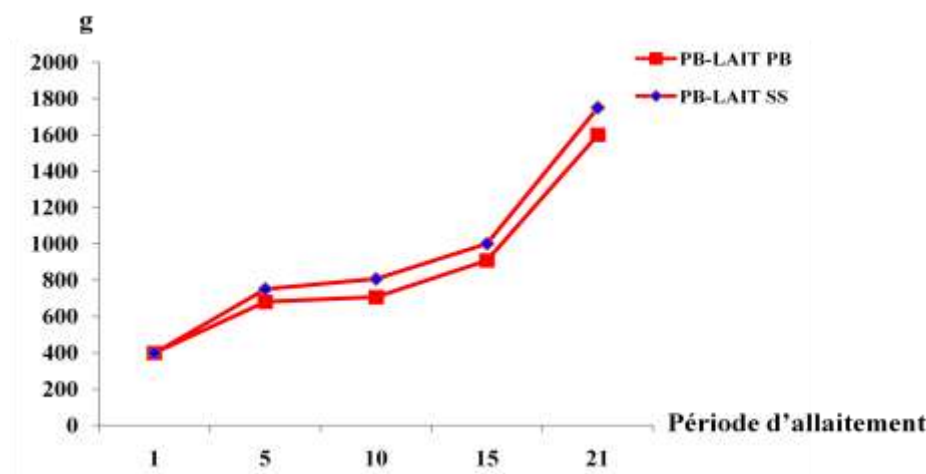


Figure 61 : Evolution du poids des portées PB-lait PB comparée aux portées PB -lait SS au cours de la période de lactation

La différence entre les deux groupes PB (témoin et expérimental) en termes de croissance des lapereaux est très significative ($P < 0,001$). Elle est liée à l'effectif plus important présent au sein des portées du groupe Lapereaux PB ayant tété du lait SS (Lapereaux PB + Lait SS).

Garreau et De Rochambeau (2003) ont démontré que la survie et le poids du jeune lapereau sont déterminés d'une part, par son propre potentiel de croissance (effet direct) et, d'autre part, par l'influence de sa mère. Ils affirment également, que l'état physiologique lors de la fécondation (allaitante ou non allaitante), la parité, la capacité laitière ainsi que le comportement de la lapine après la mise bas constituent les effets maternels qui influent la croissance de la portée. De plus, Lazzaroni *et al.*, (2012), soulignent que la croissance pré-sevrage du lapereau est sous la dépendance de plusieurs facteurs : des facteurs génétiques associés au patrimoine génétique du lapereau et des facteurs liés à la mère (capacités utérines, capacités laitières, statut physiologique...) et des facteurs exogènes liés à l'effet du milieu résultant des conditions dans lesquelles est mis le patrimoine génétique pour produire (saison, alimentation, ...). La prolificité et la croissance des lapereaux semblent être aussi affectées par différents facteurs tels que la saison, le sexe et la parité.

Le protocole expérimental mis en place et exécuté en période estivale nous a permis

d'éliminer les effets de la parité, de l'état physiologique, de la saison et de la taille / poids de la portée à la mise bas. De ce fait, le type génétique et l'origine génétique du lait tété sont les seuls paramètres pouvant faire varier les taux de mortalité et la croissance des lapereaux sous la mère.

En tenant compte du taux de mortalité en baisse et du poids de la portée qui augmente, la consommation du lait PB par les lapereaux SS semble affecter négativement la survie de ces derniers. A l'opposé, la consommation de lait SS par les lapereaux PB semble être bénéfique.

Pour résumer :

- **L'origine génétique du lait semble avoir un effet très significatif ($P < 0,001$) sur la croissance des lapereaux en période d'allaitement.**
- **L'origine génétique du lait tété présente un effet très significatif aussi bien sur la mortalité des lapereaux sous la mère que sur leur croissance.**
- **Le lait PB tété par les lapereaux du lot SS serait à l'origine de cette baisse de la croissance et à l'augmentation du taux de mortalité.**
- **Les lapines SS semblent produire un lait en termes quantitatif et qualitatif permettant une meilleure survie des lapereaux PB ainsi qu'une croissance plus rapide.**

L'ensemble de ces observations montre un lien entre la mortalité néonatale des lapereaux et la nature du lait ingéré. Ce lien est d'autant plus pertinent que des différences au niveau de la teneur en protéines entre les laits SS et PB ont été mis en évidence. Cette hypothèse nous a donc conduits à effectuer une étude approfondie de la composition fine du lait, notamment au niveau de la fraction protéique.

5-Analyse fine de la fraction protéique du lait de lapine PB et SS

Ce travail vise à compléter l'expérimentation précédente dont les résultats semblent indiquer que le lait PB pourrait renfermer des composants qui seraient à l'origine du fort taux de mortalité enregistré au sein de la population blanche. Il est basé sur l'hypothèse selon laquelle la qualité du lait ingéré pendant la période néonatale, notamment au niveau de la fraction protéique, aurait un effet sur la viabilité des lapereaux. De ce fait nous avons procédé dans un premier temps, à l'analyse fine de la fraction protéique des échantillons de lait collectés sur les animaux témoins de l'expérimentation précédente.

5-1- Etude expérimentale

5-1-1- Choix des échantillons et des techniques d'analyse

Trois séries d'échantillons de lait ont été analysées chez les deux types génétiques de lapines PB et SS:

- dans un premier temps, 10 échantillons de lait mature collectés au 10^{ème} jour de la lactation (L10).
- Dans un deuxième temps, 30 échantillons de lait collectés formant 3 points de cinétique répartis sur les 3 semaines de lactation (L7, L14 et L21).
- Enfin, 30 échantillons collectés durant la période colostrale à 2 temps différents : d'une part, à la mise bas (L1) et, d'autre part, avant la première tétée des lapereaux, au 5^{ème} jour de lactation (L5).

L'ensemble des échantillons a été soumis à un dosage des protéines totales (Kit BCA) et analysé par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS). De plus, afin de déterminer les masses moléculaires des lactoprotéines avant modifications post-traductionnelles, permettant le calcul de la masse de la séquence peptidique de la protéine, un échantillon de lait a été analysé en LC-MS après déphosphorylation et déglycosylation. Enfin, parmi les échantillons analysés en LC-MS, l'un d'entre eux, présentant un profil caractéristique, a été analysé en utilisant une approche bidimensionnelle faisant appel dans un premier temps à une séparation des lactoprotéines majeures par LC-MS (1^{ère} dimension). Les fractions d'intérêt collectées ont ensuite été séparées par électrophorèse (SDS-PAGE, 2^{ème} dimension).

5-1-2-Dosage du taux protéique (Kit BCA)

Le mode opératoire de cette méthode figure en Annexe 5.

5-1-3-Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS)

Ces analyses ont été effectuées sur les échantillons des laits PB et SS prélevés à différents stades de lactation. Le principe de cette méthode est basé sur le couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse de type ESI-Tof. Cette approche permet dans un premier temps la séparation des protéines sur une colonne de chromatographie de phase inverse (RP-HPLC), par l'utilisation d'un gradient croissant de solvant organique (acétonitrile, ACN) et dans un deuxième temps, la détermination des masses moléculaires natives des protéines d'intérêt par passage sur un spectromètre de masse muni d'une source d'ionisation de type ESI (Electron Spray Ionisation) couplé à un détecteur à Temps de Vol, Tof (Time of Flight).

5-1-3-1- Ecrémage et clarification des échantillons

Un millilitre de chaque échantillon de lait entier a été chauffé à 37°C pendant 5min, puis écrémé par centrifugation à 2000 *g*, à 4°C pendant 20 min. Après écrémage, le lait a été dilué 5 fois (vol/vol) avec de l'eau osmosée ou déionisée. Les échantillons de lait écrémé ainsi dilués, ont par la suite été « clarifiés » dans une solution dite de “clarification” (Tampon Bis-Tris 0,1 M, pH 8,0, contenant 1,3 % de citrate trisodique, 8M urée et 0,3 % de DTT) qui va permettre de dissocier la structure micellaire des caséines (citrate) et d'éliminer les interactions hydrophobes (urée) ainsi que les ponts disulfures (DTT) existants entre les différentes caséines. Dans le cas du lait de lapine, 20 µL de lait écrémé dilué 5 fois ont été repris dans 300 µL de solution de clarification.

5-1-3-2- Analyse LC-MS des laits

Dix microlitres d'échantillon de lait écrémé et clarifié ont été injectés dans une colonne Discovery® BOWide Pore (Supelco) C5 (150 x 2,10 mm, 300 Å). La RP-HPLC a été réalisée avec un système Ultimate LC 3000 (Thermo Fisher Scientific). Au cours de l'analyse, l'échantillonneur automatique a été maintenu à 10°C et la colonne a été maintenue à 35°C. La phase mobile de la colonne était constituée du mélange de 2 solvants : solvant A (0,025% d'acide trifluoroacétique (TFA) dans de l'eau ultra pure, vol/vol) et solvant B (0,02% de TFA dans ACN, vol/vol) à un débit de 0,2 mL/min. Les conditions d'élution étaient un gradient linéaire de solvant B comme suit : 30% pendant 2 min, 32 à 39% pendant 15,5 min et de 39 à 45% pendant 14 min. Ce gradient a été suivi d'une élution isocratique à 95% de solvant B pendant 5 min, et retour linéaire à 29,5% de solvant B en 0,1 min. La colonne a ensuite été

rééquilibrée dans les conditions de départ (29,5% de solvant B), pendant 10 min. Les protéines éluées ont été détectées par leur absorbance UV à 214 nm. La colonne était directement interfacée avec un spectromètre de masse ESI-TOF "focus microtof™ II" (Bruker Daltonics, Wissembourg, France) et l'effluent liquide a été nébulisé dans la source d'ionisation (ESI). La pression du gaz de nébulisation (N₂) a été maintenue à 2,5 bars et le débit du gaz de séchage (N₂) à 8,0 L/min à 200°C. Le système LC/ESI-MS a été contrôlé par le logiciel Hystar v.2.3 (Bruker Daltonics). Le nombre de charges des ions multichargés, les spectres de masse déconvolués et la détermination de la masse moléculaire moyenne (Mr) ont été obtenus à partir du logiciel Data Analysis v.3.4 (Bruker Daltonics). Un échantillon « blanc » a été injecté après chaque échantillon de lait pour éviter les effets de transfert.

Les profils chromatographiques en UV 214nm ont été analysés à l'aide du logiciel Chromeleon (Chromeleon 7.0.0, Dionex, Thermo Fisher Scientific). Les variants génétiques et les isoformes des lactoprotéines majeures ont été identifiés par comparaison des masses moléculaires observées aux masses moléculaires théoriques des lactoprotéines de lapine répertoriée dans une base de données construite au laboratoire par le Dr Guy Miranda (guy.miranda@inra.fr). La quantification des lactoprotéines majeures de lapine a été réalisée après intégration de la surface des pics du chromatogramme à 214nm. Les valeurs ont été exprimées en pourcentage de la surface totale des pics.

5-1-4- Déphosphorylation et déglycosylation des protéines majeures du lait

Certaines des protéines majeures du lait de lapine sont phosphorylées (caséines κ , α_{S1} , α_{S2} , α_{S2} like, β et WAP), voire glycosylées dans le cas de la caséine κ . Ces différentes isoformes (de phosphorylation et glycosylation) ont été identifiées par comparaison des masses moléculaires observées en LC-MS avec les masses théoriques contenues dans la base de données. Toutefois pour certaines protéines, notamment la caséine κ et certains nouveaux variants, leurs masses natives (séquence peptidique hors modifications post-traductionnelles) demandent à être précisées et confirmées. Pour ce faire, il était nécessaire au préalable d'effectuer une déphosphorylation des lactoprotéines majeures ainsi que plus spécifiquement, une déglycosylation de la caséine κ .

5-1-4-1-Déphosphorylation

La déphosphorylation a été effectuée avec l'enzyme « Calf Intestinal alkaline Phosphatase » (CIP, Sigma-Aldrich). Dix microlitres de lait de lapine (correspondant à environ 1 mg de

caséines), auxquels sont ajoutés 50 μL d'eau osmosée, sont incubés préalablement à 100°C pendant 5 min, afin d'inhiber l'activité de protéases pouvant être présentes dans l'échantillon. Après avoir été refroidie à température ambiante, la solution est ensuite desséchée au « speedvac » (évaporateur rotatif sous vide) pendant une heure, puis suspendue de nouveau dans 500 μL de tampon CIP à pH 7,9 préalablement préparé (100 mM NaCl 0,585 g/100 mL, 50 mM Tris-HCl 0,79 g/100 mL, 10 mM MgCl_2 0,204 g/100 mL, 1 mM DTT 15,5 mg/100 mL). Un microlitre de phosphatase (10U) est ajouté, puis le mélange est incubé à 37°C pendant au moins 18 heures.

5-1-4-2-Déglycosylation

La déglycosylation sur les micelles de caséines concerne uniquement la caséine κ , seule protéine glycosylée. Elle a été réalisée en utilisant le kit « Enzymatic Protein Deglycosylation » (Sigma-Aldrich) selon le protocole indiqué par le fournisseur, à partir de 30 μL de lait, correspondant environ à 6,84 mg de caséine κ .

Après être séchée au « Speedvac », la solution de micelles a été diluée dans 10 μL de tampon de réaction et 2,5 μL de solution dénaturante, après homogénéisation par agitation au vortex, le mélange est incubé à 100°C durant 5 minutes, puis laissé refroidir à température ambiante. Par la suite, 2,5 μL de solution Triton X100 ont été ajoutés à la réaction, ainsi que 1 μL de PNGase F, O-glycosidase, α -(2,3,6,8,9)-Neuraminidase, β -N-Acetyl glucosaminidase et β -1-4-Galactosidase. Le mélange final a été incubé à 37°C pendant 3 heures.

5-1-5-Electrophorèse SDS-PAGE

L'électrophorèse est une méthode d'analyse qui est basée sur la migration différentielle de particules chargées électriquement sous l'effet d'un champ électrique.

5-1-5-1- Principe

Les protéines qui comportent des groupes chargés positivement ou négativement possèdent une charge globale non nulle sauf à leur pH isoélectrique, pH auquel ces charges se compensent exactement. Si on place une protéine dans un champ électrique, elle va donc migrer selon sa charge globale nette et sa taille moléculaire soit vers l'anode, soit vers la cathode et d'autant plus vite que cette charge est élevée. On peut modifier la charge nette de la protéine suivant le tampon de l'électrophorèse. Avec un tampon de pH 8,6 les protéines majeures du lait ont une charge nette négative et migrent alors vers l'anode. L'électrophorèse

peut être pratiquée sur différents supports : sur papier ou sur acétate de cellulose, ou bien sur gels, principalement d'amidon, d'agarose, de polyacrylamide agarose ou de polyacrylamide.

5-1-5-2- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide

Le gel de polyacrylamide est le produit de la polymérisation du monomère acrylamide et d'un agent de pontage habituellement le comonomère N,N'-méthylène-bis-acrylamide et ce, en présence de catalyseurs fournissant des radicaux libres dont les plus utilisés sont le persulfate d'ammonium (APS) et le N,N,N',N'-tétraméthyléthylène-diamine (TEMED). Un réseau tridimensionnel de gel est ainsi formé par un mécanisme de polymérisation. Cette structure détermine un ensemble de micro-canaux de pores dans lesquels les molécules protéiques vont pouvoir se déplacer sous l'effet plus ou moins marqué du tamisage moléculaire. La taille des pores dépend de la concentration du monomère et du comonomère. Plus le pourcentage d'acrylamide est élevé, plus la densité des chaînes est élevée et les mailles du réseau sont serrées, en conséquence moins les molécules volumineuses peuvent migrer.

Parmi les trois types d'électrophorèse sur gel polyacrylamide, celle que nous avons utilisée est l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu dénaturant (PAGE-SDS).

5-1-5-3- Electrophorèse sur gel polyacrylamide en présence de dodécyl sulfate de sodium et de 2-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

▪ Principe

La méthode utilisée est celle décrite par Laemmli (1970). Le dodécyl sulfate de sodium (SDS) est un détergent anionique et un puissant dénaturant. Il se fixe sur les protéines et les transforme en polyanions linéaires résultant du dépliement des protéines provoqué par l'agent dénaturant. En effet, lorsqu'il se trouve associé à un agent réducteur chargé de rompre les liaisons dissulfures, à savoir le mercaptoéthanol (2-ME) et à température élevée (5 min, à 100 °C), il permet la dissociation de la plupart des polypeptides et confère aux protéines de fortes charges négatives (**Figures 62, 63**).

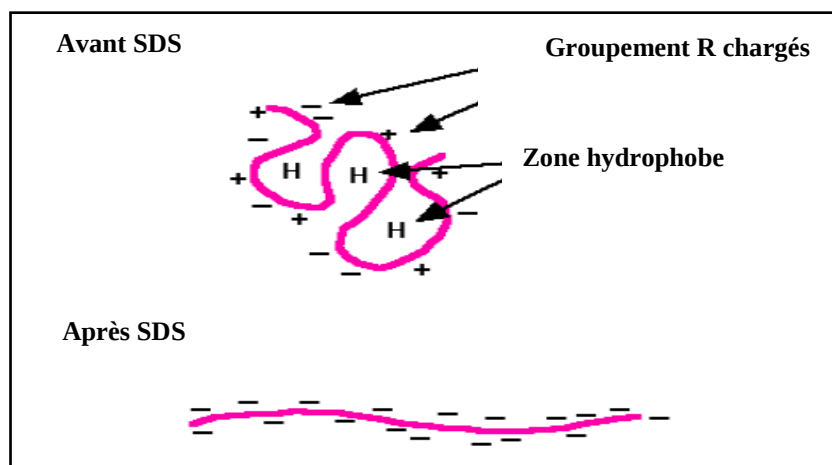


Figure 62 : Fixation du SDS sur les chaînes polypeptidiques.

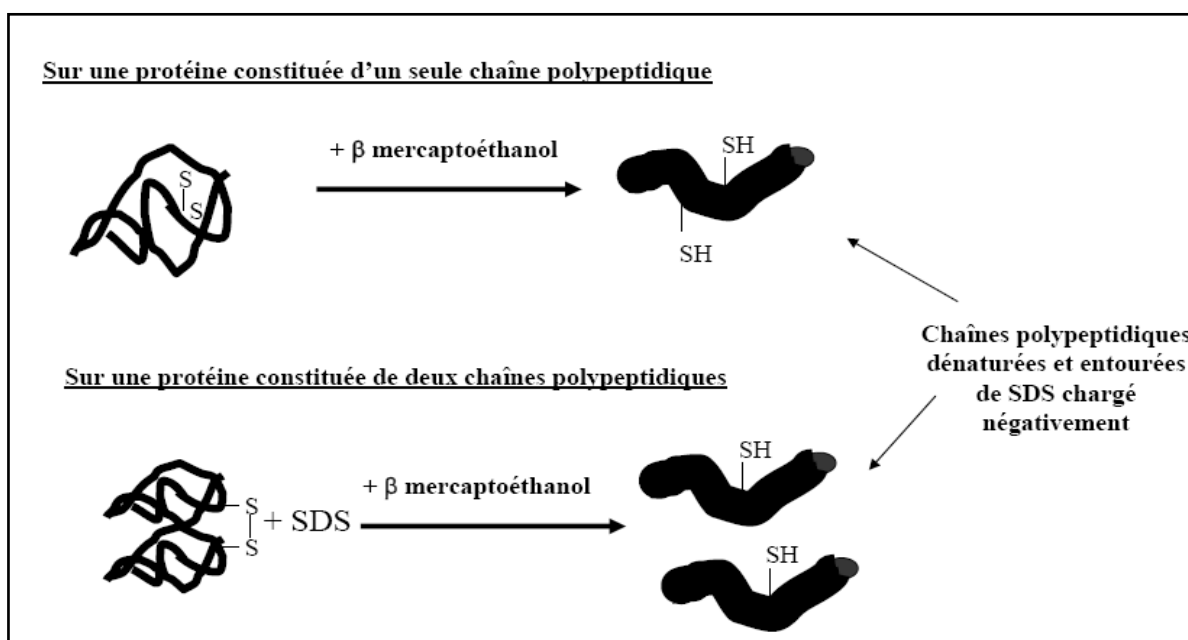


Figure 63 : Action du SDS en présence du mercaptoéthanol sur les protéines.

Les protéines ainsi chargées vont migrer vers l'anode et ne seront séparées que selon leurs tailles dans le gel de porosité appropriée.

L'électrophorèse PAGE-SDS utilise un système polyphasique comprenant deux types de gels superposés :

- Un gel supérieur, appelé de concentration (stacking gel), faiblement réticulé qui n'exerce aucun effet de tamisage sur les protéines. Cependant il permet la concentration de l'échantillon avant sa pénétration dans le gel inférieur.
- Un gel inférieur dit de séparation (running gel), à travers lequel les protéines migrent selon leurs poids moléculaires.

▪ Mode opératoire

Afin d'harmoniser les quantités de protéines déposées sur les gels, un dosage protéique (Kit BCA) a été réalisé sur les échantillons de lait écrémés. En fonction de la teneur en protéines totales, une dilution *ad hoc* est effectuée de façon à avoir la même concentration en protéines déposées dans chaque puits pour l'ensemble des échantillons, à savoir 50µg/µl.

-Dénaturation des extraits protéiques

Les protéines du lait sont dénaturées pendant 5min à 40°C dans du tampon de Laemmli (50 mM Tris-HCl, pH 6,8, 10%β-mercaptoéthanol, 1,5% SDS, 20% sucrose, 0,05% bleu de bromophénol).

- Migration des protéines en électrophorèse sur gel polyacrylamide en présence du dodécyl sulfate de sodium et du 2-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

Les protéines migrent sur le gel polyacrylamide en conditions dénaturantes à 12% sous l'action d'un champ électrique à 80V/30 min, puis à 120V/40 min. La séparation et la migration (vitesse et distance) des protéines sont dépendantes du facteur poids moléculaire. L'ensemble de la technique est résumé dans la **Figure 64**.

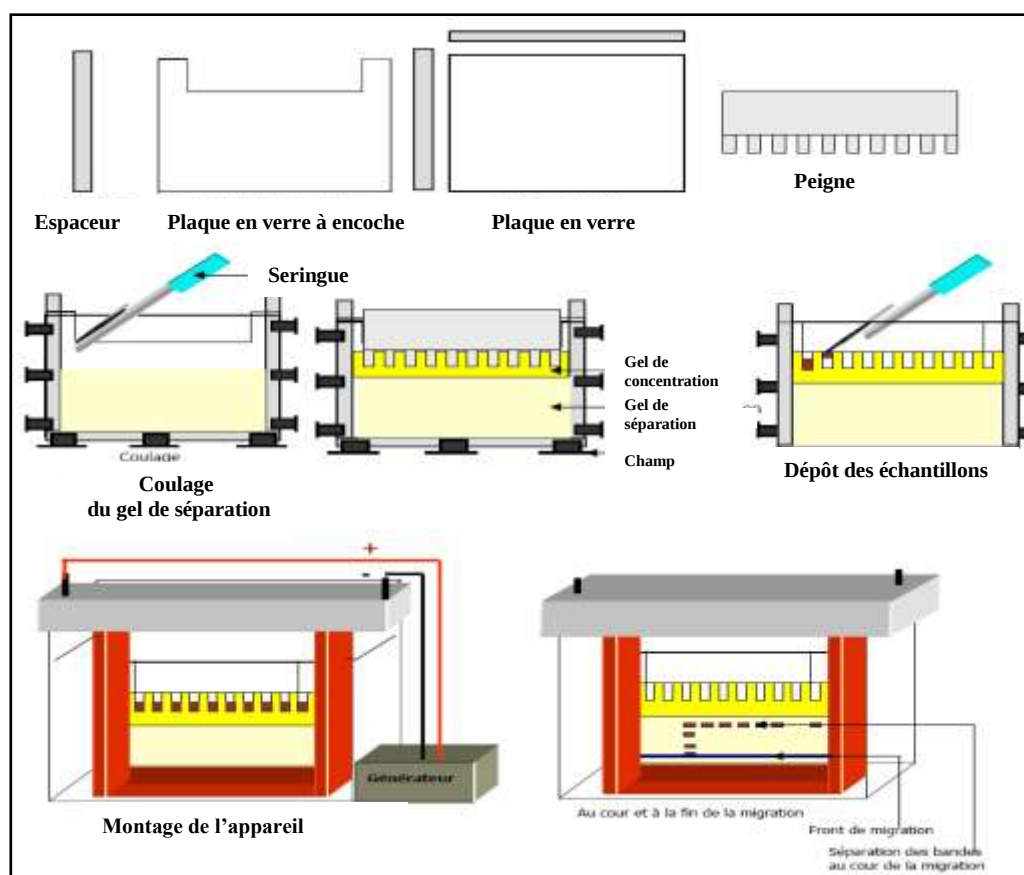


Figure 64 : Illustration schématique de la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE-SDS)

-Préparation des gels :

Les plaques en verre doivent être préalablement bien lavées (à l'éthanol) avant d'être placées en vis-à-vis et l'espace choisi permet une séparation de 0,75 mm entre les deux plaques. Le gel de séparation est coulé en premier lieux.

-Gel de séparation 12%

Volume final	5 mL
H ₂ O	1,6mL
30% Acrylamide Mix 29:1	2mL
Tris 1,5M pH 8,8	1,3mL
SDS 10%	0,05mL
APS 10%	0,05mL
TEMED	0,002mL

Pendant la polymérisation du gel de séparation, on procède à la préparation du gel de la concentration.

-Gel de concentration (4%)

Volume final	3 mL
H ₂ O	2mL
30% Acrylamide Mix 29:1	0,5mL
Tris 1M pH 6,8	0,38mL
SDS 10%	0,03mL
APS 10%	0,03mL
TEMED	0,003mL

-Coloration du gel en SDS-PAGE

La coloration du gel en SDS-PAGE se fait dans une solution de bleu de Coomassie pendant 30 minutes, sous agitation. La décoloration nécessite deux solutions : le décolorant I pendant 20 min et le décolorant II pendant 8heures. Les solutions utilisées sont les suivantes :

-Colorant :

1-0,2% de bleu de Coomassie à dissoudre dans un peu d'eau d'H₂O distillée

2-50% de méthanol RP

3- Dissolution 30 min sous agitateur magnétique

4- 10% d'acide acétique

5- Dissolution 15 min avec agitation

-Décolorant I :

1-Méthanol 50%

2-Acide acétique 10%

3-Agitation

-Décolorant II :

1-Méthanol 25%

2-Acide Acétique 7,5%

3- Agitation

Une fois décoloré, le gel est scanné et/ou conservé dans de l'eau désionisée à 4°C.

5-2- Résultats et discussion

5-2-1- Etude descriptive des laits de type PB et SS

5-2-1-1- Identification des protéines majeures du lait de lapine par LC-MS

L'analyse par LC-MS de chaque lait individuel a permis d'identifier les caséines κ , α_{s2} , α_{s2} -like, α_{s1} et β correspondant respectivement aux pics A, C, (F1 et F2), (G1 et G2) et H ainsi que les protéines sériques lactoferrine, WAP (Whey Acidic Protein), α -lactalbumine (α -Lac) et sérumalbumine (SA) correspondant respectivement aux pics B, (D1 et D2) et E (**Figure 65**). L'identification des différents pics a été réalisée par comparaison des masses moléculaires observées en LC-MS avec celles théoriques référencées dans les bases de données protéiques (Uniprot, <http://www.expasy.org/>).

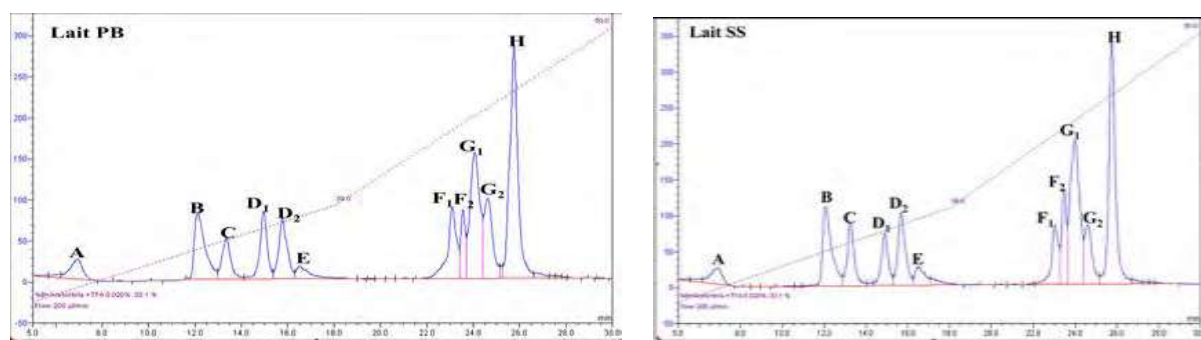


Figure 65 : Identification des protéines majeures des laits des lapines PB et SS.

Pic A : Cas κ + κ glycosylée, pic B : Lactoferrine, pic C : cas α_{s2} , pics D1 et D2 : WAP, pic E : α -lactalbumine + Sérumalbumine, pics F1 et F2 : cas α_{s2} -like, pics G1 et G2 : cas α_{s1} , pic H : cas β

La WAP ainsi que les caséines α_{s2} -like (cas α_{s2} -like) et α_{s1} (cas α_{s1}) sont présentes sous forme de 2 pics (isoformes) correspondant à des degrés de phosphorylation différents : D1 (WAP-1P), D2 (WAP-2P), F1 (Cas α_{s2} -like-2 à 6P), F2 (Cas α_{s2} -like-7P), G1 (Cas α_{s1} -6P), G2 (Cas α_{s1} -7P) (**Figure 66**).

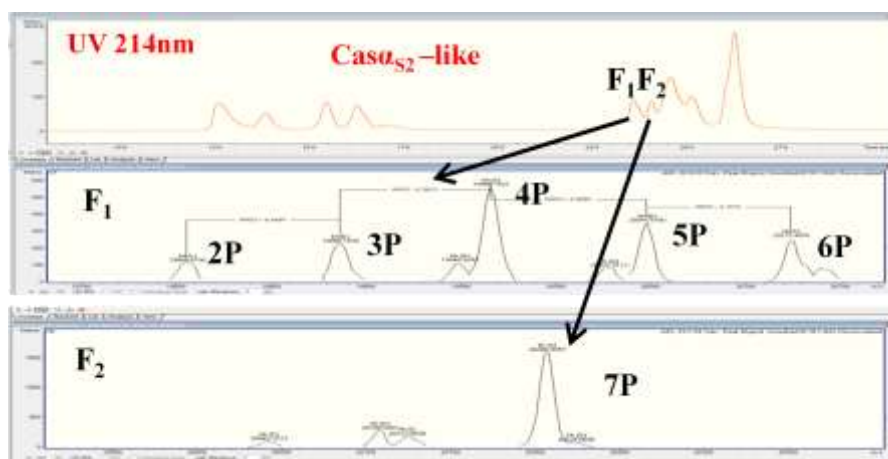


Figure 66 : Isoformes de phosphorylation de la caséine α_{s2} -like dans le lait de type PB.

L' α -lactalbumine et la sérumalbumine sont quant à elles co-éluées (pic E).

5-2-1-2- Comparaison des laits de type PB et SS et quantification des lactoprotéines majeures

Les profils chromatographiques de 7 laits collectés au 10^e jour de lactation (3 de type PB et 4 de type SS) ont été comparés. Cette analyse a permis d'observer une relative homogénéité des profils au sein d'une même population et entre populations. Toutefois des différences d'intensité relative peuvent être observées au niveau des laits de type SS, dans le cas de la caséine α_{s2} et le mélange α -Lac + SA (**Figure 67**, flèches noires).

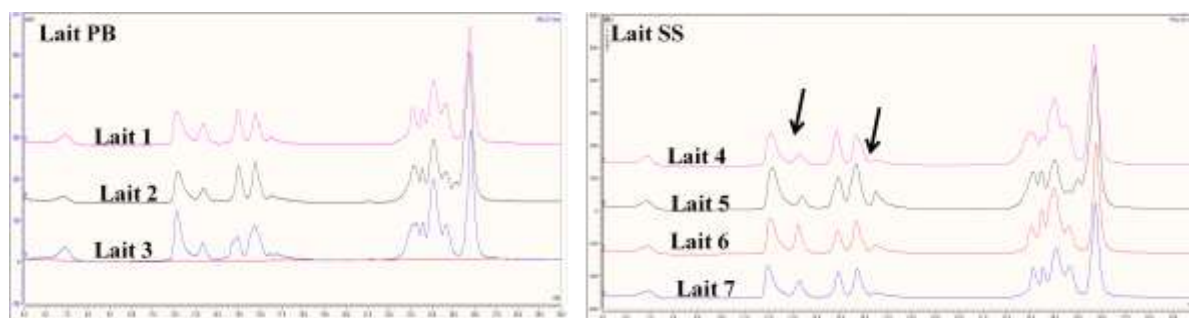


Figure 67 : Profils chromatographiques des laits de type PB (laits 1, 2, 3) et SS (laits 4, 5, 6, 7).

Une quantification relative des lactoprotéines majeures a été effectuée (surface des pics correspondant à une protéine donnée surface totale des pics du chromatogramme). Quel que soit le type génétique, les moyennes des proportions relatives de chacune des lactoprotéines majeures ne présentent pas de différence significative (test statistique de Mann-Whitney) (**Tableau 36**).

Tableau 36 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des lactoprotéines majeures des laits de lapines.

		Type PB (n=3)	Type SS (n=4)
Caséines	κ	$2,9 \pm 0,25$	$2,4 \pm 0,29$
	α_{s2}	$3,8 \pm 0,17$	$4,2 \pm 1,12$
	α_{s2} -like	$13,8 \pm 0,06$	$13,3 \pm 0,58$
	α_{s1}	$23,3 \pm 0,09$	$24,1 \pm 2,25$
	β	$26,9 \pm 0,12$	$26,4 \pm 2,22$
Total caséines		$70,6 \pm 0,01$	$70,4 \pm 1,36$
Protéines sériques	Lactoferrine	$9,6 \pm 0,08$	$10,4 \pm 0,50$
	WAP	$14,7 \pm 0,73$	$14,4 \pm 0,80$
	α -Lac + SA	$2,2 \pm 0,13$	$2,8 \pm 0,45$
Total PS		$26,5 \pm 0,06$	$27,6 \pm 1,61$
Autres pics		$2,9 \pm 0,28$	$2,0 \pm 0,44$
Total		100	100

Les valeurs indiquées correspondent à la moyenne $\pm$ SEM (erreur standard à la moyenne)

α -Lac : α Lactalbumine ; SA : Sérum Albumine

Nous pouvons toutefois noter une plus forte dispersion autour de la moyenne dans le cas de la caséine α_{s2} et du mélange α -Lac + SA chez les individus du type génétique SS ($CV_{\alpha_{s2}} = 0,239$ pour PB vs. 0,457 pour SS et $CV \alpha$ -Lac + SA = 0,190 pour PB vs. 0,274 pour SS).

5-2-2- Mise en évidence de l'existence de nouveaux variants des lactoprotéines majeures

Pour conforter les premiers résultats obtenus sur un nombre restreint d'échantillons de lait, une nouvelle collecte de lait a été entreprise en Algérie au stade 10^e jour de lactation (L10) et 4 échantillons supplémentaires par population ont été analysés. De plus, nous avons été amenés à modifier les conditions d'élution en faisant varier le gradient afin d'améliorer la séparation des caséines α_{s2} -like, α_{s1} et β en fin de chromatogramme.

La comparaison des chromatogrammes des laits issus des 2 populations PB (**Figure 68**) et SS (**Figure 69**) montre une hétérogénéité de la population PB par rapport à la population SS. Si on ne voit pas de différences quantitatives entre les lactoprotéines des deux souches, des

différences qualitatives majeures sont néanmoins observées entre SS et PB, suggérant l'existence de polymorphismes génétiques des protéines majeures, notamment au niveau des caséines- α_{s2} et α_{s1} . En effet, on note chez certains laits issus des lapines PB l'absence du pic correspondant à la caséine α_{s2} au niveau de leur profil chromatographique. De même, en ce qui concerne la caséine- α_{s1} , on observe la disparition de certains pics.

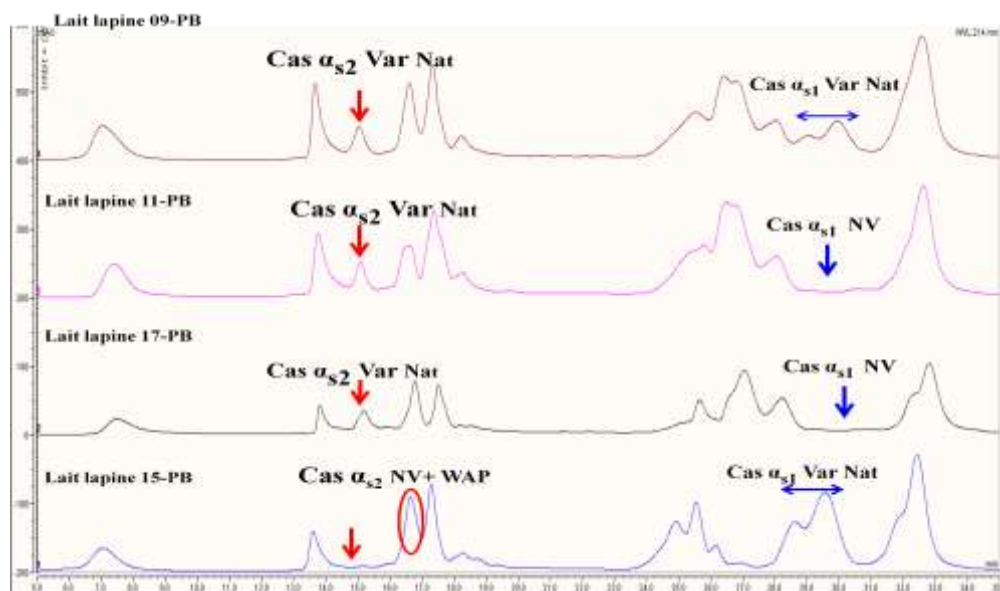


Figure 68 : Comparaison des profils chromatographiques des laits collectés sur les lapines PB au stade L10.

NV : Nouveau Variant ; Var Nat : Variant Naturel

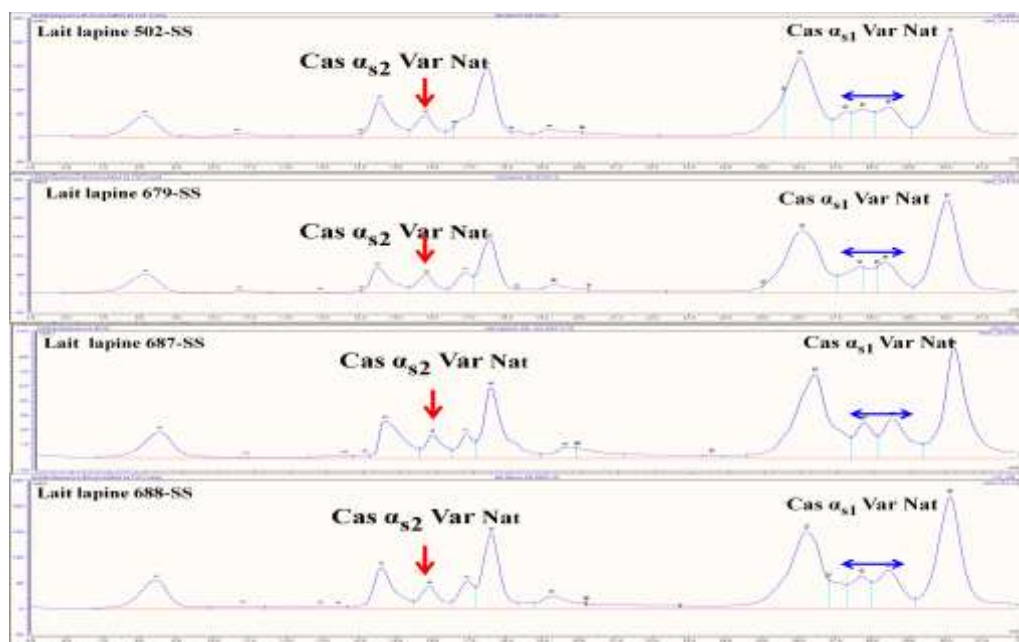


Figure 69 : Comparaison des profils chromatographiques des laits collectés sur les lapines SS au stade L10.

Var Nat : Variant Naturel

5-2-3- Mise en évidence de nouveaux variants génétiques par analyse LC-MS

L'analyse de l'ensemble des échantillons de laits PB et SS par LC-MS a permis de confirmer l'existence de variants génétiques nouveaux pour les caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} . Ainsi deux nouveaux variants ont été identifiés pour la caséine α_{s2} (Variants B et C), un nouveau variant pour la caséine α_{s2} -like (Variant B) et un nouveau variant pour la caséine α_{s1} (Variant B). La mise en évidence de ces nouveaux variants par LC-MS est illustrée ci-dessous au niveau de deux échantillons de lait issu de la population blanche (laits PB 400 et PB 579).

5-2-3-1- Mise en évidence des nouveaux variants (variants B) des caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} dans l'échantillon de lait PB 400

L'analyse LC-MS de cet échantillon a permis de déterminer son phénotype au locus des caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} par comparaison des masses moléculaires observées sous chacun des pics du chromatogramme UV (214nm), avec les masses moléculaires théoriques des lactoprotéines majeures du lait de lapine et de leurs isoformes et de mettre ainsi en évidence la présence de nouveaux variants putatifs (**Tableau 37**).

Tableau 37 : Détermination des variants génétiques des lactoprotéines majeures du lait de la lapine PB 400.

LAIT PB 400					
	Masses observées des isoformes majoritaires (Da)	Intensité du Signal de Masse (ISM)	Variants naturels	Masse théorique (Da)	Nouveaux variants putatifs
Pic 1			κ glycosylée		
Pic 2	76803,04	4437	TRFE Var Nat - 10P	75685,97	
Pic 3	20246,89	4529	α_{s2} Var Nat - 4P	20246,5715	
Pic 4	11680,95	2746	WAP Var Nat - 1P	11681,4218	
Pic 5	11761,37	19508	WAP Var Nat - 2P	11761,4018	
	21134,61	1335			α_{s2} Var B - 4P ??
Pic 6	66070,14	902	SA Var Nat - 1P	66095,39	
Pic 7	19885,36	188			α_{s2} -like Var B - 3P ??
	19965,28	468			α_{s2} -like Var B - 4P ??
	20043,31	840			α_{s2} -like Var B - 5P ??
	20125,33	404			α_{s2} -like Var B - 6P ??
Pic 8	20205,81	15050			α_{s2} -like Var B - 7P ??
	24404,26	4008	α_{s1} Var Nat (-1Q) - 7P	24403,7316	
	24533,15	6417	α_{s1} Var Nat - 7P	24531,8616	
Pic 9	24321,68	533	α_{s1} Var Nat (-1Q) - 6P	24323,7526	
	24452,08	541	α_{s1} Var Nat - 6P	24451,8826	
Pic 10	24289,15	1577			α_{s1} Var B - 7P (-1Q) ??
	24417,41	1813			α_{s1} Var B - 7P ??
Pic 11	24209,27	3305			α_{s1} Var B - 6P (-1Q) ??
	24337,16	3406			α_{s1} Var B - 6P ??
Pic 12	24856,58	57796	β Var Nat conflit- 4P	24855,874	

TRFE : lactoferrine ; WAP : Whey Acidic Protein ; SA : sérumalbumine ; Var Nat : Variant Naturel ; β Var Nat conflit : caséine β décrite par Thepot et al., (1991) dans la data base UniProt mettant en évidence un « conflit » dans la séquence nucléotidique décrite initialement par Shaerer et al., (1988).

La masse observée dans notre échantillon de lait correspond à celle de Thepot et al., (1991).? : Identification

- Caséine α_{S2}

La caséine α_{S2} est présente sous forme hétérozygote Variant Naturel/Variant B. Le Variant Naturel (Var Nat) correspond au pic 3, alors que le Variant B est présent dans le pic 5 en mélange avec la WAP (**Figure 70**). Par ailleurs, l'intensité du signal de masse (ISM) du Variant B (1335) de la caséine α_{S2} est environ 4 fois plus faible que celle du Variant Naturel (45529), ce qui suggère que le Variant B pourrait constituer un variant quantitatif, c'est-à-dire que l'allèle correspondant est plus faiblement exprimé par rapport à celui codant pour le Variant Naturel. La masse observée du nouveau variant de la caséine α_{S2} (21134,61) présente un différentiel de masse (Δm) de +887,72 Da par rapport à la masse du Variant Naturel (20246,89), ce qui pourrait laisser supposer, compte tenu de cette valeur, une insertion d'un exon supplémentaire dans la séquence nucléotidique de la protéine. Par homologie avec la Variant Naturel, on pourrait supposer que la masse observée du Variant B correspond à l'isoforme 4P. Pour vérifier cette hypothèse il est nécessaire de déterminer la masse de la protéine déphosphorylée.

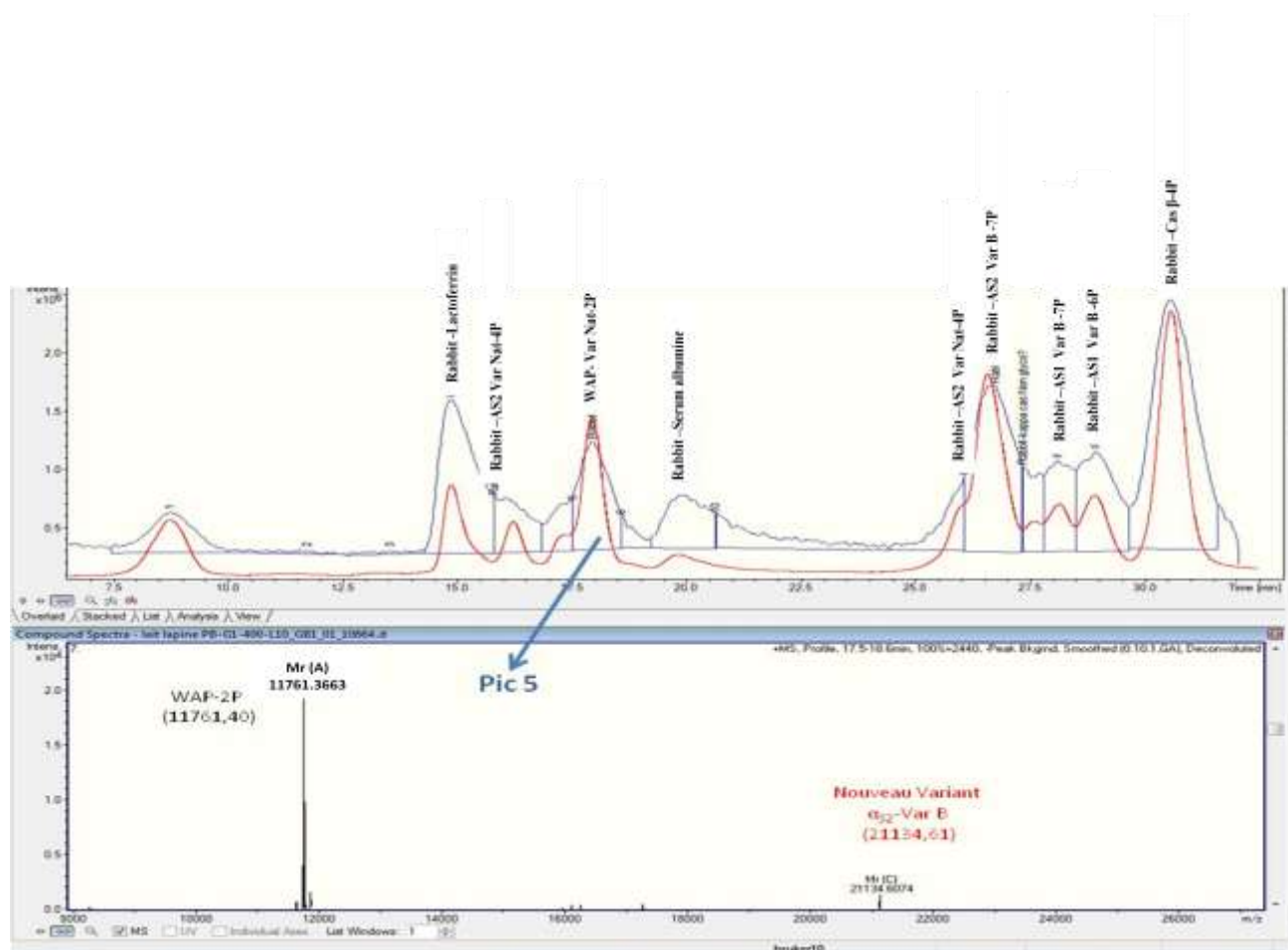


Figure 70 : Masses observées des lactoprotéines présentes sous le pic 5. 11761,37 Da correspondant à l'isoforme 2P du Variant Naturel de la WAP ; 21134,61 pouvant correspondre à l'isoforme 4P du nouveau Variant de la caséine α_{S2} (Variant B).

- Caséine α_{s2} -like

Dans les pics 7 et 8, les masses observées présentent un différentiel de masse (Δm) de -1 Da par rapport à la masse théorique des isoformes de phosphorylation du Variant Naturel (Var Nat) de la caséine α_{s2} -like. A titre d'exemple : la masse théorique de l'isoforme 6P du Var Nat (20126,25) diffère de la masse observée de 1 Da et c'est également le cas pour les isoformes de 3 à 5P. Cette observation suggère la présence d'un nouveau variant de la caséine α_{s2} -like (Variant B), différant du Var Nat de 1 Da. Cet échantillon s'avère donc être homozygote Variant B / Variant B au locus de la caséine α_{s2} -like. L'isoforme 7P du Variant B est présente dans le pic 8 en mélange avec les isoforme 7P du Var Nat de la caséine α_{s1} (Figure 71).

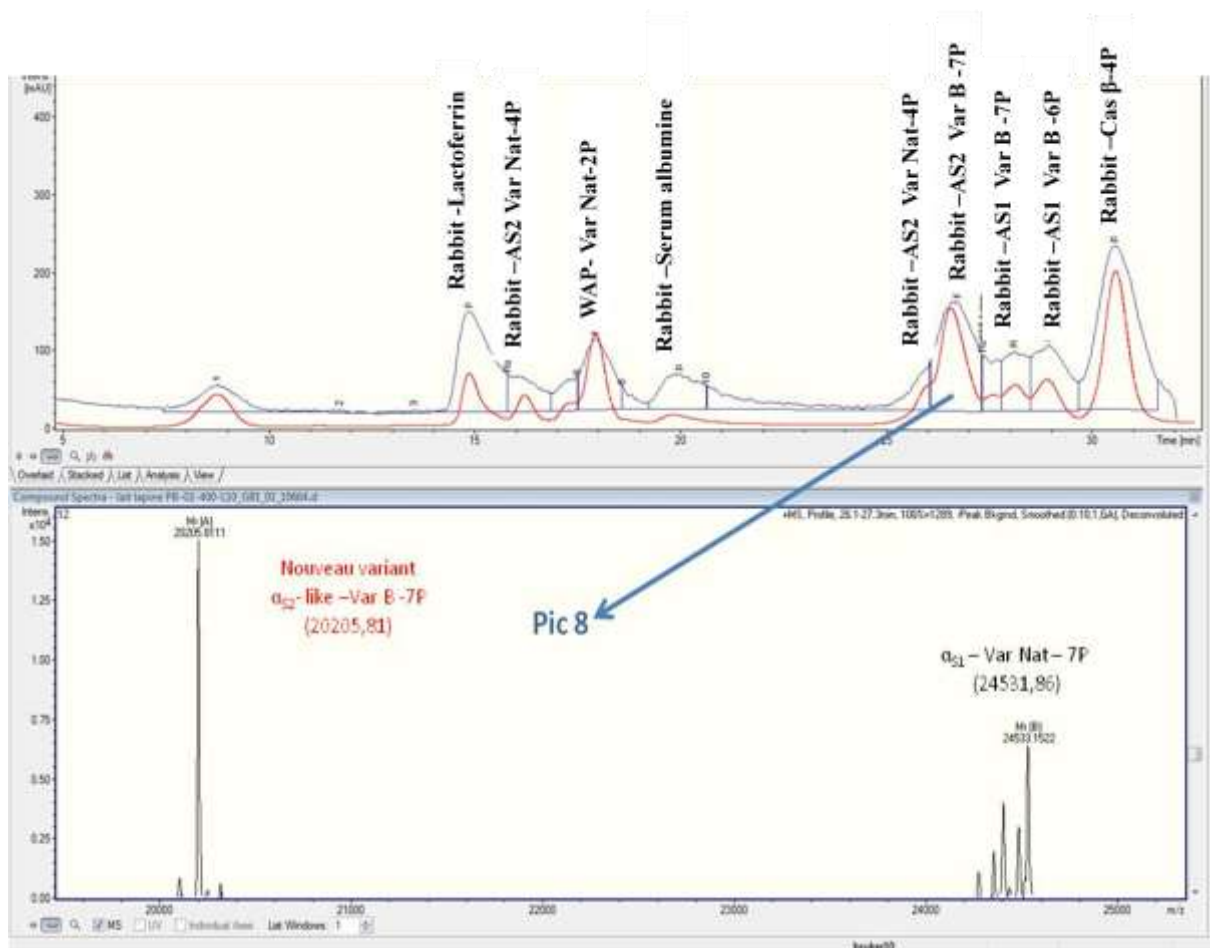


Figure 71 : Masses observées des lactoprotéines présentes sous le pic 8 du chromatogramme du lait PB 400. 20205,81 Da peuvent correspondre à l'isoforme 7P du nouveau Variant B de la caséine α_{s2} -like ; 24533,15 correspondant à l'isoforme 7P du Var Nat de la caséine α_{s1} .

- Caséine α_{s1}

Dans les pics 10 et 11, les masses observées présentent un différentiel de masse (Δm) de - 114,45 Da par rapport à la masse théorique des isoformes de phosphorylation du Var Nat de la caséine α_{s1} . A titre d'exemple : masse théorique de l'isoforme 7P du nouveau Variant B (24417,41), présente dans le pic 10 vs. masse théorique de l'isoforme 7P du Var Nat (24531,86), présente dans le pic 8, présentant un Δm de 114,45 Da. Il en est de même pour l'isoforme 6P du nouveau Variant B, présente dans le pic 11 et de l'isoforme 6P du Var Nat présente dans le pic 9. Ces observations suggèrent la présence d'un nouveau variant de la caséine α_{s1} (Variant B) différant du Var Nat d'environ 114,45 Da. Cet échantillon s'avère donc être hétérozygote Var Nat / Variant B au locus de la caséine α_{s1} (**Figure 72**).

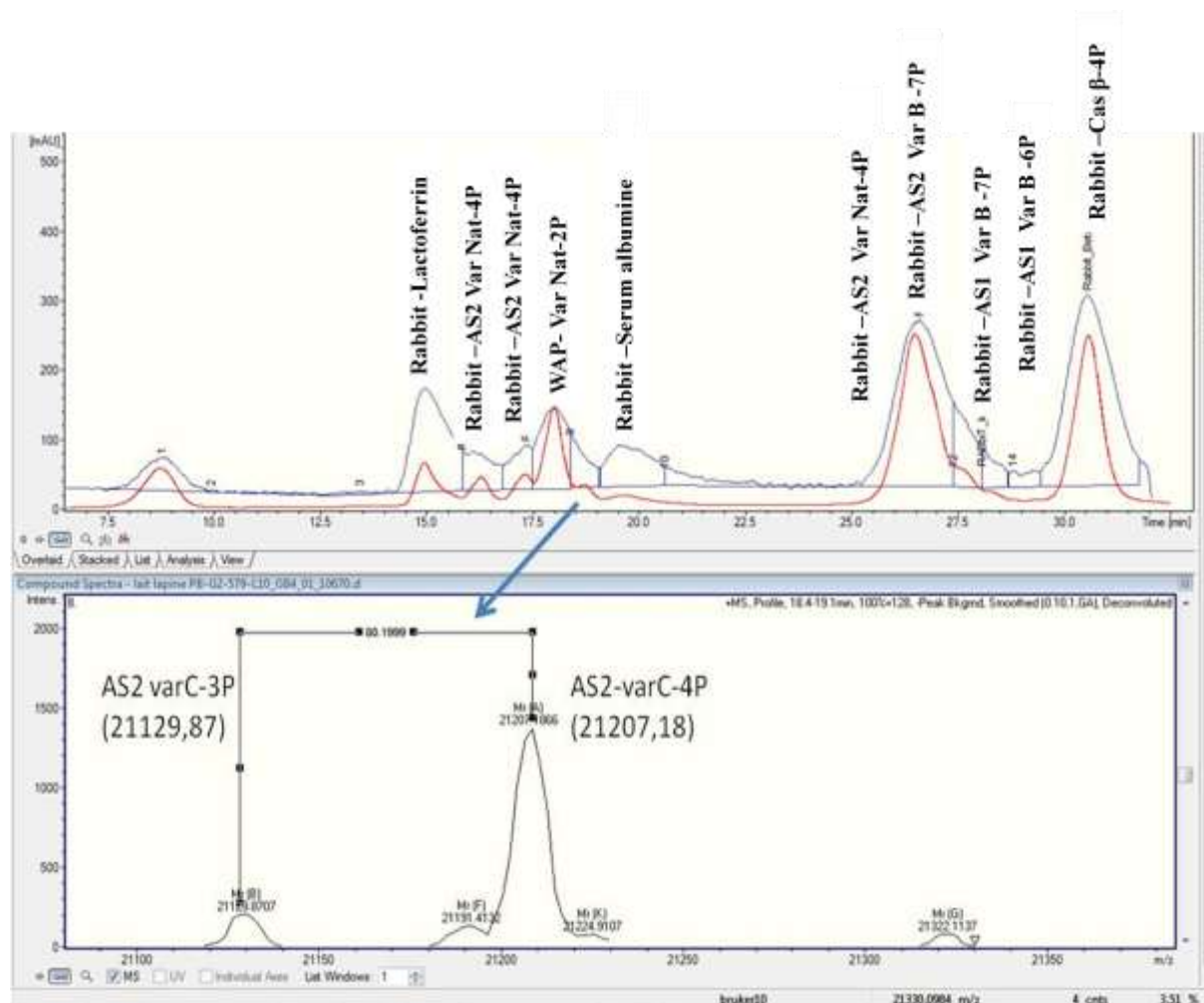


Figure 72 : Masses observées des isoformes majoritaires des lactoprotéines présentes sous le pic 10 du chromatogramme du lait PB 400. 24417,41 Da pouvant correspondre à l'isoforme 7P du Nouveau Variant B de la caséine α_{s1} ; 24289,15 pouvant correspondre à un variant d'épissage (résultant de la perte d'un résidu Gln en début d'exon) de l'isoforme 7P du nouveau Variant B de la caséine α_{s1} .

5-2-3-2- Mise en évidence du nouveau variant (Variant C) des caséines α_{s2} dans l'échantillon de lait PB 579

L'analyse LC-MS de cet échantillon a permis de mettre en évidence la présence d'un variant supplémentaire (Nouveau Variant C) de la caséine α_{s2} (**Tableau 38**).

Tableau 38 : Détermination des variants génétiques des lactoprotéines majeures du lait de la lapine PB 579.

LAIT PB 579					
	Masses observées des isoformes majoritaires	Intensité du Signal de Masse (ISM)	Variants naturels	Masse théorique	Nouveaux variants putatifs
Pic 1			κ glycosylée		
Pic 2	76807,51	2004	TRFE Var Nat -10P	75685,9700	
Pic 3	20247,58	4020	α_{s2} Var Nat -4P	20246,5715	
Pic 4	11681,53	3324	WAP Var Nat -1P	11681,4218	
Pic 5	23522,88	10301	WAP Var Nat - 2P (dimère)	11761,4018	
Pic 6	21207,18	1376			α_{s2} Var C -4P ??
Pic 7	66102,85	1051	SA Var Nat -1P	66095,3900	
	20205,52	9922	α_{s1} -like Var Nat -7P	20206,2387	
Expérimentations					
Pic 9	24323,19	1064	α_{s1} Var Nat (-1Q) -6P	24323,7526	
	24453,31	756	α_{s1} Var Nat -6P	24451,8826	
Pic 10	24856,58	65535	β Var Nat conflit -4P	24855,8740	

TRFE : lactoferrine ; SALBU : sérumalbumine ; Var Nat : Variant Naturel ; ?: identification incertaine

Ce nouveau variant a été mis en évidence au niveau du pic 6 situé entre le pic 5 correspondant à l'isoforme 2P de la WAP (pic 5) et le pic 7, correspondant à la sérumalbumine. La masse observée de l'isoforme majoritaire présente dans ce pic (21207,18 Da) montre un Δm de +960,61 Da par rapport à la masse théorique de l'isoforme 4P du Var Nat de la caséine α_{s2} (20246,57 Da).

Le nouveau Variant C pourrait dériver du nouveau Variant B mis en évidence dans l'échantillon de lait PB 400. Le différentiel de masse Δm (960,61 Da) pourrait résulter d'une mutation d'un ou plusieurs acides aminés au niveau de la séquence peptidique du nouveau Variant B (**Figure 73**).

Le différentiel de masse (72,8 Da) entre les nouveaux Variants C et B pourrait éventuellement laisser penser à une substitution Leu/Ileu (113,1 Da) vs. Trp (186,1 Da). Cette hypothèse pourrait être vérifiée par séquençage.

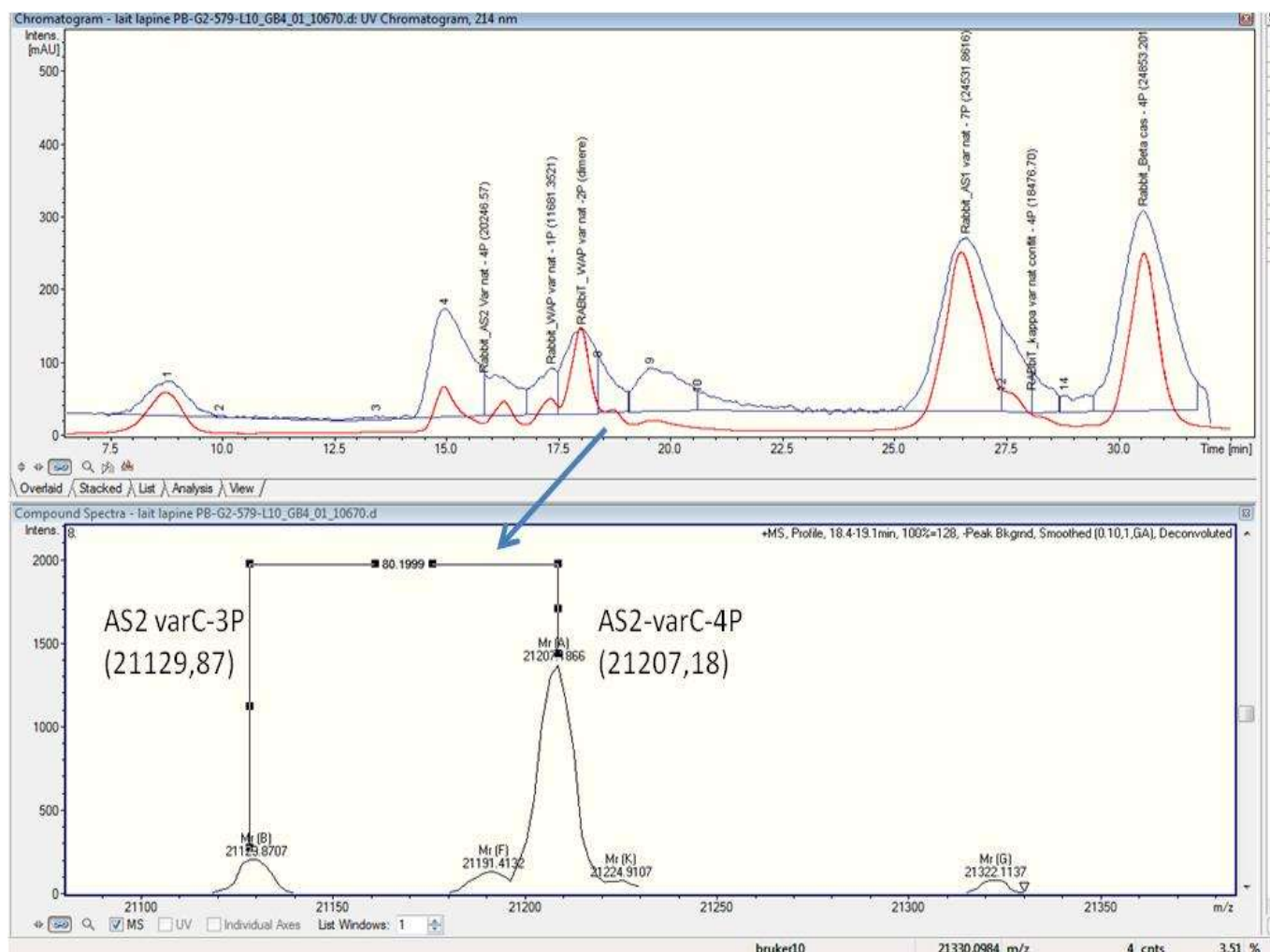


Figure 73 : Masses observées des lactoprotéines présentes sous le pic 6 du chromatogramme du lait PB 579. 21129,87 Da peuvent correspondre à l'isoforme 3P du Variant C de la caséine α_{s2} ; 21207,18 peuvent correspondre à l'isoforme 4P du Variant C de la caséine α_{s2} .

Var C : nouveau Variant C de la caséine α_{s2}

5-2-4- Détermination des masses moléculaires avant modifications post-traductionnelles des différents variants génétiques

Afin de pouvoir déterminer la masse moléculaire des variants potentiels avant modifications post-traductionnelles (séquence peptidique de la protéine), des essais de déphosphorylation (toutes les caséines) et de déglycosylation (caséine κ) ont été effectués. Les expériences de déphosphorylation et de déglycosylation ont été réalisées sur un échantillon de lait provenant de la souche SS (**Figure 74**).

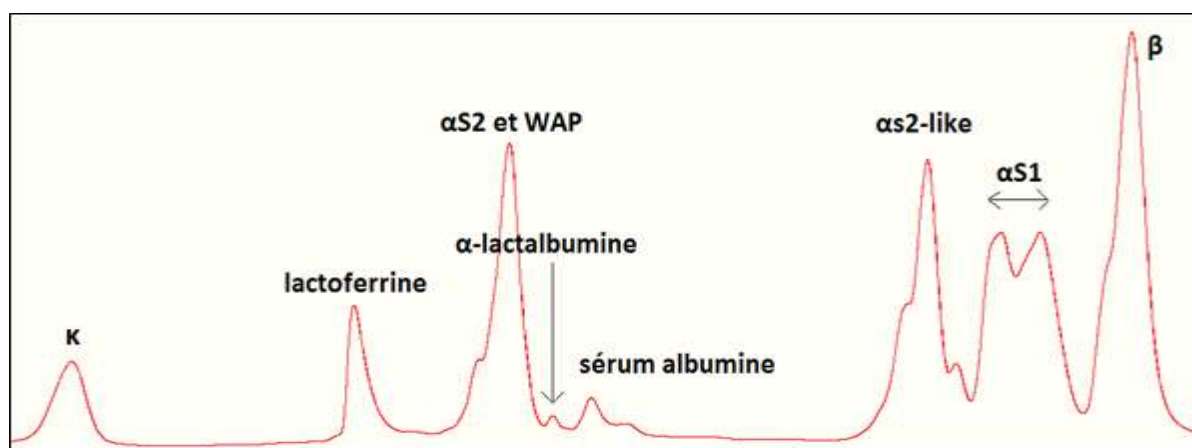


Figure 74 : Profil LC-MS d'un lait écrémé de la souche SS au 10^{ème} jour de lactation.

Afin d'éliminer les protéines du lactosérum, nous avons effectué une précipitation des micelles de caséines par centrifugation à haute vitesse (16500 *g*) à 37°C pendant 20 min. Le culot micellaire a ensuite été suspendu dans de l'eau milliQ. La solution micellaire ainsi obtenue a été analysée en LC-MS (**Figure 75**).

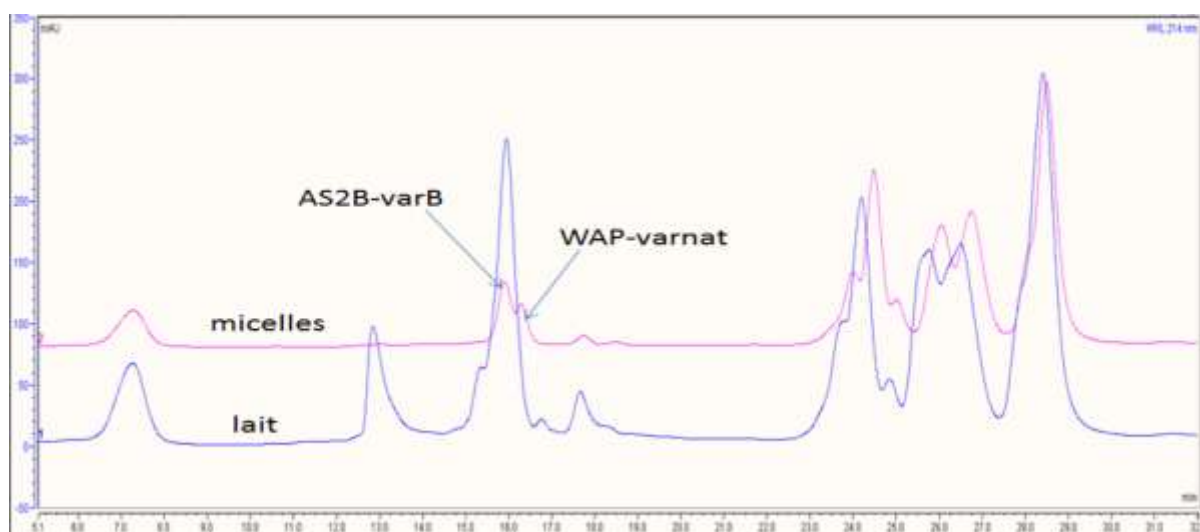


Figure 75 : Comparaison des profils chromatographiques de la solution de micelles de caséines.

AS2B-Var B : nouveau Variant B de la caséine α_{s2} ; WAP-Var Nat : Variant Nature de la WAP

La **Figure 75** montre que toutes les caséines sont présentes dans le culot de micelles ainsi que la WAP mais en concentration très faible par rapport au lait. Par ailleurs nous pouvons constater la disparition de la lactoferrine, de l' α -lactalbumine et de la sérumalbumine de la fraction micellaire.

5-2-4-1- Déphosphorylation des protéines micellaires et détermination des masses moléculaires natives

La **Figure 76** montre les profils chromatographiques obtenus en RP-HPLC avant et après déphosphorylation.

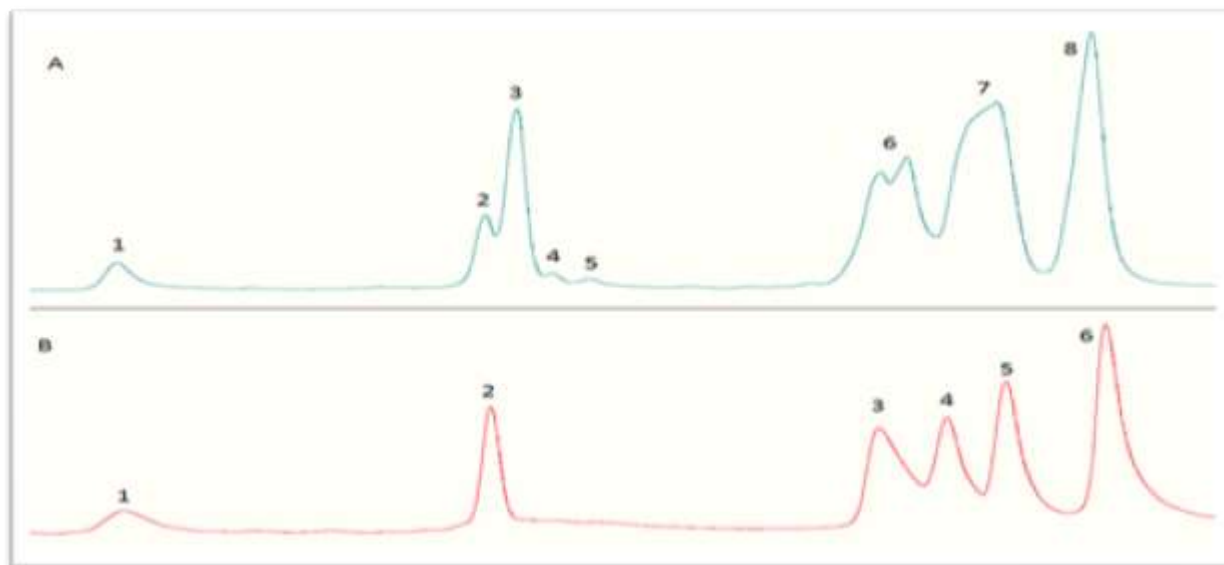


Figure 76 : Profils chromatographiques de la solution micellaire avant (A) et après (B) déphosphorylation.

La déphosphorylation a entraîné une modification du profil chromatographique obtenu. Les masses moléculaires observées dans chacun des pics du chromatogramme avant et après déphosphorylation sont indiquées respectivement dans les **Tableaux 39 et 40**.

Dans ces tableaux sont indiqués, le numéro du pic (colonne 1), les masses observées des différentes molécules présentes dans chacun des pics du chromatogramme (colonne 2), les identifications correspondantes obtenues par comparaisons des masses observées avec les masses théoriques contenues dans la base de données construite dans l'équipe LGS (colonne 3) et l'intensité du signal de masse (abondance) de chacune des molécules du mélange (colonne 4).

Tableau 39 : Masses observées dans chacun des pics du chromatogramme avant déphosphorylation.

Pic	Masses observées (dalton)	Identification (masses théoriques)	Intensité du signal de masse
2	11682,2822	WAP Var Nat -1P (11681.45)	748
3	11761,3621	WAP Var Nat -2P (11761.43)	7128
	21133,9004	α_{s2} Var B -4P (21132.99)	1494
	21053,5105	α_{s2} Var B -3P (21053.01)	578
6	20125,4262	α_{s2} -like Var B -6P (20125.32)	3981
	20205,8925	α_{s2} -like Var B -7P (20205.29)	2075
	20045,3795	α_{s2} -like Var B -5P (20045.69)	2018
	20108,6171	α_{s2} -like Var C -5P (20105.61)	1548
	20027,8799	α_{s2} -like Var C -4P (20025.63)	867
7	24336,8488	α_{s1} Var B -6P (24336.8)	3865
	24288,7149	α_{s1} Var B -7P (-1Q) (24288.64)	3550
	24209,2217	α_{s1} Var B -6P (-1Q) (24208.86)	3388
	24161,0402	α_{s1} Var B -7P (-2Q) (24160.51)	2013
	24368,3001	α_{s1} Var B -8P (-1Q) (24368.62)	1983
	24240,1695	α_{s1} Var B -8P (-2Q) (24240.49)	1812
	24416,4555	α_{s1} Var B -7P (24416.77)	1557
	24081,0313	α_{s1} Var B -6P (-2Q) (24080.54)	1171
8	24856,3702	β Var Nat conflit -4P (24855.87)	18225
	24696,1898	β Var Nat conflit-2P (24695.91)	5878
	24776,3301	β Var Nat conflit-3P (24775.89)	4064
	24727,9324	β Var Nat conflit -4P (-1Q) (24727.74)	3875
	24616,0795	β Var Nat conflit-1P (24615.93)	2803

Var B : nouveau Variant B ; Var C : nouveau Variant C ; Var Nat : Variant Naturel

Avant déphosphorylation, la solution de micelles contient toutes les isoformes de phosphorylation des caséines ainsi que celles de la WAP, pouvant aller jusqu'à 8 sites de phosphorylation selon les caséines. Après déphosphorylation (**Tableau 40**), les masses observées pour les caséines et la WAP correspondent toutes à l'isoforme 0P, entièrement déphosphorylée, indiquant ainsi que la réaction de déphosphorylation a parfaitement fonctionné.

Tableau 40 : Masses observées après déphosphorylation.

Pic	Masses observées	Identification (masses théoriques)	Intensité du signal de masse
2	11601,4296	WAP Var Nat -0P (11601,44)	1584
3	19646,5371	α_{s2} -like Var B -0P (19645,43)	996
4	23844,2084	α_{s1} Var Nat -0P (-1Q) (23843,88)	671
	23972,5859	α_{s1} Var Nat -0P (23972,01)	474
	23716,5940	α_{s1} Var Nat -0P (-2Q) (23715,75)	403
5	23728,7450	α_{s1} Var B -0P (-1Q) (23728,79)	1190
	23857,0470	α_{s1} Var B -0P (23856,92)	906
	23600,7922	α_{s1} Var B -0P (-2Q) (23600,66)	628
6	24536,0171	β Var Nat conflit-0P (24535,95)	3867
	24407,8088	β Var Nat conflit -0P (-1Q) (24407,824)	892

Var B : nouveau Variant B ; Var Nat : Variant Naturel

Les masses observées des isoformes 0P des caséines et de la WAP correspondent aux valeurs de la base de données. Il est à noter toutefois que la masse de l'isoforme 0P (20813,075) du nouveau Variant B de la caséine α_{s2} n'a pas été observée, malgré la présence des isoformes 3P et 4P dans l'échantillon déphosphorylé. De même, il est à signaler que l'échantillon de lait analysé et déphosphorylé, est homozygote Variant B / Variant B aux loci des caséines α_{s2} et α_{s2} -like, ce qui explique l'absence des variants naturels de ces deux caséines.

5-2-4-2- Déglycosylation des protéines micellaires et détermination des masses moléculaires natives

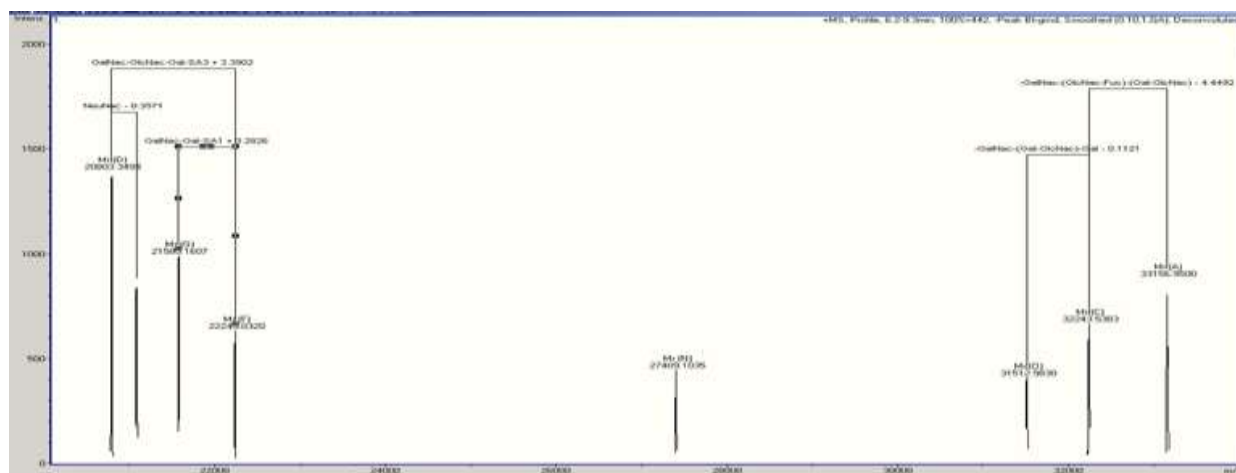
La déglycosylation ne concernant que la caséine kappa, nous nous intéresserons uniquement au pic 1 du chromatogramme. Le **Tableau 41**, indique les masses observées dans le pic 1 du chromatogramme avant et après déglycosylation des micelles de caséines.

Après déglycosylation, les masses sont plus faibles que celles présentes avant déglycosylation. Par ailleurs ces masses (surlignées en vert dans le tableau), comprises entre 18000 et 19000 Da, sont proches des masses théoriques des isoformes déglycosylées de la caséine κ (entre 18100 et 18200 Da selon les variants génétiques), ce qui laisse supposer que la réaction de déglycosylation a bien eu lieu mais qu'elle est incomplète.

Tableau 41 : Masses avant et après déglycosylation.

Caséine κ non déglycosylée		Caséine κ déglycosylée	
Masses observées (Da)	Intensité du signal de masse	Masses observées (Da)	Intensité du signal de masse
11532,6231	962	18352,6400	198
11663,3608	3026	18464,3927	384
20803,3499	1395	18514,2600	504
21094,2479	841	18542,3738	767
21589,1607	992	18593,5213	568
22249,032	633	18667,6365	386
27409,1035	447	18717,1200	457
31512,9830	409	18747,3799	760
32243,5383	667	18797,2570	450
33156,9500	884	18953,9053	350
36845,7813	940	24791,2223	231
39806,8382	490	26670,0593	234
41099,2942	414	37462,6815	252
41851,7356	531	38317,9476	208

Cette hypothèse est renforcée par l'observation des spectres de masses déconvolués du pic 1 du chromatogramme correspondant à la caséine κ , avant (**Figure 77**) et après (**Figure 78**) déglycosylation.

**Figure 77** : Spectre déconvolué du pic correspondant à la caséine κ avant déglycosylation.

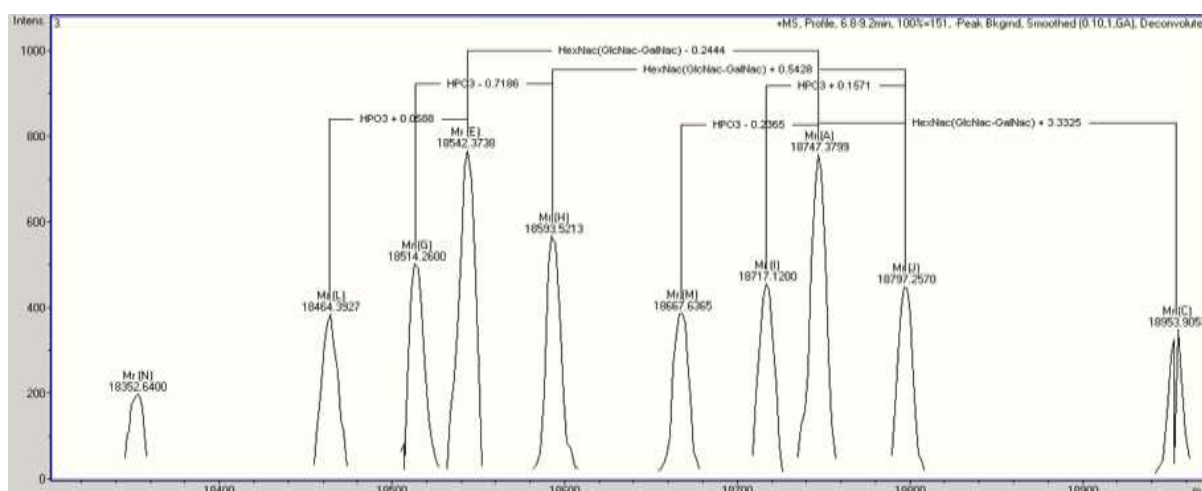


Figure 78 : Spectre déconvolué du pic correspondant à la caséine κ après déglycosylation.

Les différentiels des masses entre les pics des spectres déconvolués correspondent à la masse des motifs de phosphorylation (79,98 Da) ou à celle des différents motifs possibles de O-glycosylation (GaN-Ga=365,3327Da) ; (GaN-Ga-SA=656,587Da) ; (GaN-Ga-SA2=947,8413Da) ; (GaN-Ga-SA3=1239,0956Da). Les différentiels des masses présents sur la **Figure 66** montrent que la déglycosylation n'est pas totale. En effet, nous pouvons constater que les Δm n'incluent jamais la présence d'acides sialiques (acide neuraminique), ce qui laisse supposer que la neuraminidase qui hydrolyse la liaison entre deux acides sialiques a bien fonctionné, mais qu'en revanche, la O-glycosidase qui hydrolyse la liaison entre la chaîne peptidique et le motif de glycosylation n'a agi que de manière incomplète.

Afin de déterminer les masses moléculaires qui auraient été obtenues à partir des masses observées si la réaction de déglycosylation avait été complète, nous avons construit un tableau contenant les masses putatives après soustraction des masses des quatre motifs de O-glycosylation possibles et de la masse d'un ou plusieurs sites de phosphorylation (**Tableau 42**).

Les deux masses surlignées en jaune (18019,08 Da et 18017,0811 Da) sont très proches de la masse théorique du Variant Naturel de la caséine κ (18018,5574 Da). La masse de 18019,08 Da correspond à la masse obtenue après soustraction de la masse correspondant au motif GaN-Ga (365,3327 Da) et de la masse d'un phosphate (79,98 Da) à la masse observée de 18464,3927 Da. La masse de 18017,0811 Da, correspond pour sa part, à la masse obtenue après soustraction de la masse correspondant au motif GaN-Ga (365,3327 Da) et de la masse de 2 phosphates (159,96 Da) à la masse observée de 18542,3738 Da.

Tableau 42 : Valeurs des masses théoriques attendues après déglycosylation.

Masses observées après déglycosylation incomplète de la caséine κ	Masses potentiellement obtenues après soustraction des différents motifs possibles de O-glycosylation et/ou de phosphorylation			
	(GaN-Ga)	(GaN-Ga-SA)	(GaN-Ga-SA2)	(GaN-Ga-SA3)
(0P)	(-365,3327Da)	(-656,587Da)	(-947,8413Da)	(-1239,0956Da)
18464,3927	18099,0600	17807,8057	17516,5514	17225,2971
18514,2600	18148,9273	17857,6730	17566,4187	17275,1644
18542,3738	18177,0411	17885,7868	17594,5325	17303,2782
18593,5213	18228,1886	17936,9343	17645,6800	17354,4257
18667,6365	18302,3038	18011,0495	17719,7952	17428,5409
18717,1200	18351,7873	18060,5330	17769,2787	17478,0244
18747,3799	18382,0472	18090,7929	17799,5386	17508,2843
18797,2570	18431,9243	18140,6700	17849,4157	17558,1614
18953,9053	18588,5726	18297,3183	18006,064	17714,8097

(-1P)	(-79,98Da)	(-79,98Da)	(-79,98Da)	(-79,98Da)
18464,3927	18019,08	17727,8257	17436,5714	17145,3171
18514,2600	18068,9473	17777,6930	17486,4387	17195,1844
18542,3738	18097,0611	17805,8068	17514,5525	17223,2982
18593,5213	18148,2086	17856,9543	17565,7000	17274,4457
18667,6365	18222,3238	17931,0695	17639,8152	17348,5609
18717,1200	18271,8073	17980,5530	17689,2987	17398,0444
18747,3799	18302,0672	18010,8129	17719,5586	17428,3043
18797,2570	18351,9443	18060,6900	17769,4357	17478,1814
18953,9053	18508,5926	18217,3383	17926,0840	17634,8297

(-2P)	(-159.96Da)	(-159.96Da)	(-159.96Da)	(-159.96Da)
18464,3927	17939,1000	17647,8457	17356,5914	17065,3371
18514,2600	17988,9673	17697,7130	17406,4587	17115,2044
18542,3738	18017,0811	17725,8268	17434,5725	17143,3182
18593,5213	18068,2286	17776,9743	17485,7200	17194,4657
18667,6365	18142,3438	17851,0895	17559,8352	17268,5809
18717,1200	18191,8273	17900,5730	17609,3187	17318,0644
18747,3799	18222,0872	17930,8329	17639,5786	17348,3243
18797,2570	18271,9643	17980,7100	17689,4557	17398,2014
18953,9053	18428,6126	18137,3583	17846,1040	17554,8497

Ces données confirment que l'action de la O-glycosidase n'a pas été complète, contrairement à celle de la neuraminidase. Cette action incomplète de la réaction de déglycosylation pourrait s'expliquer soit par un mauvais rapport enzyme/substrat, soit par une mauvaise valeur du pH du milieu réactionnel.

En conclusion, les expérimentations de déphosphorylation et de déglycosylation nous ont

permis de vérifier les masses natives avant modifications post-traductionnelles des variants génétiques des caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} , présents dans l'échantillon de lait analysé. Les expérimentations de déphosphorylation et de déglycosylation, étant relativement coûteuses, nous n'avons pas analysé d'autres échantillons de lait qui nous auraient, entre autres, permis de vérifier les masses natives des différents variants de la caséine α_{s2} .

Ces nouveaux variants des caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} , ont déjà été décrits chez le lapin de souche INRA1007 (Hue-Beauvais *et al*, 2017). Toutefois, leur caractérisation biochimique n'a pas encore été réalisée.

5-2-5- Caractérisation du lait de lapine par électrophorèse SDS-PAGE

Afin de caractériser de la manière la plus exhaustive les lactoprotéines majeures du lait de lapine, nous avons adopté une démarche d'analyse bidimensionnelle faisant appel dans un premier temps à une collecte des pics d'intérêt (notamment le pic représentant le nouveau Variant B de la caséine- α_{s2}) par chromatographie liquide (1^{ère} dimension) et dans un deuxième temps, à une séparation des constituants protéiques des pics d'intérêt collectés par électrophorèse SDS-PAGE (2^{ème} dimension). Pour ce faire, nous avons sélectionné un lait caractéristique (PB 400), contenant les variants génétiques d'intérêt.

5-2-5-1- Collecte des pics d'intérêt par LC-MS (1^{ère} dimension)

Les fractions d'intérêt ont été collectées et les masses des protéines contenues dans chaque fraction ont été déterminées et comparées à la base de données afin de pouvoir les identifier (**Tableau 43**). Les fractions F1 à F10 correspondent au pool de plusieurs tubes de collecte comme indiqué sur la **Figure 79**.

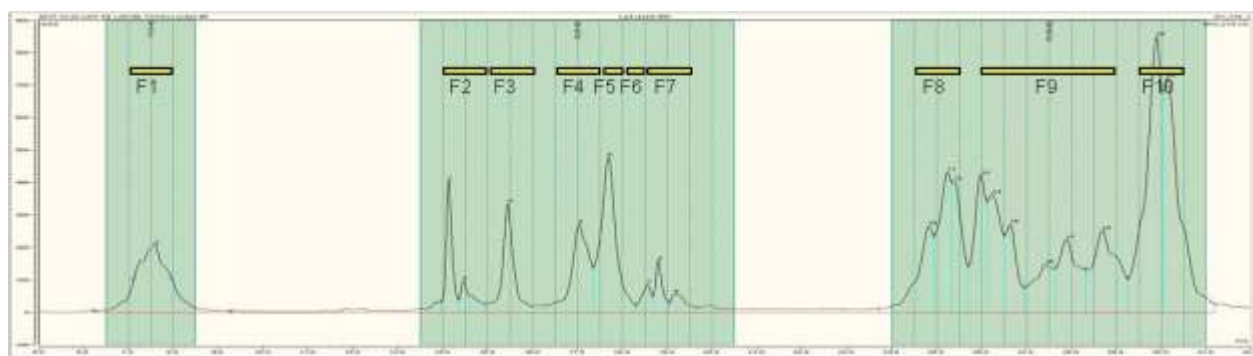


Figure 79 : Collecte des fractions d'intérêt par LC-MS. En vert sont indiquées les zones de collecte et chaque tube collecté est indiqué par des traits verticaux.

Tableau 43 : Identification des lactoprotéines présentes dans les fractions F1 à F10.

Fraction	Masses observées	Intensité du signal de masse	Identification	Masses théoriques
F1			κglycosylée	
F2	74339,1493	1015	TRFE Var B -0P	74900,2000
F3	20166,3706	1864	α_{s2} Var Nat -3P	20166,5925
	20244,9826	19127	α_{s2} Var Nat -4P	20246,5715
	73197,0731	450	TRFE Var B -0P	74900,2000
F4	11681,1607	9954	WAP Var Nat -1P	11681,4218
	21053,7356	1162	α_{s2} Var B -3P	21053,0125
	21133,6811	1943	α_{s2} Var B -4P	21132,9915
F5	11760,3898	10014	WAP Var Nat -2P	11761,4018
F6	3726,1768	370	Peptides ??	
	5878,0963	417	Peptides ??	
	11761,7198	788	WAP Var Nat -2P	11761,4018
	22111,2421	113	??	
F7	66071,7820	5593	SA Var Nat - 0P	66015,4100
	73404,9955	744	TRFE Var B -0P	74900,2000
F8	20127,1010	12721	α_{s2} -like Var Nat -6P	20126,2587
	20205,4022	20909	α_{s2} -like Var Nat -7P	20206,2387
F9	22453,6746	4108	α_{s1} Var B (-1Q) -7P	24288,6430
	24208,9334	4477	α_{s1} Var B -6P	24336,7940
	24403,9101	6810	α_{s1} Var Nat (-1Q) -7P	24403,7316
	24451,8357	1380	α_{s1} Var Nat -6P	24451,8826
	24531,9298	6168	α_{s1} Var Nat -7P	24531,8616
F10	24856,2303	101227	β Var Nat conflit -4P	24855,8740

TRFE : lactoferrine ; SA : sérumalbumine ; Var B : nouveau Variant B ; Var Nat : Variant Naturel ; ,?: masses non identifiées

5-2-5-2- Séparation par électrophorèse SDS-PAGE, des constituants protéiques contenus dans chacune des fractions collectées (2ème dimension)

Les fractions collectées ont été concentrées et une quantité correspondant environ à 30µg estimés a été déposée dans chaque puits.

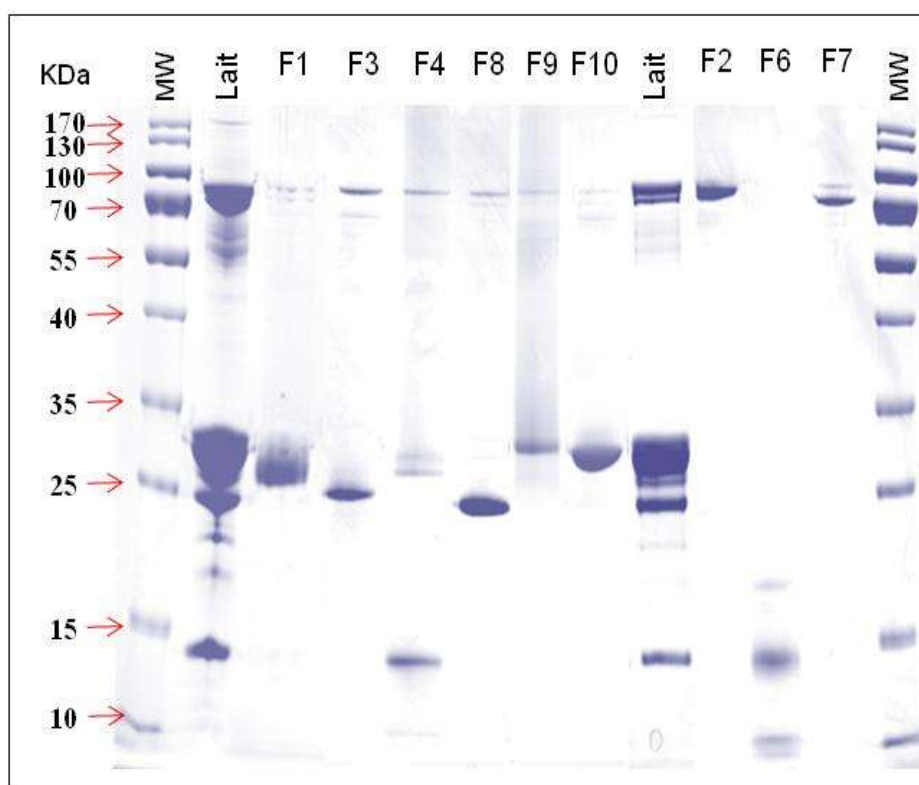


Figure 80 : Analyse des fractions collectées par LC-MS sur gel SDS-PAGE (12%). Dans la partie gauche du gel sont regroupées les fractions correspondant aux caséines (F1, F3, F4, F8, F9, F10). Dans la partie droite du gel sont regroupées les fractions correspondant aux protéines du lactosérum (F2, F6, F7).
MW : marqueur de poids moléculaires (kDa), Lait : lait PB 400 écrémé

La fraction 1 correspond à la caséine kappa glycosylée. Il est à noter que la bande correspondante est présente sous forme diffuse couvrant une large gamme de masses, ce qui indique que cette protéine n'existe que sous forme glycosylée dans le lait de lapine, contrairement à d'autres espèces notamment chez les bovins où elle co-existe dans un ratio 50 : 50 avec la forme non glycosylée. La fraction F3 correspond à la caséine α_{s2} Var Nat. Sont présentes dans cette fraction les isoformes 3 et 4P de cette protéine. Cette fraction contient également la lactoferrine (TRFE), protéine qui « traîne » tout au long du chromatogramme, autrement dit elle est présente dans la quasi-totalité des fractions comme observé sur la **Figure 80**.

La fraction F4 correspond au mélange de l'isoforme 1P du Var Nat de la WAP et du nouveau Variant B de la caséine α_{s2} . Cette dernière protéine est présente sous forme de 2 bandes de faible intensité, ce qui pourrait suggérer le fait que ce variant pourrait constituer un variant quantitatif (faiblement exprimé). La fraction F8, correspond au mélange des isoformes 6 et 7P de Variant Naturel de la caséine α_{s2} -like. La fraction F9, représente le pool de 6 tubes de collecte et correspond au mélange des isoformes 6 et 7P du Variant Naturel et du nouveau

Variant B de la caséine α_{s1} . Dans cette fraction, une seule bande est visible sur le gel, ce qui peut s'expliquer par le fait que le différentiel de masse entre les deux variants est très faible (environ 200 Da). La fraction 10 correspond à la caséine β .

En ce qui concerne les protéines sériques, la fraction F2 correspond à la lactoferrine. La fraction F6 représente un mélange contenant principalement l'isoforme 2P de la WAP ainsi que d'autres composés protéiques (22111,24 Da, 3726,17 Da et 5878,096 Da) non identifiés. Théoriquement la fraction F7 devrait contenir l' α -lactalbumine. Cependant le pic correspondant est distribué entre les fractions F6 et F7 et donc la protéine est en quantité trop faible pour être détectée sur le gel. Enfin la fraction F7 contient un mélange constitué majoritairement de sérumalbumine et de lactoferrine en quantités plus faibles.

Lorsqu'un échantillon de lait de lapine est analysé en SDS-PAGE, hormis la bande de sérumalbumine et de lactoferrine, des bandes supplémentaires de hautes masses moléculaires sont visibles en quantités non négligeables. Afin d'identifier ces protéines, nous avons effectué une électrophorèse SDS-PAGE dédiée aux hautes masses moléculaires (NuPAGE gradient -12%, Thermofisher). Les bandes d'intérêt ont été découpées, puis trypsinées afin d'en extraire les peptides. Ceux-ci ont été finalement analysés en spectrométrie de masse MS/MS de manière à identifier les protéines correspondantes.

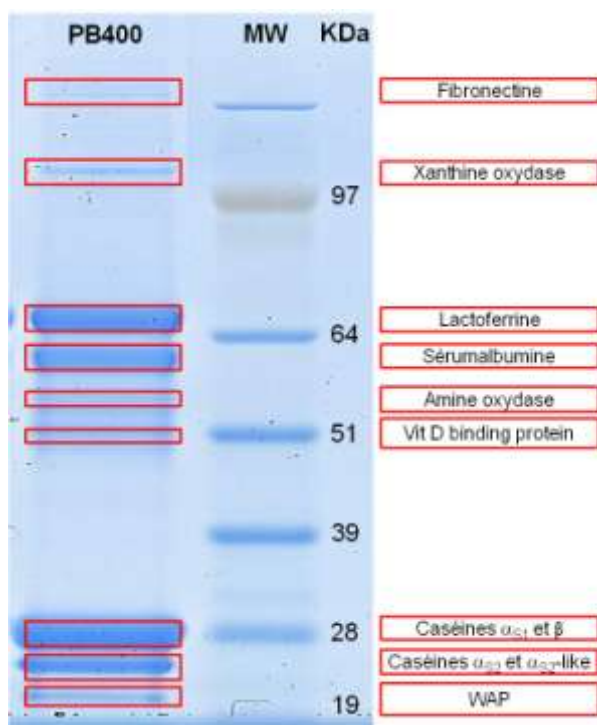


Figure 81 : Analyse du lait PB400 après écrémage sur gel NuPAGE (4-12%). MW : marqueur de poids moléculaires (kDa).

Au final l'identification des bandes électrophorétique visibles dans les **Figures 80 et 81** nous permet de suggérer un diagramme électrophorétique en SDS-PAGE des lactoprotéines majeures du lait de lapines de la souche PB (**Figure 82**).

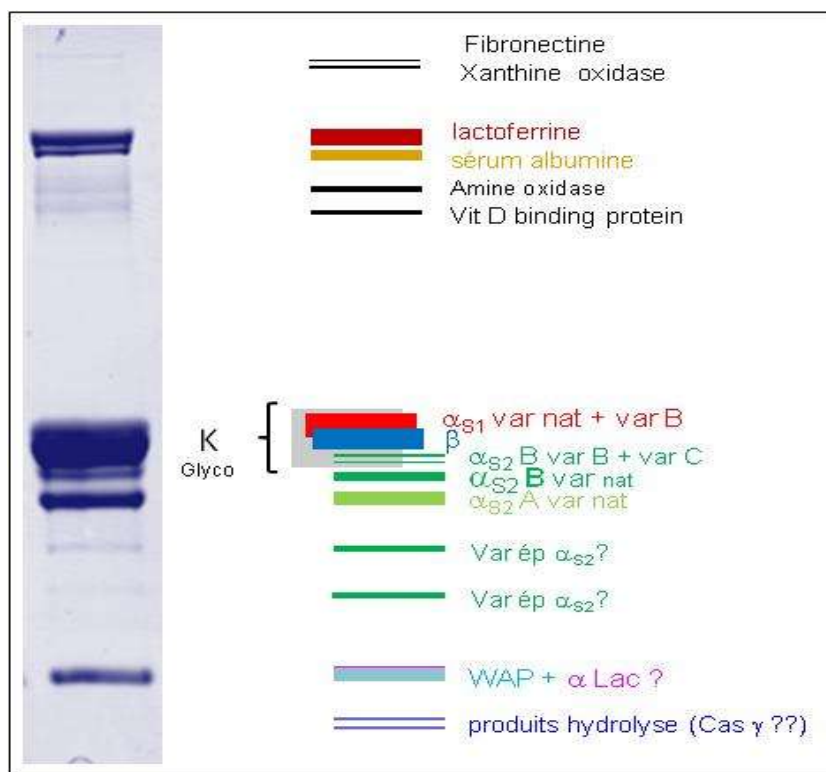


Figure 82 : Diagramme électrophorétique des lactoprotéines majeures du lait de lapine de la population blanche.

5-2-6- Mise en évidence d'une corrélation entre la nature des variants génétiques et la mortalité néonatale

La mise en évidence des polymorphismes observés dans le lait de lapine pour les caséines α_{s2} , α_{s2} -like et α_{s1} , d'une part, et la mortalité néonatale élevée liée au lait PB, d'autre part, nous ont conduits à rechercher une éventuelle corrélation entre la mortalité néonatale et la nature des variants génétiques présents dans la population blanche. Cependant le nombre d'échantillons de lait étant insuffisant, il a été nécessaire d'effectuer préalablement une nouvelle collecte de lait, au même stade de lactation (L10).

Afin de mettre en évidence cette corrélation, nous avons réparti les individus PB en fonction de leur type génétique, c'est-à-dire en fonction des variants des caséines α_{s2} et α_{s1} , puis nous avons comparé la mortalité néonatale dans chacun des groupes ainsi constitués. Les variants

de la caséine α_{s2} -like n'ont pas été considérés parce qu'étant très proches en masse ($\Delta m=1$ Da), il était difficile de les discriminer avec certitude.

5-2-6-1- Corrélation entre mortalité néonatale et variants de la caséine α_{s2} chez les individus de la lignée PB

Tableau 44 : Répartition des échantillons de lait PB selon les variants de la caséine α_{s2} .

Groupes	Echantillon	Variant α_{s2}	Taux de mortalité %	
1	689	B/B		58,33
	nc15	B/B		50,00
	nc16	B/B		53,85
			Moyenne	54,06
			SEM	2,95
2	400	VN/B		16,67
	707	VN/B		18,18
	nc2	VN/B		10,00
	nc28	VN/B		25,00
	nc1	VN/B		8,33
	nc14	VN/B		25,00
	nc20	VN/B		10,00
	nc21	VN/B		11,11
	nc22	VN/B		12,50
	nc23	VN/B		16,67
nc24	VN/B		15,38	
			Moyenne	15,35
			SEM	1,82
3	570	VN/VN		16,67
	667	VN/VN		9,09
	7788	VN/VN		9,09
	669	VN/VN		18,18
	nc3	VN/VN		20,00
	nc4	VN/VN		8,33
	nc6	VN/VN		10,00
	nc7	VN/VN		16,67
	nc5	VN/VN		16,67
	nc9	VN/VN		0,00
	nc10	VN/VN		0,00
	nc11	VN/VN		8,33
	nc12	VN/VN		8,33
	nc13	VN/VN		16,67
	nc17	VN/VN		10,00
	nc18	VN/VN		10,00
	nc19	VN/VN		10,00
	nc25	VN/VN		20,00
	nc26	VN/VN		16,67
	nc27	VN/VN		8,33
			Moyenne	11,65
			SEM	1,34
4	606	B/C		45,45
	661	B/C		33,33
	673	B/C		36,36
			Moyenne	38,38
			SEM	4,46

VN : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B ; C : nouveau Variant C

Tableau 45 : Tests statistiques entre la mortalité néonatale et les variants de la caséine α_{s2} chez les individus PB.

	Taux de mortalité (moyenne $\pm$ SEM)	B/B	VN/B	VN/VN	B/C
		54,05 $\pm$ 2,95	15,35 $\pm$ 1,82	11,65 $\pm$ 1,34	38,38 $\pm$ 4,46
B/B	54,05 $\pm$ 2,95		S ^b	S ^b	S ^b
VN/B	15,35 $\pm$ 1,82			NS ^a	S ^b
VN/VN	11,65 $\pm$ 1,34				S ^b
B/C	38,38 $\pm$ 4,46				

VN : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B ; C : nouveau Variant C

S: différence significative ; NS: différence non significative ; ^a : Test Student ; ^b : Test Mann-Whitney

Les résultats des tests statistiques montrent une corrélation significative (test Mann-Whitney) entre la présence des allèles B ou C au locus de la caséine α_{s2} (**Tableau 44**) et la mortalité néonatale chez les lapereaux de la lignée PB (**Tableau 45**). Cette mortalité est plus forte chez les individus homozygotes (B/B) au locus de la caséine α_{s2} , que chez les individus hétérozygotes (B/VN) et (B/C). Chez les individus hétérozygotes (B/C) le taux de mortalité reste élevé (33.38%), mais moins important toutefois que chez les individus homozygotes (B/B). Ceci suggère que la présence de l'allèle C de la caséine α_{s2} , entraîne également un effet délétère, mais toutefois moins marqué que celui de l'allèle B. L'allèle VN de la caséine α_{s2} , pour sa part, n'est pas associé à un caractère délétère puisque le taux de mortalité (11.65%) des individus homozygotes (VN/VN) correspond à un taux normal de mortalité dans une population d'élevage standard. En revanche il est à noter que la présence de l'allèle VN associé à l'allèle B, entraîne une forte diminution de l'effet délétère de ce dernier.

5-2-6-2- Corrélation entre mortalité néonatale et variants de la caséine α_{s1}

Les résultats des tests statistiques montrent également qu'il existe une corrélation positive, entre la mortalité néonatale des lapereaux PB et la présence de l'allèle B au locus de la caséine α_{s1} (**Tableau 46**). L'effet délétère de l'allèle B au locus de la caséine α_{s1} , semble toutefois moins marqué que celui de l'allèle B au locus de la caséine α_{s2} (respectivement 31,89 $\pm$ 6,21 et 54,05 $\pm$ 2,95) (**Tableau 47**).

Les résultats de l'ensemble des tests statistiques, ont ainsi montré l'existence d'une corrélation positive entre la nature des variants génétiques des caséines α_{s2} et α_{s1} et le taux de mortalité néonatale chez les lapereaux de la lignée PB.

Tableau 46 : Répartition des échantillons de lait selon les variants de la caséine α_{s1} .

Groupes	Echantillon	Variant α_{s1}	Taux de mortalité%	
1	nc15	VN/B		50,00
	nc16	VN/B		53,85
	606	VN/B		58,33
	661	VN/B		50,00
	673	VN/B		54,55
	400	VN/B		16,67
	707	VN/B		18,18
	nc2	VN/B		10,00
	nc28	VN/B		25,00
	nc14	VN/B		25,00
	nc20	VN/B		10,00
	nc21	VN/B		11,11
			Moyenne	31,89
			SEM	5,93
2	nc1	VN/VN		8,33
	nc22	VN/VN		12,50
	nc23	VN/VN		16,67
	nc24	VN/VN		15,38
	579	VN/VN		16,67
	655	VN/VN		9,09
	570	VN/VN		16,67
	667	VN/VN		9,09
	7788	VN/VN		16,67
	669	VN/VN		18,18
	nc3	VN/VN		20,00
	nc4	VN/VN		8,33
	nc6	VN/VN		10,00
	nc7	VN/VN		16,67
	nc5	VN/VN		16,67
	nc9	VN/VN		0,00
	nc10	VN/VN		0,00
	nc11	VN/VN		8,33
	nc12	VN/VN		8,33
	nc13	VN/VN		16,67
	nc17	VN/VN		10,00
	nc18	VN/VN		10,00
	nc19	VN/VN		10,00
	nc25	VN/VN		20,00
	nc26	VN/VN		16,67
	nc27	VN/VN		8,33
			Moyenne	12,28
			SEM	1,11

VN : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B

Tableau 47 : Tests statistiques entre la mortalité néonatale et le variant de la caséine α_{s1} chez les individus PB.

	Taux de mortalité (moyenne $\pm$ SEM)	VN/B	VN/VN
		31,89 $\pm$ 6,21	12,27 $\pm$ 1,10
VN/B	31,89 $\pm$ 6,21 %		S ^b
VN/VN	12,27 $\pm$ 1,10		

VN : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B

S^b : différence significative (Test Student)

Par ailleurs, des observations zootechniques ont permis d'observer des taux de mortalité plus importants lors de la première semaine après la naissance, ce qui laisserait éventuellement supposer une influence de la composition du lait précoce sur la mortalité néonatale. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons effectué des collectes de lait à différents stades de lactation : jours 1-2 (L1, colostrum), 5 (L5), 10 (L10, lait « mature »), chez des lapines appartenant aux deux lignées PB et SS. Nous avons par la suite effectué une analyse quantitative des lactoprotéines majeures de ces laits par LC-MS. Les compositions moyennes des lactoprotéines majeures de ces laits ont été ensuite comparées à l'intérieur d'une même lignée aux 3 stades de lactation (L1, L5 et L10) et à un stade de lactation donné, entre les deux lignées (PB et SS). Les résultats ainsi obtenus ont ensuite été comparés à l'aide d'analyses statistiques.

5-2-6-3- Analyse quantitative comparative des lactoprotéines majeures des laits de lapines PB et SS au cours de la lactation, aux stades L1, L5 et L10

Dans le cas des laits PB, aucune différence significative n'est observée d'un point de vue quantitatif aussi bien pour les caséines totales que pour les protéines sériques totales (**Tableau 48**). Toutefois, lorsque chaque protéine est considérée individuellement, des variations quantitatives apparaissent entre les stades L1 et L10 au niveau de la quantité relative des caséines κ , α_{s2} et α_{s2} -like. La quantité relative des caséines κ , α_{s2} et α_{s2} -like augmente, phénomène qui est compensé par la diminution de la caséine α_{s1} , conduisant ainsi à l'absence de variation du contenu total des caséines. Dans le cas des protéines du lactosérum, une diminution de la quantité relative de lactoferrine est observée au stade L10 alors que les quantités relatives de WAP, α -Lactalbumine et sérumalbumine restent constantes. Malgré la diminution de la quantité relative de lactoferrine au stade L10, le contenu total des protéines du lactosérum n'est pas significativement différent aux stades L1 et L5.

Tableau 48 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines PB à trois stades de lactation (L1, L5 et L10).

Laits PB (n=12)		L1		L5		L10	
		Moyenne	SEM	Moyenne	SEM	Moyenne	SEM
κ		6,85 ^p	0,22	7,35 ^o	0,19	7,46 ^{o, p}	0,23
α_{s2}	Var Nat	0,24 ^{a, b}	0,10	1,45 ^a	0,32	1,55 ^b	0,38
	Var B	0,46 ^d	0,12	0,44 ^c	0,20	1,37 ^{c, d}	0,35
	Var C	0,35 ^{e, f}	0,12	1,02 ^e	0,34	0,98 ^f	0,23
	Var B + Var C	0,82 ^g	0,21	1,46	0,37	2,35 ^g	0,39
	TOT	1,06 ^{h, i}	0,18	2,81 ^h	0,46	3,80 ⁱ	0,30
α_{s2} -like		8,25 ^{j, k}	0,63	11,59 ^j	1,13	10,70 ^k	0,50
α_{s1}	Var Nat	17,86	2,39	16,42	2,18	17,44	1,66
	Var B	8,00	1,96	6,37	1,62	5,76	1,57
	TOT	25,86 ^l	1,05	22,79 ^l	0,75	23,20	0,63
β		22,15	0,85	21,07	0,32	21,78	0,68
Caséines TOT		64,16	0,92	65,62	0,64	66,93	0,80
TRFE		5,44 ⁿ	0,31	5,16 ^m	0,35	3,57 ^{m, n}	0,26
WAP		11,15	0,50	12,33	0,70	11,73	0,80
α -Lac		0,18	0,02	0,20	0,03	0,16	0,02
SA		2,79	0,32	2,85	0,21	2,91	0,25
Lactosérum TOT		19,56	0,39	20,54	0,89	18,36	0,86
Autres		16,28	0,96	13,94	0,59	14,92	0,79

Var Nat : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B ; C : nouveau Variant C ; Var B + Var C : somme des 2 nouveaux Variants ; TRFE : lactoferrine ; SA : sérumalbumine ; WAP : Whey Acidic Protein ; α -Lac : α -lactalbumine ; Caséines TOT : total des caséines ; Lactosérum TOT : total des protéines du lactosérum

Valeur moyenne de 12 échantillons de lait et erreur standard à la moyenne (SEM).

a, b, c, ...p : différences significatives (Tests de Student ou de Mann Whitney)

Dans la lignée PB, la quantité relative des variants délétères (B ou C) de la caséine α_{s2} est toujours supérieure ou égale à celle du Variant Naturel aux différents stades de lactation et principalement au stade L1 (colostrum) où ils représentent un ratio de 4. En effet, si l'on compare au niveau de la caséine α_{s2} le VN à la somme des 2 variants délétères B et C, on constate une augmentation au cours de la lactation des variants délétères (2 fois au stade L5, 3 fois au stade L10). Le VN quant à lui augmente d'un facteur 7 entre les stades L1 et L et reste constant entre les stades L5 et L10. Ainsi, au stade L1 les variants délétères B et C sont en concentration 4 fois plus importante que le VN. Au stade L5, les variants délétères et le VN sont à la même concentration et au stade L10, ils sont 1,5 plus importants que le VN. De ce fait, au sein de la lignée PB, les variants délétères sont toujours supérieurs ou égaux au VN aux différents stades de lactation, en particulier au stade colostré (L1) où ils représentent un

ratio de 4.

Dans le cas des laits SS, aucune différence significative n'a été mise en évidence dans la quantité relative des caséines totales et des protéines sériques totales aux différents stades de lactation (**Tableau 49**). Dans le groupe des caséines, les quantités relatives des caséines α_{s2} et α_{s2} -like augmentent progressivement entre L1 et L10, alors que celles des caséines α_{s1} et β diminuent. Cependant à l'intérieur du groupe des lactoprotéines sériques, est observée une diminution de la quantité relative de lactoferrine entre les stades L1 et L10, compensée par une augmentation progressive des quantités relatives de WAP et d' α -Lactalbumine aux stades L5 et L10.

Tableau 49 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines SS à trois stades de lactation (L1, L5 et L10).

Laits SS (n=7)		L1		L5		L10	
		Moyenne	SEM	Moyenne	SEM	Moyenne	SEM
κ		6,21	0,38	7,31	0,15	7,05	0,27
α_{s2}	Var Nat	0,58 ^a	0,24	1,31 ^a	0,25	2,18 ^a	0,42
	Var B	0,47 ^{b, c}	0,09	1,15 ^b	0,23	1,32 ^c	0,39
	Var C	0,10 ^d	0,06	0,14 ^d	0,07	0,29 ^d	0,05
	Var B + Var C	0,57 ^{e, f}	0,11	1,29 ^e	0,23	1,61 ^f	0,37
	TOT	1,06 ^g	0,31	2,46 ^g	0,26	3,50 ^g	0,20
α_{s2} -like		9,91 ^h	0,64	11,80 ^h	0,41	13,59 ^h	0,46
α_{s1}	Var Nat	12,98 ^k	1,82	12,70 ⁱ	0,52	10,93 ^{i, k}	0,28
	Var B	13,99 ^{l, m}	1,99	9,88 ^l	0,65	10,48 ^m	0,61
	TOT	26,97 ^{n, o}	0,63	22,58 ⁿ	0,97	21,40 ^o	0,41
β		24,25 ^{p, q}	0,74	21,68 ^p	0,65	20,91 ^q	0,65
Caséines TOT		68,40	1,07	65,83	0,74	66,40	0,78
TRFE		5,06 ^r	0,59	4,85	0,46	3,43 ^r	0,39
WAP		9,23 ^{s, t}	0,55	12,46 ^s	0,31	12,47 ^t	0,31
α -Lac		0,16 ^u	0,01	0,23	0,02	0,29 ^u	0,06
SA		2,83	0,38	3,27	0,35	3,19	0,49
Lactosérum TOT		17,28^v	0,82	20,81^v	0,58	19,38	1,01
Autres		14,32	0,74	13,38	0,66	14,27	0,94

Var Nat : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B ; C : nouveau Variant C ; Var B + Var C : somme des 2 nouveaux Variants ; TRFE : lactoferrine ; SA : sérumalbumine ; WAP : WheyAcidicProtein ; α -Lac : α -lactalbumine ; Caséines TOT : total des caséines ; Lactosérum TOT : total des protéines du lactosérum

Valeur moyenne de 7 échantillons de lait et erreur standard à la moyenne (SEM)

a, b, c, ...v : différences significatives (Test de Mann Whitney)

Les quantités relatives des variants délétères (B et C) de la caséine α_{s2} sont en proportion égale aux stades L1 et L5, voire même inférieure (stade L10), par rapport à la proportion relative du Variant Naturel. Ceci pourrait expliquer le taux de mortalité supérieur observé dans les élevages expérimentaux, dans la lignée PB par rapport à la lignée SS, notamment au stade L1 correspondant au colostrum.

Donc aussi bien dans la lignée PB que SS, les quantités totales de caséines et de protéines du lactosérum ne varient pas aux 3 stades de lactation étudiés. En revanche, individuellement les lactoprotéines varient différemment. Lorsque les deux souches PB et SS sont comparées entre elles au stade L1, le taux de caséines totales est plus faible dans la souche PB alors qu'aux stades L5 et L10, aucune différence n'est observée (**Tableau 50**).

Tableau 50 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines PB et SS à trois stades de lactation (L1, L5 et L10).

L1		κ	LF	α_{s2}	WAP	α -Lac	SA	α_{s2} -like	α_{s1}	β	Autres	Cas TOT	Lactosérum TOT
PB	Moyenne	6,85	5,44	1,06	11,15	0,18	2,79	8,25	25,86	22,15	16,28	64,16	19,56
	SEM	0,22	0,31	0,18	0,50	0,02	0,32	0,63	1,05	0,85	0,96	0,92	0,39
SS	Moyenne	6,21	5,06	1,06	9,23	0,16	2,83	9,91	26,97	24,25	14,32	68,40	17,28
	SEM	0,38	0,59	0,31	0,55	0,01	0,38	0,64	0,63	0,74	0,74	1,07	0,82
L5		κ	LF	α_{s2}	WAP	α -Lac	SA	α_{s2} -like	α_{s1}	β	Autres	Cas TOT	Lactosérum TOT
PB	Moyenne	7,35	5,16	2,81	12,33	0,20	2,85	11,59	22,79	21,07	13,94	65,62	20,54
	SEM	0,19	0,35	0,46	0,70	0,03	0,21	1,13	0,75	0,32	0,59	0,64	0,89
SS	Moyenne	7,31	4,85	2,46	12,46	0,23	3,27	11,80	22,58	21,68	13,38	65,83	20,81
	SEM	0,15	0,46	0,26	0,31	0,02	0,35	0,41	0,97	0,65	0,66	0,74	0,58
L10		κ	LF	α_{s2}	WAP	α -Lac	SA	α_{s2} -like	α_{s1}	β	Autres	Cas TOT	Lactosérum TOT
PB	Moyenne	7,46	3,57	3,80	11,73	0,16	2,91	10,70	23,20	21,78	14,92	66,93	18,36
	SEM	0,23	0,26	0,30	0,80	0,02	0,25	0,50	0,63	0,68	0,79	0,80	0,86
SS	Moyenne	7,05	3,43	3,50	12,47	0,29	3,19	13,54	21,40	20,91	14,27	66,40	19,38
	SEM	0,27	0,39	0,20	0,31	0,06	0,49	0,46	0,41	0,65	0,94	0,78	1,01

TRFE : lactoferrine ; SA : sérumalbumine ; WAP : WheyAcidic Protein ; α -Lac : α -lactalbumine ; Caséines TOT : total des caséines ; Lactosérum TOT : total des protéines du lactosérum

Valeur moyenne et erreur standard à la moyenne (SEM)

Valeurs en rouge : différences significatives (Test de Mann Whitney)

L'ensemble de ces résultats ne permet pas de justifier la différence de mortalité néonatale des lapereaux entre les lignées PB et SS du point de vue de la composition globale du lait aux

différents stades de lactation. Nous avons donc recherché d'éventuelles différences quantitatives au niveau des variants génétiques des caséines α_{s2} et α_{s1} pour lesquels cette corrélation a été montrée (**Tableau 51**).

Tableau 51 : Quantification relative (% du total des pics du chromatogramme) des protéines majeures du lait de lapines PB et SS à trois stades de lactation (L1, L5 et L10).

		α_{s2}					α_{s1}		
L1		α_{s2} VN	α_{s2} VB	α_{s2} VC	α_{s2} VB+VC	α_{s2}	α_{s1} VN	α_{s1} VB	α_{s1}
PB	Moyenne	0,24	0,46	0,35	0,82	1,06	17,86	8,00	25,86
	SEM	0,10	0,12	0,12	0,21	0,18	2,39	1,96	1,05
SS	Moyenne	0,58	0,47	0,10	0,57	1,06	12,98	13,99	26,97
	SEM	0,24	0,09	0,06	0,11	0,31	1,82	1,99	0,63
L5		α_{s2} VN	α_{s2} VB	α_{s2} VC	α_{s2} VB+VC	α_{s2}	α_{s1} VN	α_{s1} VB	α_{s1}
PB	Moyenne	1,45	0,44	1,02	1,46	2,81	16,42	6,37	22,79
	SEM	0,32	0,20	0,34	0,37	0,46	2,18	1,62	0,75
SS	Moyenne	1,31	1,15	0,14	1,29	2,46	12,70	9,88	22,58
	SEM	0,25	0,23	0,07	0,23	0,26	0,52	0,65	0,97
L10		α_{s2} VN	α_{s2} VB	α_{s2} VC	α_{s2} VB+VC	α_{s2}	α_{s1} VN	α_{s1} VB	α_{s1}
PB	Moyenne	1,55	1,37	0,98	2,35	3,80	17,44	5,76	23,20
	SEM	0,38	0,35	0,23	0,39	0,30	1,66	1,57	0,63
SS	Moyenne	2,18	1,32	0,29	1,61	3,50	10,93	10,48	21,40
	SEM	0,42	0,39	0,05	0,37	0,20	0,28	0,61	0,41

Var Nat : Variant Naturel ; B : nouveau Variant B ; C : nouveau Variant C ; VB + VC : somme des 2 nouveaux Variants

Valeur moyenne et erreur standard à la moyenne (SEM)

Valeurs en rouge : différences significatives (Test de Mann Whitney)

Discussion générale

Notre travail avait pour premier objectif d'évaluer la relation entre mortalité des lapereaux en période d'allaitement dans les deux souches (PB et SS) et leur production laitière (quantité et qualité) enregistrées sur cinq années d'investigations. La première hypothèse a été que le fonctionnement du tissu mammaire pouvait être à l'origine des différences observées. Pour ce faire, nous avons abordé l'étude de la morphologie de la glande mammaire à différents stades physiologiques et observé un développement plus important du tissu épithélial au sein de la population SS. Les lapines SS montrent ainsi une production de lait supérieure à celle des lapines PB. De plus, ces observations nous ont conduits à nous focaliser sur la composition biochimique du lait collecté sur les deux types génétiques de lapines à différentes saisons et pendant différentes périodes d'allaitement.

L'analyse globale de la fraction protéique des laits des deux populations a montré que le contenu en caséines totales et en protéines solubles était identique et ce quel que soit le stade physiologique considéré. Les lactoprotéines majeures identifiées ont des masses moléculaires identiques dans les laits des deux types génétiques d'animaux et correspondent à celles décrites dans la littérature. Sur les chromatogrammes obtenus par RP-HPLC, les caséines α_{s1} et α_{s2} -like, tout comme la WAP sont présentes sous forme de deux pics correspondant à des degrés de phosphorylation différents. Baranyi *et al.*, (1995) avaient déjà rapporté la présence d'isoformes multiples de phosphorylation pour les différentes caséines et pour la WAP. Par notre approche méthodologique (LC-MS), nous avons non seulement confirmé ces résultats mais aussi établi avec précision le degré de phosphorylation des différentes isoformes.

Les caséines α_{s1} et β sont majoritaires (50% des caséines totales à elles deux). La caséine α_{s2} -like est trois à quatre fois plus abondante (13,5%) que les caséines α_{s2} et κ (respectivement 4 et 2,7 % en moyenne). Parmi les protéines sériques la WAP est majoritaire (14,5%), comme décrit par Baranyi *et al.*, (1995). La lactoferrine est abondamment représentée dans le lait de lapine (10%), comparativement au lait d'autres espèces (environ 1% chez les caprins et les bovins). Cette molécule est également présente en quantité importante dans le lait de femme (15% ; Martin et Grosclaude, 1993) et de camélidés (22% ; Kappeler, 1998). Il est intéressant de noter que le rapport caséines/protéines solubles dans les laits de lapines (70/30) est différent de celui observé chez les ruminants (80/20 chez les bovins) ou chez la femme (40/60) (Martin et Grosclaude, 1993).

Les résultats préliminaires présentés ici sur l'analyse du lait de lapines de deux types génétiques différents (PB et SS) par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse de type ESI-Tof, démontrent le potentiel de cette méthode qui permet d'accéder à une description détaillée de la composition de la fraction « protéines majeures » du lait de lapine. Les lactoprotéines majeures ainsi que leurs principales isoformes résultant de modifications post-traductionnelles ont été mises en évidence. Indépendamment de ces modifications l'existence d'autres facteurs conduisant à des différentiels de masse a été rapportée, imputables à des variants génétiques et/ou d'épissage. Ces analyses ont montré une variabilité plus importante des proportions relatives des lactoprotéines au sein de la population PB, la population SS étant quant à elle beaucoup plus homogène.

S'agissant des différentes caséines, 3 variants de masses différentes ont été mis en évidence pour la caséine α_{s2} (Var Nat, Var B et C) et deux pour la caséine α_{s1} (Var Nat et Var B). Leurs proportions relatives varient en fonction du stade physiologique au sein d'une même population et aux différents stades entre populations. Les différences les plus importantes entre populations sont observées au stade de lactation le plus précoce (L1) et concernent principalement les Variants B et C de la caséine α_{s2} . Ces variations pourraient apporter des éléments de réponse au problème de mortalité des lapereaux sous la mère. Les quantités relatives des Variants B et C sont plus importantes au stade L1 (phase colostrale) dans la population PB, population identifiée comme présentant une mortalité néonatale élevée. Ces deux variants pourraient donc contribuer à l'effet négatif du lait PB sur la survie des lapereaux comme nous l'avons montré lors des expériences d'adoptions croisées.

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus au cours de ce travail ont permis d'améliorer nos connaissances sur les aptitudes laitières des lapines élevées actuellement en Algérie, en l'occurrence la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS). Nous avons ainsi abouti aux conclusions suivantes :

-La prolificité des lapines à la naissance est supérieure dans la souche SS par rapport à la population PB (8,67 vs 9,38 lapereaux nés vivants).

-Le nombre de lapereaux allaités est également significativement plus élevé dans la souche SS avec 8,18 lapereaux contre 7,47 lapereaux dans la population PB.

- La mortalité des lapereaux sous la mère est plus importante (spécifiquement au cours de la période estivale) chez les lapines PB par rapport aux lapines SS avec un écart de 7,65%.

-La production laitière totale (0-21jours) des lapines SS (3116g) est supérieure à celle des lapines PB (3005g) ; un écart de +13% a été observé mais qui varie en fonction du stade lactation et de la saison.

-Les lapines SS produisent un lait plus riche en matière énergisante par rapport aux lapines PB.

-Dans les deux types génétiques de lapines, les quantités de lait les plus importantes sont produites au cours des saisons hivernale et printanière et elles sont associées avec une composition biochimique riche en protéines et en matière grasse.

- Dans les deux types génétiques de lapines les taux de mortalité les plus importants sont observés au cours des saisons automnale et estivale et sont en relation avec une baisse de la production laitière.

-Un effet significatif du génotype, du stade lactation et du taux de prolactine sanguin sur la production laitière (et de ce fait sur la survie des lapereaux) a été révélé. La morphologie de la glande mammaire et son développement ont également été observés dans cette comparaison entre les deux populations.

-La sélection de bonnes et mauvaises lapines, dans les deux groupes génétiques, sur la base de leurs performances reproductrices a conforté la supériorité des lapines SS par rapport aux lapines PB. De même, au sein d'un même groupe génétique, on parvient à faire cette distinction. La mortalité des lapereaux sous la mère peut être associée à l'effet maternel.

L'expérimentation des adoptions croisées a révélé que l'origine génétique présente un effet significatif sur la mortalité des lapereaux en période d'allaitement. Le lait issu de lapines PB semble renfermer des éléments délétères qui seraient à l'origine des forts taux de mortalité observés au sein des portées PB. Ainsi la cause majeure de forte mortalité est liée à la fois à la lapine, mais également à la composition du lait ingéré par les lapereaux en période d'allaitement.

La mortalité des lapereaux est plus importante chez les lapines PB que les lapines SS.

- Les taux de mortalité les plus importants sont notés en périodes estivale et automnale.
- La quantité et qualité du lait varient en fonction du type génétique et de la saison : les lapines SS produisent plus de lait avec plus de matières énergisantes (protéines et matières grasses).
- Il existe un rapport étroit entre l'origine génétique du lait, les variations saisonnières et la mortalité des lapereaux : les plus forts taux de mortalité sont observés en été et en automne alors que le lait produit est plus abondant et plus riche en périodes printanière et hivernale.
- L'introduction de l'insémination artificielle comme mode de reproduction et d'un rythme extensif (IA pratiquée 25 jours après mise bas), suggère que de cette technique améliore relativement les performances des lapines à travers l'augmentation du taux de fertilité et la baisse du taux de mortalité des lapereaux sous la mère.
- L'influence des stades de lactation a également été étudiée : le stade colostrale, la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} semaine de lactation. Les résultats issus de cette étude cinétique feront l'objet d'une publication. Cependant des analyses plus approfondies du lait s'avèrent indispensables. Ces nouvelles données pourraient apporter des informations permettant d'expliquer la forte mortalité observée chez les animaux de la population blanche et particulièrement au cours de la saison estivale.

L'ensemble de ces résultats soulève un certain nombre de questions fondamentales sur la fonction biologique, encore peu documentée, de la caséine as_2 au-delà de son rôle dans la structure de la micelle. Ces travaux ouvrent des voies de recherche originales et novatrices.

Des travaux récents ont montré que la caséine α_{s2} bovine est vectrice de peptides à activités anti-microbiennes (Alvarez-Ordóñez *et al.*, 2013). Dans cette perspective des études visant à établir la structure de ces variants et des ADN complémentaires correspondants sont à envisager pour permettre une définition plus précise des molécules bioactives (peptides encryptés dans la séquence de cette caséine et de ses variants).

En marge de ces études, une analyse d'autres constituants majeurs (ARN non-codants, leptine, acides gras, vésicules extracellulaires, ...) des laits de ces populations est évidemment indispensable pour avoir une vision claire de cette problématique qui requiert, compte son importance au niveau de l'élevage cunicole algérien, des réponses et des outils de développement et de conseil.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

« A »

- Abdelli O. 2016.** Croissance et mortalité des lapereaux de la population locale Algérienne. THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES BIOLOGIQUES, option Biologie Animale. *Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie*, 150 p.
- Abdou H., Marichatou H., Beckers J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L. 2012.** Physiologie de la production et composition chimique du colostrum des grands mammifères domestiques généralités. *Ann. Méd. Vét.* 156, 87-98.
- Afifi E.A., Khalil M.H., Emara M.E. 1989.** Effects on maternal performance and litter preweaning traits in doe rabbits. *J. of Anim. Bre. Gen.*, 106, 358-362.
- Afifi E.A., Khalil K.H. 1992.** Crossbreeding experiments of rabbits in Egypt: Synthesis of results and overview. *Option Méditerranéenne Série séminaire N° 17*, 35-52.
- Al Sarraj K., White D. A., Mayer R. J. 1978.** Purification and properties of casein from mammary gland of lactating rabbits. *Int. J. Biochem.* 9, 269-277.
- Alvarez-Ordóñez, A., Begley M., Clifford T., Deasy T., Considine K. 2013.** Structure-activity relationship of synthetic variants of the milk-derived antimicrobial peptide α s2-casein f (183-207). *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 5179–5185.
- Anderson R.R., Sadler K.C., Knauer M.W., Wippler J.P., Marshall R.T. 1975.** Composition of cottontail rabbit milk from stomachs of young and directly from gland. *J. Dairy Sci.*, 58 (10): 1449-1452.
- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2003.** Relationship between uterine and fetal traits in rabbits selected on uterine capacity. *J. Anim. Sci.* 81: 1265-1273.
- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2008.** Effect of intra uterine crowding on available uterine space per fetus in rabbits. *Livestock Sci.*, 114, 211-219.
- Arveux P. 1988.** Production cunicole en période estivale. *Cuniculture*, 82, 197-199.

«B»

- Ball R.K., Friis R.R., Schoenenberger C.A., Doppler W., Groner B. 1988.** Prolactin regulation of beta-casein gene expression and of a cytosolic 120-kd protein in a cloned mouse mammary epithelial cell line. *Embo. J.* 7, 2089-95.
- Baranyi M., Brignon G., Anglade P., Ribadeau-Dumas B. 1995.** New data on the proteins of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk. *Comp. Biochem. Physiol.* 111B (3): 407-415.
- Baranyi M., Aszodi A., Devinoy E., Fontaine M.L., Houdebine L.M., Bosze Z. 1996.** Structure of the rabbit kappa-casein encoding gene: expression of the cloned gene in the mammary gland of transgenic mice. *Gen.* 174:27-34.

- Barkok A., Jaouzi T. 2002.** The Zemmouri Rabbits (Morocco), Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Zaragoza, CIHEAM-IAMZ, 2002. *Options Méditerranéennes, Série B, Etudes et Recherches*, n° 38, 175-185.
- Barone R., Pavaux C., Blin P.C, Cuq P. 1973.** Glandulae Sine Ductibus. In *Atlas d'Anatomie du Lapin*, Paris: Masson & Cie, p. 185-190.
- Belhadi S., Boukir M., Amriou L. 2002.** Non genetic factors affecting rabbit reproduction in Algeria. *Wor. Rab. Sci.*, 10(3) 103-109.
- Berchiche M., Zerrouki N., Lebas F. 2000.** Reproduction, performances of local Algerian does raised in rationnel condition. 7th World Rabbit Congress, 4-7 July 2000 Valence, Espagne. Vol. B: 43-49.
- Berchiche M., Kadi S.A. 2002.** The Kabyle rabbits (Algeria). Rabbit Genetic Resources in Mediterranean Countries. *Options méditerranéennes, Série B: Etudes et recherches*, 38:11-20.
- Berchiche M., Cherfaoui D., Lounaouci G., Kadi S.A. 2012.** Utilisation de lapins de population locale en élevage rationnel : Aperçu des performances de reproduction et de croissance en Algérie. 3^{ème} Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et d'Ichtyologie 6 -10 novembre 2012 Marrakech, Maroc.
- Berthon P., Salmon H.1993.** Facteurs immunitaires des sécrétions mammaires. In : *Biologie de la lactation* (Martinet J., Houdebine L.M., eds), INSERM et INRA.
- Blasco A., Ortega J.A., Climent A., Santacreu M.A. 2005.** Divergent selection for uterine capacity in rabbits. Genetic parameters and response to selection. *J. Anim. Sci.* 83:2297-2302.
- Bolet G. 1994.** Génétique et reproduction chez le lapin. *Journées AERA-ASFC*, 20 Janvier 1994, 12-17.
- Bolet G., Brun J., Lechevestrier S., Lopez M., Boucher S. 2001.** Evaluation des performances de reproduction de 8 races de lapins dans 3 élevages expérimentaux. 9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 2001, Paris, France, 213-216.
- Bolet G., Saleil G. 2002.** Strain INRA (France). Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Zaragoza, CIHEAM-IAMZ, 2002. *Options Méditerranéennes, Série B, Etudes et Recherches*, n°38, 113-137.
- Bolet G., Garreau H., Hurtaud J., Saleil G., Esparbie J., Falieres J., Theau-Clement M., Bodin L. 2007.** Sélection sur la variabilité du poids des lapereaux à la naissance. Réponses à la sélection et caractéristiques de l'utérus des lapines. 12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, 27-28 novembre 2007, ITAVI pp. 133- 136.
- Bolet G., Zerrouki N., Gacem M., Brun J.M., Lebas F., 2012.** Genetic parameters and trends for litter and growth traits in a synthetic line of rabbits created in Algeria. 10th World Rabbit Congress – September 3 - 6, 2012– Sharm El-Sheikh – Egypt, 195-199.
- Bösze Zs., Devinoy E., Puissant C., Fontaine M. L., Houdebine L. M.1993.** Characterization of the rabbit kappa-casein eDNA: control of kappa-casein gene expression in

vivo and in vitro. *J. tool. Endocrinol.* 11, 9-17.

BŐsze Zs., Houdebine L.M. 2006. Application of rabbits in biomedical research: a review. *Wor. Rab. Sci.*, 2006, 14: 1 – 14.

Boucher S., Martin K., Le Bourhis C., Simonneau V., Ripoll P.J. 2007. Evolution de la composition chimique du lait d'une souche de lapines de laboratoire au cours d'une lactation. 12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 27-28 novembre 2007, Le Mans, France.

Boulanger C.A., Bruno R.D., Mack D.L., Gonzales M., Castro N.P., Salomon D.S., Smith G.H. 2013. Embryonic stem cells are redirected to non-tumorigenic epithelial cell fate by interaction with the mammary microenvironment. *PLoS One* 8, e 62019.

Bradshaw J.P., White D.A.1985. The effect of tunicamycin on transferrin synthesis and secretion in hormonally stimulated explants of rabbit mammary gland. *Biosci. Repor.* 5, 229-236.

Brennan A.J., Sharp J.A., Lefevre C.M., Nicholas K.R.2008. Uncoupling the mechanisms that facilitate cell survival in hormone-deprived bovine mammary explants. *J. Mol. Endocrinol.* 41, 103-16.

Briskin C., O'Malley B. 2010. Hormone action in the mammary gland. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2, 003178.

Brun J.M., Baselga M. 2005. Analysis of reproductive performances during the formation of a synthetic rabbit strain. *Wor. Rab. Sci.*, 13, 239-252.

Bruno R.D., Boulanger C.A., Rosenfield S.M., Anderson L.H., Lydon J.P., Smith G.H. 2014.Paracrine-rescued lobulogenesis in chimeric outgrowths comprising progesterone-receptor-null mammary epithelium and redirected wild-type testicular cells. *J. Cell. Sci.* 127, 27-32.

«C»

Calvert D.T., Knight C.H., Peaker M. 1985. Milk accumulation and secretion in the rabbit. *Q J Exp. Physiol.* 70, 357-63.

Challis J.R., Davies J., Ryan K.J. 1973. The concentrations of progesterone, estrone and estradiol-17 beta in the plasma of pregnant rabbits. *Endocrinol.* 93, 971-6.

Chaou T. 2006. Etude des paramètres zootechniques et génétiques d'une lignée paternelle sélectionnée mise en place en G0 et sa descendance, du lapin local « *Oryctolagus Cuniculus* ». MEMOIRE DE MAGISTERE, *Ecole Nationale Vétérinaire, Algérie*, 102 p.

Chavatte-Palmer P., Laigre P., Simonoff E., Challah M., Chesné P., Renard J.P. 2005. Caractérisation de la croissance foetale in utéro par échographie chez la lapine. 11^{èmes} journées de la Recherche Cunicole, Paris, France, 29-30 Novembre 2005, 83-86.

Cherfaoui D., Berchiche M. 2012. Feed intake of reproductive rabbit does of two populations raised in Algerian conditions. In Proc. 10th World Rabbit Congress, September 3-6, 2012, Sharm El- Sheikh, Egypt, 385-388.

Cherfaoui-Yami D. 2015. Evaluation des performances de reproduction des lapines d'élevage rationnel en Algérie. THESE DE DOCTORAT, *Université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou*, 94 p.

Chibah-Ait-Bouziad K., Zerrouki-Daoudi N., Amroun laga T., Lebas F. 2014. Effet de la taille de portée née ou allaitée sur la production laitière de lapines de deux types génétiques élevées dans des conditions d'élevage rationnelles. 7^{èmes} *Journées de Recherche sur les Productions Animales*. 10-11 novembre, Tizi-Ouzou Algérie.

Chibah-Ait Bouziad K., Zerrouki-Daoudi N. 2015. Effets de la taille de portée à la naissance et du nombre de lapereaux allaités sur les aptitudes laitières des lapines de deux génotypes et sur la croissance des lapereaux avant sevrage. *LRRD*. Volume 27, Article #224. Retrieved February 29, 2016, from <http://www.lrrd.org/lrrd27/11/zerr27224.html>.

Chibah-Ait Bouziad K. 2016. Etude de la relation entre la production laitière de la lapine et la croissance du lapereau sous la mère : Analyse de quelques facteurs de variation liés à la femelle et au milieu. THESE DE DOCTORAT en Sciences Agronomiques, option *Productions Animales*. *Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie*, 140 pp.

Christ B., Lange K., Jeroch H. 1996. Effect of dietary fat on fat content and fatty acid composition of does milk. In 6th *Wor. Rab. Con.*, Toulouse, France, 1: 135-138.

Coates M.E., Gregory M.E., Thompson S.Y. 1964. The composition of rabbit's milk. *Br. J. Nut.*, 18, 583-586.

Cole C.B., Scott K.J., Henschel M.J., Coates M.E., Ford J.E., Fuller R. 1983. Trace nutrient binding proteins in milk and the growth of bacteria in the gut of infant rabbits. *Br. J. Nutr.*, 49, 231-240.

Combes S., Gidenne T., Cauquil L., Balmissse E., Aymard P., Bonnemere J.M., Bannelier C., Gabinaud B., Segura M., Tartie V., Fortun-Lamothe L. 2013a. L'apport de fèces au nid stimule le comportement de coprophagie des jeunes lapereaux, modifie les processus d'implantation du microbiote et améliore leur santé. 14^{èmes} *J. Rech. Cunicoles*, 19 & 20 nov. 2013, Le Mans, France.

Combes S., Gidenne T., Boucher S., Fortun-Lamothe L., Bolet G., Coureaud G. 2013b. Rabbit from birth to weaning: what tools for more robust rabbits? In *Proc. 15^{èmes} Journ. Rech. Cunicole*, 26-27 Novembre 2013, Le Mans, France, pp. 63-77.

Coudert P. 1982. Analyse de l'origine des pertes à la maternité. *Cuniculture* 45, 136-139.

Coudert P., Jobert J.L., Larour G., Guittet M. 2003. Relation entre l'entéropathie épizootique du lapin (EEL) et l'infestation par les coccidies: enquête épidémiologique. 10^{èmes} *Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 Novembre, Paris, 239-241.

Coureaud G., Schaal B., Coudert P., Rideaud P., Fortun-Lamothe L., Hudson R., Orgeur P. 2000. Immediate postnatal sucking in the rabbit: Its influence on pup survival and growth. *Rep., Nut., Dev.*, 40, 19-32.

Coureaud G., Fortun-Lamothe L., Langlois D., Schaal B. 2003. Communication odorante et phéromonale à finalité alimentaire entre la lapine et les lapereaux. In *Proc.10^{èmes} Journ. Rech. Cunicole, INRA-ITAVI, 19-20/nov/2003, Paris, ITAVI éd. Paris, 107-110.*

Cowie A.T. 1968. Lactation in the rabbit. *Natl. Inst. Res. Dairying, Rep. 1968, 84.*

«D»

Daniel C.W., Deome K.B., Young J.T., Blair P.B., Faulkin L.J., JR. 2009. The in vivo life span of normal and preneoplastic mouse mammary glands: a serial transplantation study. 1968. *J. Mamm. Gland Biol. Neo. 14, 355-62.*

Davies J.S., Widdowson E.M., McCance R.A. 1964. The intake of milk and the retention of its constituents while the newborn rabbit doubles its weight. *Br. J. Nut., 18 : 385-392.*

Dawson S.P., Wilde C.J., Tighe P.J., Mayer R.J. 1993. Characterization of two novel casein transcripts in rabbit mammary gland. *Biochem. J. 296:777-784.*

Dayal R., Hurlimann J., Suard Y. M. L. and Kraehenbuhl J.P. 1982. Chemical and immunochemical characterization of caseins and the major whey proteins of rabbit milk. *Biochem. J. 201, 71 79.*

Debnath J., Muthuswamy S.K.,Brugge J.S. 2003. Morphogenesis and oncogenesis of MCF-10A mammary epithelial acini grown in three-dimensional basement membrane cultures. *Elsevier, (3):256-268.*

Debray L. 2002. Nutrition du lapereau en période de sevrage ; interaction avec les besoins nutritionnels de la femelle. THESE DE DOCTORAT, *Institut National Polytechnique, Toulouse, France, 125 pp.*

Dehnhard M., Claus R., Munz O., Weiler U. 2000. Course of epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor I (IGF-I) in mammary secretions of the goat during end-pregnancy and early lactation. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med. 47, 533-40.*

Delouis C., Dijiane J., Houdebine L.M., Terqui M. 2000. Relation between hormones and mammary gland function. *J. Dairy Sci., 1980, 63, 492-1513.*

Delouis C., Houdebine L.M., Richard P. 2001. La lactation. La Reproduction chez les Mammifères et l'Homme. *Thibault C, Levasseur MC, Ellipses-INRA Editions. 580-610.*

Demarne Y., Lhuillery C., Pihet J., Martinet L., Flanzy J. 1978. Comparative study of triacylglycerol fatty acids in milk fat from two leporidae species: rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and hare (*Lepus europaeus*). *Comp. Biochem. Physiol. B, 61 (2): 223-226.*

Denamur R. 1963a. Mammary growth and lactogenesis induced by prolactin in the pregnant rabbit. *C R Hebd Seances Acad. Sci. 257, 1548-51.*

Denamur R. 1963b. Nucleic acids of the mammary gland during gestation and lactation in the rabbit. *C R Hebd Seances Acad. Sci. 256, 4748-50.*

Deome K.B., Faulkin L.J., Bern H.A., Blair P.B. 1959. Development of mammary tumors from hyperplastic alveolar nodules transplanted into gland-free mammary fat pads of female C3H mice. *Cancer Res.* 19, 515-20.

De Rochambeau H., Bolet G., Tudela F. 1994. Long term selection-comparison of two rabbit strains. *5th World Congress of Genetics Applied to livestock Production, Guelph, Canada, 7-12August, 1994, Vol XIX*, 257-260.

Devinoy E., Houdebine L.M. 1977. Effects of glucocorticoids on casein gene expression in the rabbit. *Eur. J. Biochem.* 75, 411-6.

Devinoy E., Hubert C., Schaerer E. and Houdebine L. M. 1988. Sequence of rabbit whey acidic protein cDNA. *Nucl. Acids Res.* 16, 8180.

«E»

Eirew P., Stingl J., Raouf A., Turashvili G., Aparicio S., Emerman J.T., Eaves C.J. 2008. A method for quantifying normal human mammary epithelial stem cells with in vivo regenerative ability. *Nat. Med.* 14, 1384-9.

El-Sayiad G.A., Habeeb A.A.M., El- Maghawry A.M. 1994. A note on the effects of breed, stage of lactation and pregnancy status on milk composition of rabbits. *Anim. Prod.*, 58: 153-157.

«F»

Fajemilehin S. O. K., Adegun M.K., Ogunlade J T., Fagbuaro S. S. 2013. Yield, Intake and Chemical Profile of Milk of Commercially Available Rabbits at First Parity. Research and Reviews: Journal of Agriculture and Allied sciences. *RRJAAS, Volume 2, Issue 4, October-December, 2013.*

Feliachi K., Abdelfettah M., Selhab F., Boudjakdji A., Takoucht A., Benani Z., Zemour A., Belhadj N., Rahmani M., Khecha A., Haba A. et Ghenim H., 2003. Rapport National sur les Ressources Génétiques Animales: Algérie. *Chapitre 4: État de la diversité génétique, identification des espèces et races présentes en Algérie*, p : 29-31.

Ferrah A., Yahiaoui S., Kaci A., Kabli L. 2003 .Les Races De Petits Elevages (Aviculture, Cuniculture, Apiculture, Pisciculture). *Recueil des Communications Atelier N°3 «Biodiversité Importante pour l'Agriculture» MATEGEF/ PNUD Projet ALG/97/G31.tome X*.52-61.

Fettal, M., Mor B., Benachour H. 1994. Connaissance des performances de croissance post-sevrage de lapereaux de population locale, élevés dans les conditions du terrain. *Opt. Méd.*, (8), 431-435.

Finzi A., Scappini A., Tanni, A. 1989. Tunisian non conventional rabbit breeding systems. *J. Appl. Rab.Res.*, 12: 181-184.

Finzi A. 1990. Recherche pour la sélection de souches de lapins thermo tolérants. *Opt. Méd.* (8), 41-47.

Fleischhauer H., Schlolaut W., Lange K. 1985. Influence of number of teats on rearing

performance of rabbits. *J. Appl. Rab. Res.*, 8, 174-176.

Fonty G., Gouet P., Riou Y. 1979. Effect of milk composition on the gastrointestinal microflora of artificially reared young rabbit. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 19 (3A): 567- 571.

Fortun L., Lebas F. 1994. Influence of the number of the sucking young and the feed level on foetal survival and growth in rabbit does. *Ann. Zootech.*, 43,163-171.

Fortun-Lamothe L., Bolet G. 1995. Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine. *INRA Prod. Ani.*, 1995, 8(1), 49- 56.

Fortun Lamothe L., Mariana J.C. 1998. Effets de la simultanéité de la gestation et de la lactation chez la lapine sur le développement folliculaire chez les filles futures reproductrices. 7^{èmes} *Journ. Rech. Cunicole Fr.*, Lyon, 261-264.

Fortun-Lamothe L., Gidenne T. 2003. Besoins nutritionnels du lapereau et stratégie alimentaire autour du sevrage. *INRA Prod. Anim.*16:41-50.

Fortun-Lamothe L. 2003. Résumés des communications présentées lors des 10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole dans la section « Reproduction ». *Cuni. Mag.* (30), 46 - 51.

Fortun-Lamothe L., Sabater F. 2003. Estimation de la production laitière à partir de la croissance des lapereaux. In Proc. 10^{èmes} *Journ. Rech. Cunicole, Paris, ITAVI Ed., Paris*, 69-72.

Fortun-Lamothe L. 2006. Energy balance and reproductive performance in rabbit does. *Ani.Rep.Sci.*, 93, 1-15.

Fraga M.J., Lorente M., Carabano R. M., De Blas J. C. 1989. Effect of diet and remating interval on milk production and milk composition of the doe rabbit. *Anim.Prod.* 48, 459-466.

«G»

Gabe M.1968.Techniques histologiques .*Edition Masson et Cie, pp* : 11-88.

Gacem M., Bolet G. 2005. Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche européenne. 11^{èmes} *Journées de la Recherche Cunicole*, 29-30 novembre 2005, Paris 15-18.

Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., Bolet G. 2008. Strategy for developing rabbit meat production in Algeria: Creation and selection of synthetic strain. <http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2008-Veronaf>

Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., Bolet G. 2009. Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie. 13^{èmes} *Journées de la Recherche Cunicole*, 17-18 novembre 2009, Le Mans, France In 9th *World Rabbit Congress. June 10-13. Verona. Italy*, 85-89.

Garreau H., De Rochambeau H. 2003. La sélection des qualités maternelles pour la croissance du lapereau. 10^{èmes} *Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 nov. 2003, Paris, ITAVI. 64-69.

Garreau H., Brun J.M., Theau-Clement M., Bolet G. 2008. Evolution des axes de recherche à l'INRA pour l'amélioration génétique du lapin de chair. *INRA Prod. Anim.*, 21 (3), 269-276.

Gaye P., Denamur R. 1969. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis*. Elsevier Volume 186, Issue 1, 22 July 1969, Pages 99-109.

Gidenne, T., Aymard, P., Bannelier, C., Coulmier, D., Lapanouse A. 2007. Valeur nutritive de la pulpe de betterave déshydratée chez le lapin en croissance. 12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 27-28 novembre 2007, Le Mans, France: 105-108.

Görs S., Kucia M., Langhammer M., Junghans P., Metges C.C. 2009. Technical note: Milk composition in mice methodological aspects and effects of mouse strain and lactation day. *J. Dairy Sci.* 92, 632-7.

Grabowski H., Le Bars D., Chene N., Attal J., Malienou-Ngassa R., Puissant C., Houdebine L.M. 1991. Rabbit whey acidic protein concentration in milk, serum, mammary gland extract, and culture medium. *J.Dairy Sci.*, 74 : 4143-4150.

Guerder F. 2002. Conduites en bandes: de bons résultats économiques. *Cuniculture*, 29:117-123.

Gutierrez H. E. & Zamora F. M. M. 2004. Ultrasonography study of rabbits pregnancy. 8th Wol. Rab. Cong. Puebla - Mexico. 276-280.

Guyette W. A., Matusik R. J., Rosen J. M. 1979. Prolactin-mediated transcriptional and post-transcriptional control of casein gene expression. *Cell.*, 17, 1013-1023.

Gyovai P., Nagy I., Gerencsér Zs., Matics Zs., Radnai I., Donkó T., Bokor Á., Farkas J., Szendrő Zs. 2012. Genetic parameters for litter weight, average daily gain and thigh muscle volume measured by in vivo Computer Tomography technique in Pannon White rabbits. *Livest. Sci.* 144, 119-123.

«H»

Hanzen C.H. 2010. Lait et production laitière 2008-2009. Lait et production laitière. *INRA, Prod. France*, n° 212, p 38.

Haslam S.Z. 1988. Acquisition of estrogen-dependent progesterone receptors by normal mouse mammary gland. Ontogeny of mammary progesterone receptors. *J. Steroid. Biochem.* 31, 9-13.

Hassan N.S. 2005. Animal model evaluation and some genetic parameters of milk production in New Zealand White and Baladi Black rabbits using DF-REML procedure. 4th International Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Sharm El-Sheikh.

Head H.H., Delouis C., Terqui M., Kann G., Djiane J. 1980. Effects of various hormone treatments on induction of lactation in the ewe. *J. Anim. Sci.* 50, 706-12.

Helman D., Herman A., Paly J., Livnah O., Elkins P.A., de Vos A.M., Djiane J., Gertler

- A. 2001.** Mutations of ovine and bovine placental lactogens change, in different ways, the biological activity mediated through homologous and heterologous lactogenic receptors. *J. Endocrinol.* 169, 43-54.
- Hopp T. P., Woods K. R. 1979.** Primary structure of rabbit α -lactalbumin. *Biochem.* 18, 5182-5191.
- Houdebine L.M., Djiane J., Dusanter –Fourt I., Martel P., Kelly P.A., Devinoy E., Servely J.L. 1985.** Hormonal action controlling mammary activity. *J. Dairy Sci.*, 68:489-500.
- Houdebine L. M.1986.** Contrôle hormonal du développement et de l'activité de la glande mammaire Reprod .*Nutr.Dévelop.*, 1986, 26 (2 B), 523-541.
- Houdebine L.M., Bosze Z. 1996.** Structure of the rabbit kappa-casein encoding gene: expression of the cloned gene in the mammary gland of transgenic mice. *Gen.*174:27-34.
- Houdebine L.M. 2007.** Biologie de lactation. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Gynécol.Obstét.*, 5-008-A-30,2007.
- Hovey R.C., McFadden T.B., Akers R.M. 1999.** Regulation of mammary gland growth and morphogenesis by the mammary fat pad: a species comparison. *J. Mamm. Gland Biol. Neopla.* 4, 53-68.
- Hovey R.C., Trott J.F., Vonderhaar B.K.. 2002.** Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J. Mamm. Glan. Biol. Neopla.* 7, 17-38.
- Hovey R.C., Trott J.F., Vonderhaar B.K. 2002.** Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J. Mamm. Glan. Biol. Neopla.* 7, 17-38.
- Hudson R., Schaal B., Martínez-Gómez M., Distel H. 2000.** Motheryoung relations in the European rabbit: physiological and behavioural locks and keys. *Wor. Rab. Sci.*, 8, 85-90.
- Hue-Beauvais C., Chavatte-Palmer P., Aujean E., Le Dahirel M., Laigre P., Péchoux C., Bouet S., Devinoy E., Charlier M. 2011.** An Obesogenic Diet Started Before Puberty Leads to Abnormal Mammary Gland Development During Pregnancy in the Rabbit. *Developmental Dynamics* 240:347–356, 2011. *J. Anim. Sci.* 2015.93:1641–1655.
- Hue Beauvais C. 2014.** Périodes critiques pour la croissance et le développement mammaire lors d'une alimentation obésogène, chez la lapine et la souris : Implication de la leptine. THESE DE DOCTORAT *option en physiologie. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines école doctorale des génomes aux organismes. Paris, France.*
- Hue-Beauvais C., Koch E., Chavatte-Palmer P., Galio L., Chat S., Letheule M., Rousseau-Ralliard D., Jaffrezic F., Laloë D., Aujean E., Révillion F., Lhotellier V., Gertler A., Devinoy E., Charlier M. 2015.** Milk from dams fed an obesogenic diet combined with a high-fat/high-sugar diet induces long-term abnormal mammary gland development in the rabbit. *J. Anim. Sci.*, 93(4):1641.

Hue-Beauvais C., Miranda G., Aujean E., Jaffrezic F., Devinoy E, Martin P., Charlier M. 2017. Diet-induced modifications to milk composition have long-term effects on offspring growth in rabbits. *J. Anim. Sci.* 2017.95:761–770.

Hulot F., Matheron G. 1981. Effets du génotype de l'âge et de la saison sur les composantes de la reproduction chez la lapine. *Ann. Gén. Sélec. Anim.*, 13(2), 131-150.

«I»

Ibarra I., Erlich Y., Muthuswamy S.K., Sachidanandam R. & Hannon G.J. 2007. A role for microRNAs in maintenance of mouse mammary epithelial progenitor cells. *Gen. Dev.* 21, 3238-43.

«J»

Jarrige R., Journet M., Vrit. R. 1978. Azote. In : R. Jarrige (ed), *Alimentation des ruminants, chapitre 3*, 89-128. INRA Paris.

Jaubert A., Martin P. 1992. Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins. Identification of α_1 and α_2 genetic variants. *Lait* 72, 235-247.

Jensen R. 1995. Handbook of milk composition-General description of milks ,Academic Press,Inc:3 (919 pages)

Johnson M.H., Everitt B.J. 2002. *Reproduction De Broeck University*. pp 297.

«K»

Kadi S.A., Guermah H., Bannelier C., Berchiche M., Gidenne T. 2011. Nutritive value of sun-dried sulla hay (*hedysarum flexuosum*) and its effect on performance and carcass characteristics of growing rabbits. *Wor. Rab. Sci.* 2011, 19: 151 - 159

Kappeler S. 1998. Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. THÈSE D'UNIVERSITÉ. Swiss Federal Institute of Technology,Zurich.

Kelly PA B.A., Kedzia C., Hennighausen L., Ormandy C.J, Kopchick J.J, Binart N. 2002. The role of prolactin and growth hormone in mammary gland development. *Mol Cell. Endocrinol.* 197, 127-31.

Khalil M.H., Khalil H.H. 1991. Genetic and phenotypic parameters for weaning and preweaning body weights and gain in Bouscat and Giza White rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.*, 14: 44-51.

Khalil M.H. 2002. The Baladi Rabbits (Egypt). Rabbit Genetic Resources in Mediterranean Countries. Zaragoza, CIHEAM-IAMZ. *Options Méditerranéennes. Série B. Etudes et recherches.* n°38, 37-50.

Khalil M.H., Mehaia M.A., Al-Homidan A.H., Al-Sobayil K.A. 2005. Genetic analysis for milk yield and components and milk conversion ratio in crossing of Saudi rabbits with V-line. *World Rabbit Sci.*, 13, 52-53.

Koehl P.F.1994. Etude comparative d'élevage cunicole à hautes et faibles performances. 6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. Vol. 2, 481- 485.

Kowalska D., Bielanski P. 2006. Effect of supplemental dietary fat for rabbits on milk composition and rearing performance of young rabbits. *World Rabbit Sci.*, 14 (sp), 63.

Kpodekon M., Youssao A.K.I., Koutinhoun B., Djago Y., Houezo M., Coudert P. 2006. Influence des facteurs non génétiques sur la mortalité des lapereaux au sud du Benin. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 150, 197-201.

Kráčmar S., Gajdušek S., Jelínek P., Rous P.2001. Changes in amino acid composition of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk within the first 30 days after parturition. *Czech J Anim Sci*, 46 (8): 348-351.

Kustos K., Szendrő Zs., Csapó J., Biró H., Radnai I., Biró-Németh E., Bálint Á., 1996. Effect of lactation stage and pregnancy status on milk composition. In Proc.6th World Rabbit Congr., Toulouse, France, 2, 187-190.

Kustos K., Papp Z., Szendrő Zs., Bálint A., 1999. Effect of environmental temperature and restricted feeding on composition of rabbit milk. In Proc.: 2nd Int. Conf. on Rabbit Production in Hot Climates. In: *Cahiers Options Méditerranéennes*, 41, 19-24.

«L»

Lakabi D., Zerrouki N., Berchiche M., Lebas F. 2004. Growth performances and slaughter traits of a local Kabyle population of rabbits reared in Algeria: Effects of sex and rearing season. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla (Mexico) Sept*, WRSA ed., 1396-1402.

Lakabi D. 2009. Production de viande de lapin : Essais dans les conditions de production algériennes. *Thèse de Doctorat en Biologie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou*, 162 pp.

Laud K., Gourdou I., Pessemesse L., Peyrat J.P. & Djiane J. 2002. Identification of leptin receptors in human breast cancer: functional activity in the T47-D breast cancer cell line. *Mol Cell Endocrinol* 188, 219-26.

Layssol-Lamour C., Hurtaud J., Saleil G., Laperruque F., Tircazes A., Ruesche J., Bolet G. 2009. Suivi par échographie et sacrifice à J28 du développement embryonnaire et fœtal dans deux lignées divergentes de lapins sélectionnées sur l'homogénéité du poids des lapereaux à la naissance. In Proc. 13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, ITAVI, publ. 17-18 Novembre 2009, Le Mans, France, 145-148.

Lazzaroni C., Biagini D., Redaelli V., Luzi F. 2012. Technical Note: Year, season, and parity effect on weaning performance of the Carmagnola Grey Rabbit breed. *Wor. Rab. Sci.*, 20: 57-60.

Lebas F., 1969. Alimentation lactée et croissance pondérale du lapin avant sevrage. *Ann. Zootech.*, 18 (2), 197-208.

- Lebas F., Coudert P., Rouvier R., De Rechambeau H. 1986.** The rabbit husbandry, health and production. *FAO. Anim. Prod. and Health series, Rome.*fo.
- Lebas F. 1970.** Description d'une machine à traire les lapines. *Ann. Zootech.*, 19, 223-228.
- Lebas F., 1971.** Composition chimique du lait de lapine, évolution au cours de la traite et en fonction du stade de lactation. *Ann. Zootech.*, 20 (2): 185-191.
- Lebas F., Besançon P., Abouyou A. 1971.** Composition minérale du lait de lapine. Variations en fonction du stade de lactation. *Ann. Zootech.*, 20 (4) : 487-495.
- Lebas F. 1974.** La mortalité des lapereaux sous la mère. *Cuniculture*, 1, 40-45.
- Lebas F., Coudert P., Rouvier R., de Rochambeau H. 1986.** The rabbit: Husbandry and Health. *FAO Anim. Production and Health Series, no. 21. 202 pp.*
- Lebas F.1987.** Influence de la taille de la portée et de la production laitière sur la quantité d'aliment ingérée par la lapine allaitante. *Repro. Nutr. Dévelop.*, 1987 .27 (1B), 207-208.
- Lebas F., Marionnet D., Henaff R. 1991.** La production du lapin.(3ème Edition révisée) *AFC et Tec & Doc co-éditeurs, 206 pp.*
- Lebas F. 1994.** La reproduction chez la lapine : le point. *Bull. Tech. Insém. Artif.*, N°72, (mai 1994), 29-31
- Lebas, F., Coudert, P., De Rochambeau, H., Thébault, R G. 1996.** Le lapin, élevage et Pathologie (nouvelle édition révisée). *FAO éditeur, Rome, 227p.*
- Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H., Thébault R.G. 1996.** Nutrition et alimentation. In : Le lapin : Elevage et pathologie. *FAO Eds, Rome, Italie, 21-50.*
- Lebas F. 2000.** Overview of rabbit production in the World. *Annual WRSA Chinese Branch Meeting, Ningbo (Chine) 22-23 Decembre 2000, 8 pp.*
- Lebas F. 2000.** Systèmes d'élevage en production cunicole. *Jornadas Internacionais de Cunicultura, 24-25 Nov.2000, Vila Real (Portugal), 163-170.*
- Lebas F., Colin M. 2000 .**Production et consommation de viande de lapin dans le Monde Estimation en l'an 2000. *Jornadas Internacionais de Cunicultura APEZ -24 e 25 de Novembro 2000 - UTAD Vila Real, Portugal.*
- Lebas F. 2002.** 2^{ème} Congrès de Cuniculture des Amériques.
- Lebas F. 2007.** Acides gras en Oméga 3 dans la viande de lapin Effets de l'alimentation. *Cuniculture Magazine Volume 34 (année 2007) pages 15 à 20.*
- Lebas F., Zerrouki N. 2010.** Méthodes de mesure de la production laitière chez la lapine. 14^{èmes} Journées de Recherche Cunicole, 22-23 Novembre 2011.*Le Man, France.*

Lebas F. 2010. Situation cunicole en France en 2009. Performances moyennes des élevages selon les résultats de RENACEB pour l'année 2009, situation du Marché cunicole français et premières évaluation pour l'année 2010. *Cunic. Mag.*, 37, 74-82.

Lebas F., Gacem M., Meftah I., Zerrouki N., Bolet G. 2010. Comparison of reproduction performances of a rabbit synthetic line and of rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations First results. *The 6th International Conference on Rabbit Production in Hot Climates*, 1- 4 February-Assiut, Egypt.

Lebas F., Zerrouki N. 2011. Méthodes de mesure de la production laitière chez la lapine. 14^{èmes} Journées de Recherche Cunicole, 22-23 novembre 2011, Le Mans, France.

Lollivier V., Marnet P.G., Delpal S., Rainteau D., Achard C., Rabot A., Ollivier-Bousquet M. 2006. Oxytocin stimulates secretory processes in lactating rabbit mammary epithelial cells. *J. Physiol.* 570, 125-40.

Lounaouci-Ouyed G., Berchiche M., Gidenne T. 2014. Effects of substitution of soybean meal-alfalfa-maize by a combination of field bean or pea with hard wheat bran on digestion and growth performance in rabbits in Algeria. *Wor. Rab. Sci.* 2014, 22: 137-146.

Lu M.H., Anderson R.R. 1973. Growth of the mammary gland during pregnancy and lactation in the rabbit. *Biol. Reprod.* 9, 538-43.

Lucas A., 1991. Programming by early nutrition in man. *ciba Found symp*, 38-50.

Lukefahr S., Hohenboken W.D., Cheeke P.R., Patton N.M. 1983. Characterization of straightberd and crosseberd rabbit of milk production and associative traits. *J. Anim.Sci.*, 57 (5):1100-1107.

«M»

Macias H., Hinck L. 2012. Mammary gland development. *Wiley Interdiscip Rev. Dev. Biol.* 1, 533-57.

Maertens L., Van Renterghem R., De Groote G. 1994. Effects of dietary inclusion of Paciflor® (*Bacillus* CIP 5832) on the milk composition and performances of does and on caecal and growth parameters of their weanlings. *Wor. Rab. Sci.*, 2, 67-73.

Maertens L., Aerts J.M., De Brabander D.L., 2005. Effet d'un aliment riche en acides gras omega-3 sur les performances et la composition laitière des lapines et la viabilité de leur descendance. *Proc. 11^{èmes} Journées Recherche Cunicole*, Paris, ITAVI Ed., Paris, 205-208.

Maertens L., Vanacker J., De Coninck J. 2006a. Milk yield and milk composition of 2 commercial hybrids and a selected strain fed a high- energy lactation diet. *Proc. 18th Hungarian Conference on Rabbit Production*, Kaposvar 24 May 2006, 35-41.

Maertens L., Lebas F., Szendro Zs, 2006b. Rabbit Milk: A review of quantity, quality and non-dietary affecting factor. *Wor. Rab. Sci.* 14, 205-30.

- Marai I.F.M., Habeeb A.A.M., Gadb A.E. 2002.** Rabbits productive, reproductive and physiological performance. Traits as affected by heat stress: a Review. *Livestock Pro. Sci.* 78; 71-90.
- Marai I.F.M., Rashwan A.A. 2004.** Behavioural response of rabbits to climatic and managerial conditions - a Review. *Archiv. Fur. Tierzucht* 47(5), 469-482.
- Marcus G.E., Shum T.F., Goldman S.L. 1990.** A device for collecting milk from rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, 40, 219-221.
- Martin P., Grosclaude F. 1993.** Improvement of milk protein quality by gene technology. *Livestock Pro. Sci.*, 35: 95-115. *adrid*, VI, 481.
- Martinet J., Houdebine L.M. 2006.** Glande mammaire, mammogénèse, facteurs de croissance, lactogénèse. In: Martinet J, Houdebine LM (Eds), *Biologie de la lactation*, INRA-INSERM, Paris, 1993, p 3-29.
- Martoja R., Martoja M. 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. *Edition Masson et Cie*, p 3-114.
- Mather I.H., Keenan T.W. 1998.** The cell biology of milk secretion: historical notes. Introduction. *J; Mamm.Gland Biol. Neop.* 3, 227-32.
- Matheron G. 1982.** Genetic and selection of litter size in rabbit. 2nd Cong. Genetic app. *Livestock prod.*
- McClellan H.L., Miller S.J., Hrtmann P.E. 2008.** Evolution of lactation: nutrition. Protection with special reference to five mammalian species. *Natur. Res. Rev.* 97-116.
- McNitt J.I., Lukefahr S.D. 1990.** Effect of breed, parity, day of lactation and number of kits on milk production of rabbits. *J. Anim. Sci.*, 68, 1505-1512.
- Mefti-Korteby H., Kaidi R., Sid S., Daoudi O. 2010.** Growth and Reproduction Performance of the Algerian Endemic Rabbit. *European Journal of Scientific Research Vol.40 No.1 (2010)*, pp.132 -143.
- Mefti-Korteby H. 2012.** Caractérisation zootechnique et génétique du lapin local *Oryctolagus cuniculus*). THESE DE DOCTORAT en sciences agronomiques, Université de Blida, 209 p.
- Mohamed M.M.A., Szendrő Zs., 1992.** Studies on nursing and milk production of does and milk intake and suckling behaviour of their kits. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15, 708-716.
- Moumen S., Ain Baziz H., Temim S. 2009.** Effet du rythme de reproduction sur les performances zootechniques des lapines de population locale Algérienne (*Oryctolagus cuniculus*). *Livestock Reserche for Rural Developement* 21(8)2009.
- Mulac-Jericevic B., Lydon J.P., DeMayo F.J., Conneely O.M. 2003.** Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci., U S A* 100, 9744-9.

«N»

Neville M.C., Medina D., Monks J. & Hovey R.C. 1998. The mammary fat pad. *J. Mamm. Gland Biol. Neop.* 3, 109-16.

«O»

Orengo J., Gidenne T. 2007. Comportement alimentaire et caecotrophie chez la lapereau avant sevrage. 11^{èmes} Journées de la recherche cunicole, 29-30 nov. 2005 Paris, pages 45-48.

Ormandy C.J. C.A., Barra J., Damotte D., Lucas B., Buteau H., Edery M., Brousse N., Babinet C., Binart N., Kelly P.A. 1997. Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse. *Gen. Dev.* 11, 167-78.

Othmani-Mecif K., Benazzoug Y. 2005. Caractérisation de certains paramètres biochimiques plasmatiques et histologiques (tractus génital femelle) chez la population locale de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) non gestante et au cours de la gestation. *Sciences et technologie C-N°23*, pp.91-96.

«P»

Pak K.W., Kim S.J., Min W.K., Pak I.Y., Huang H., Kim S. W., Lee K.K. 1999. Cloning of the rabbit alpha-lactalbumin gene and characterization of its promoter in cultured mammary cells. *Submitted to the EMBL/DDBJ databases.*

Parigi-Bini, R., Xiccato G., & Cinetto M. 1990. Energy and protein retention and partition in rabbit does during the first pregnancy. *Cuni-Sci.*, 6:19-29.

Partridge G.G., Garthwaite P.H., Findlay M. 1989. Protein and energy retention by growing rabbits offered diets with increasing proportions of fibre. *J. Agric. Sci.*, 112, 171-178.

Pascual J.J., Cervera C., Blas E., Fernández- Carmona J. 1999. Effect of high fat diets on the performance, milk yield and milk composition of multiparous rabbit does. *Anim. Sci.*, 68 : 151-162.

Pélissier J.-P., Ribadeau-Dumas B. 1986. Synthèse des protéines du lait. *Reproduction Nutrition Développement*, 26 (2B), pp.563-571.

Perrier G., Jouanno M., Drouet J.P. 2003. Influence de l'homogénéité et de la taille de portée sur la croissance et la viabilité des lapereaux de faible poids à la naissance. 10^{ème} Journ. Rech. Cunicole, INRA-ITAVI, 19-20/nov/2003, Paris, ITAVI éd. Paris, 115-118.

Perret J.P. 1980. Lipolyse gastrique des triglycérides du lait maternel, et absorption gastrique des acides gras à chaîne moyenne chez le Lapereau. *J. Physiol.*, 76: 159-166.

Planinc M., Kermauner A., Malovrh Š., Kovač M. 2011. Growth and mortality of sika suckling rabbits in Slovenia. *Acta argiculturae Slovenica*, 98/2, 135-141, Ljubljana 2011.

Poigner J., Szendrő Zs., Leval A., Radnai L., Biro-Nemeth E. 2000. Effect of birth weight and litter size on growth and mortality in rabbits. *Wor. Rab. Sci.*, Vol 8(1), 17-22.

«R»

Rashwan A.A., Marai I.F.M. 2000. Mortality in young rabbits: A Review. *Wor. Rab. Sci.*, 8, 111-124.

Rommers J.M., 2004. Breeding of young females does. *Proceedings - 8th World Rabbit Congress –September 7-10, 2004 – Puebla, Mexico, 1518-1531.*

Rommers J.M., Kemp B., Meijerhof R., Noordhuizen J.P.T.M. 2001. The effect of litter size before weaning on subsequent body development, feed intake, and reproductive performance of young rabbit does. *J. Anim. Sci.*, 79:1973-1982.

Rommers J.M., Kemp B., Meijerhof R., Noordhuizen J.P.T.M. 2002. The effect of litter size before weaning on subsequent body development, feed intake, and reproductive performance of young rabbit does. *J. Anim. Sci.*, 79:1973-1982.

Ronti T., Lupattelli G. & Mannarino E. 2006. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 64, 355-65.

Rossilet A. 2004. Alimentation des poulets de chair Cours d'alimentation et de zootechnie 3e année Dakar: *EISMV*.32p.

«S»

Saidj D., Aliouat S., Arabi F., Kirouani S., Merzem K., Merzoud S., Merzoud I., Ain Baziz H. 2013. La cuniculture fermière en Algérie: une source de viande non négligeable pour les familles rurales. *Livestock Research for Rural Development. Volume25,Article#138.* Retrieved February20,2016,from<http://www.lrrd.org/lrrd25/8/said25138.htm>.

Sarra R., Garratt R.C., Gorinsky B., Jhoti H., Lindley P.F. 1990. High-resolution X-ray studies on rabbit serum transferrin: preliminary structure analysis of the N-terminal half-molecule at 2.3-A resolution. *Acta Crystallogr. B* 46:763-77.

Schaerer E., Devinoy E., Kraehenbuhl J. P. and Houdebine L. M. 1988. Sequence of the rabbit //-casein eDNA: comparison with other casein cDNA sequences. *Nucl. Acids Res.*16, 11814.

Schuh D., Hoy S.T., Selzer D. 2004. Vocalization of rabbit pups in the mother-young. Relationship. *8th World Rabbit Congress. Puebla-Mexico.* 1266-1270.

Servely J.L., Emane M.N., Houdebine L.M., Djiane J., Delouis C., Kelly P.A. 1983. Comparative measurement of the lactogenic activity of ovine placental lactogen in rabbit and ewe mammary gland. *Gen. Comp. Endocrinol.* 51, 255-62.

Sheffield L.G. 1998. Hormonal regulation of epidermal growth factor receptor content and signaling in bovine mammary tissue. *Endocrinol.* 139, 4568-75.

Smith S., Wats R., Dils R. 1968. Quantitative gas-liquid chromatographic analysis of rodent milk triglycerides. *J. Lipid. Res.*, 9: 52-57.

Smith G.H., Medina D. 1988. A morphologically distinct candidate for an epithelial stem cell in mouse mammary gland. *J. Cell. Sci.*, 90 (Pt 1), 173-83.

Stingl J., Eirew P., Ricketson I., Shackleton M., Vaillant F., Choi D., Li H.I., Eaves C.J. 2006. Purification and unique properties of mammary epithelial stem cells. *Nat.*, 439, 993-7.

Strong C.R., Forsyth I., Dils R. 1972. The effects of hormones on milk-fat synthesis in mammary explants from pseudopregnant rabbits. *Biochem. J.* 128, 509-19.

Szendrő Zs. 2000. The nutritional status of foetuses and suckling rabbits and its effects on their subsequent productivity: A Review. 7th World Rabbit Congress, Valencia, Spain, 4-7 July 2000, Vol B, 375-394.

«T»

Theau-Clément M., Poujardieu B. 1994. Influence du mode de reproduction, de la réceptivité et du stade physiologique sur les composantes de la taille de portée des lapines. 6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle, France, 6-7 Décembre 1994, Vol 1, 187-194.

Theau-Clément M. 2008. Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes d'induction de l'œstrus. *INRA Prod. Anim.*, 2008, 21 (3), 221-230.

Testud M., Ribadeau-Dumas B. 1973. Etude des caséines du lait de la lapine. *Biochimie* 55, 1085-1093.

Teyssot B., Houdebine L. M. 1980. Role of prolactin in the transcription of β -casein and 28S ribosomal genes in the rabbit mammary gland. *Eur. J. Biochem.*, 110, 263-272.

Thepot D., Devinoy E., Fontaine M.-L., Hubert C., Houdebine L.M. 1990. Complete sequence of the rabbit whey acidic protein gene. *Nucleic Acids Res.* 18:3641-3641.

Tůma J., Tůmová E., & Valášek V. 2010. The effect of season and parity order on fertility of rabbit does and kit growth. *Czech J. Anim. Sci.*, 55, 2010 (8): 330–336.

«V»

Van Keymeulen A., Rocha A.S., Ousset M., Beck B., Bouvencourt G., Rock J., Sharma N., Dekoninck S. & Blanpain C. 2011. Distinct stem cells contribute to mammary gland development and maintenance. *Nature* 479, 189-93.

Verrier E., Rognon X., Leroy G., Heams T. 2009. Le croisement: apports potentiels du croisement, principaux plans de croisement. *Agro. Paris Tech.*, 97-126.

Viard-Drouet F., Coudert P., Durand P., Prov F. 1983. Pathologie des reproductrices évolutions de quelques paramètres plasmatiques chez des lapines primipares. *Ann. Rech. Vet.*, 14 (2), 105-115.

«W»

Watson C.J. 2006. Involution: apoptosis and tissue remodelling that convert the mammary gland from milk factory to a quiescent organ. *Breast Cancer Res.*, 8, 203.

«X»

Xiccato G., Trocino A., Queaque P.I., Sartori A. 2001. Effect of weaning age and parity order on reproductive performance and body balance of rabbit does. *2nd meeting of workgroups 3 and 4. COST Action 848. 29-30 June 2001, Godollo, Hungary*, 54-55.

Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I. 2004. Effect of parity order and litter weaning age on the performance and body energy balance of rabbit does. *Livest. Prod. Sci.*, 85, 239-251.

«Z»

Zhang F., Basinski M.B., Beals J.M., Briggs S.L., Churgay L.M., Clawson D.K., DiMarchi R.D., Furman T.C., Hale J.E., Hsiung H.M., Schoner B.E., Smith D.P., Zhang X.Y., Wery J.P., Schevitz R.W. 1997. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nat.* 387, 206-9.

Zerrouki N., Bolet G., Berchiche M., Lebas F. 2001. Caractérisation d'une population locale de lapins en Algérie: performances de reproduction des lapines. *9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole. Paris*, 28-29 Nov: 163-166.

Zerrouki N., Kadi S.A., Berchiche M., Bolet G. 2003. Etude de la mortalité des lapereaux sous la mère dans une population locale algérienne. *10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 nov. 2003, Paris.

Zerrouki N., Lebas F., Berchiche M., Bolet G. 2005. Evaluation of milk production of an Algerian local rabbit population raised in the Tizi-Ouzou area (Kabylia). *Wor. Rab. Sci.*, 13, 39 -47.

Zerrouki N. 2006. Caractérisation d'une population locale de lapins en Algérie : évaluation des performances de reproduction des lapines en élevage rationnel. THESE DE DOCTORAT, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 131 p.

Zerrouki N., Kadi S.A., Lebas F., Bolet G. 2007. Characterization of a Kabylia population of rabbits in Algeria: Birth to weaning growth performance. *World Rabbit Science*, 15, 111-114.

Zerrouki N., Lebas F., Davoust C., Corrent E. 2008. Effect of mineral blocks addition on fattening rabbit performance. *9th World Rabbit Congress, June 10-13, 2008, Verona Italy*, 853-857.

Zerrouki N., Bolet G., Theau-Clément M. 2009. Etudes des composantes biologiques de la prolificité de lapines de population locale algérienne. *13^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 17-18 novembre 2009, Le Mans, France, 153-156.

Zerrouki N., Lebas F., Gacem M., Meftah I., Bolet G., 2014. Reproduction performances of a synthetic rabbit line and rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations. *Wor. Rab. Sci.*, 2014, 22: 269-278.

ANNEXES

Annexe 1 : Dosage de la teneur en matière grasse par la méthode acido-butyrométrique dite de Gerber

I- Réactifs

- Acide sulfurique de masse volumique $\rho_{20} = 1,820 \pm 0,005 \text{ g/mL}$.
- Alcool Isoamylique, exempt de furfural (masse volumique $\rho_{20} = 0,811 \pm 0,002 \text{ g/mL}$, point d'ébullition $130^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$).

II- Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

- Butyromètre à lait muni d'un bouchon approprié. Il existe plusieurs types de butyromètres. Il faut choisir celui dont la graduation correspond à la teneur en matière grasse supposée.
 - Pipette à lait de 11 ml, à un seul trait.
 - Mesureur à acide sulfurique (délivrant 10 mL) ou pipette de sûreté de 10 mL.
 - Mesureur à alcool isoamylique (délivrant 1 mL) ou pipette de sûreté de 1 mL.
 - Bain d'eau pour butyromètres, à $65 - 70^\circ\text{C}$.
 - Centrifugeuse électrique pour butyromètres à lait :

Cette centrifugeuse doit atteindre en deux minutes, lorsqu'elle est entièrement chargée, une vitesse produisant une accélération radiale, à l'extrémité extérieure du bouchon du butyromètre, de 350 ± 50 fois l'accélération due à la pesanteur. Une telle accélération est produite par exemple par une centrifugeuse ayant un diamètre de $52 \pm 1 \text{ cm}$ (distance entre les extrémités extérieures des bouchons des butyromètres diamétralement opposés) opérant à 1100 ± 50 tours par minute.

La formule pour calculer d'autres combinaisons entre le diamètre et la vitesse est la suivante :

$$a = 11,81 \cdot r \cdot n_1^2$$

a est l'accélération radiale en g, c'est-à-dire le multiple de l'accélération due à la pesanteur

r est la moitié de la distance, en centimètres, entre les extrémités extérieures des bouchons des butyromètres diamétralement opposés,

n₁ est le nombre de tours par minute, divisé par 1000.

III- Mode opératoire

-Préparation de l'échantillon

Avant l'analyse, porter l'échantillon à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et mélanger soigneusement. Si l'on n'obtient pas une dispersion homogène de la matière grasse, chauffer l'échantillon lentement à 40°C , mélanger doucement et refroidir à $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$

- Détermination

- Préparation du butyromètre

Introduire dans le butyromètre 10 ml d'acide sulfurique en évitant de mouiller le col.

Ajouter avec la pipette 11 ml de lait, en plaçant la pointe de la pipette en contact avec la base du col du butyromètre et en évitant un mélange prématuré du lait avec l'acide.

Verser à la surface du lait 1 ml d'alcool isoamylique, en ayant soin de ne pas mélanger les liquides ni de mouiller le col du butyromètre. Boucher le butyromètre.

- Agitation

Procéder à l'agitation jusqu'à ce que la caséine, qui se coagule dès que le lait est mélangé à l'acide, soit entièrement dissoute.

Remettre alors le butyromètre dans la position qu'il occupait avant l'agitation et attendre que

le mélange ait complètement rempli l'ampoule terminale; aussitôt après, procéder au retournement et attendre que cette ampoule terminale se soit entièrement vidée ; procéder deux autres fois à ces alternances de remplissage et de vidage de l'ampoule.

Grâce à ces six retournements successifs du butyromètre l'agitation est suffisante et le mélange homogène. .

Le butyromètre se trouve porté à environ 80 °C, du fait du mélange de l'acide avec le lait. Il faut veiller à ce qu'il ne se produise pas de refroidissement important pendant l'agitation qui, pour cette raison, doit être menée aussi rapidement que possible.

- Centrifugation

On procède ensuite à la centrifugation, aussitôt après l'agitation précédente, sans laisser refroidir le butyromètre. Si une circonstance quelconque devait faire différer la centrifugation, il faudrait avant d'y procéder, plonger le butyromètre pendant au moins cinq minutes dans le bain d'eau, puis l'essuyer avant de le mettre en place dans la centrifugeuse.

Au moment d'introduire le butyromètre dans la centrifugeuse, ajuster le bouchon de manière que, après la centrifugation, la colonne grasse se trouve dans l'échelle graduée.

La durée effective de cette centrifugation doit être au moins égale à cinq minutes.

- Lecture

Au sortir de la centrifuge, plonger le butyromètre verticalement, bouchon en bas, dans le bain d'eau et l'y laisser cinq minutes avant de procéder à la lecture. Le niveau de l'eau doit recouvrir l'ampoule terminale du butyromètre, au moment de mettre le butyromètre au bain d'eau, modifier s'il y a lieu le réglage du bouchon pour que la colonne grasse se place exactement dans l'échelle graduée.

La lecture doit être effectuée rapidement (en moins de dix secondes), dans les conditions suivantes:

- a) Sortir le butyromètre du bain d'eau, saisir la panse après l'avoir enveloppée d'un chiffon et essuyer rapidement la tige graduée I
- b) Le butyromètre étant placé verticalement, examiner le plan inférieur de la colonne grasse et l'amener en coïncidence avec une division par une manœuvre appropriée du bouchon. En principe, il est préférable de faire descendre la colonne grasse plutôt que de la faire monter. S'assurer qu'il n'a pas été projeté de matière grasse dans l'ampoule terminale au cours de cette manipulation ;
- c) Cette coïncidence étant obtenue, assurer l'immobilité de la colonne grasse en maintenant le bouchon.
- d) Déplacer le butyromètre devant l'œil et lire le niveau le plus bas du ménisque supérieur de la colonne grasse ;
- e) Vérifier immédiatement le plan de séparation inférieur de la colonne grasse pour s'assurer qu'il n'a pas bougé. S'il est déplacé, corriger la position par une manœuvre appropriée du bouchon.
- f) Relire de la même manière le ménisque supérieur. Si le plan inférieur ne s'est pas déplacé, cette deuxième visée doit donner la même valeur que lors de la première lecture. Si la deuxième valeur est différente de la première. Vérifier une fois de plus la position du plan horizontal inférieur et procéder à une troisième lecture.

Il faut absolument aboutir à ce résultat : deux lectures consécutives du ménisque supérieur doivent donner la même valeur. C'est la preuve de la constance de position du plan horizontal inférieur.

g) Si l'on n'est pas parvenu au résultat précédent en dix secondes, replonger le butyromètre dans le bain d'eau et refaire la lecture deux ou trois minutes plus tard.

IV- Expression des résultats

La teneur en matière grasse du lait, exprimée en grammes par litre, est égale à :

$$(n' - n) \times 10$$

Où

n' est la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse ;

n est la valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse.

Si la teneur en matière grasse doit être rapportée à 100 grammes de lait. Il y a lieu, soit de faire le calcul, la masse volumique du lait étant connue, soit d'utiliser une pipette spéciale appropriée.

Annexe 2 : Détermination de la teneur en matière sèche et en eau

I- Appareillage

-capsule en platine ou en autre matière inaltérable dans les conditions de l'essai, de forme cylindrique, à fond, bien plat, de 55 à 60 mm de diamètre et de 20-25 mm de hauteur, de préférence avec couvercle.

- bain-marie à niveau constant, fermé par un couvercle métallique dans lequel sont ménagées des ouvertures circulaires, d'un diamètre inférieur de 5 mm à celui des capsules employées; celles-ci sont posées de manière à obturer entièrement les ouvertures. La distance entre le couvercle et le niveau de l'eau doit être de 5 à 6 cm,

-étuve à 103 °C ± 2 °C.

- appareil de refroidissement en atmosphère ne permettant pas de reprise d'humidité, par exemple dessiccateur, contenant un agent déshydratant efficace.

- balance analytique.

Éventuellement :

Pipettes à lait de 5 mL.

II- Mode opératoire

-Préparation de l'échantillon

Avant l'analyse, porter l'échantillon à 20°C ± 2 °C et mélanger soigneusement. Si l'on n'obtient pas une dispersion homogène de la matière grasse, chauffer l'échantillon lentement à 40 °C, mélanger doucement et refroidir à 20°C ± 2 °C.

- Prise d'essai

Dans la capsule séchée et tarée à 0,1 mg près, introduire à la pipette 5 ml de lait ou peser, à 1 mg près, environ 5 g de lait. Dans ce dernier cas, utiliser, de préférence, une capsule avec couvercle.

-Détermination

Placer la capsule, découverte, pendant 30 minutes sur le bain-marie bouillant, puis l'introduire dans l'étuve réglée à 103 °C ± 2 °C et l'y laisser 3 heures. Mettre ensuite la capsule dans l'appareil de refroidissement et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante. Peser à 0,1 mg près.

Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.

III- Expression de résultats

2-1 -Mode de calcul et formule

La matière sèche, exprimée en grammes, par litre de lait, est égale à :

$$(M_1 - M_0) \times \frac{1\,000}{V}$$

La matière sèche du lait, exprimée en pourcent en masse, est égale à :

$$\frac{(M_1 - M_0)}{(M_2 - M_0)} \times 100$$

Où :

M₀ est la masse, en grammes, de la capsule vide,

M₁ est la masse, en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement,

M₂ est la masse, en grammes, de la capsule et de la prise d'essai,

V est le volume, en millilitres, de la prise d'essai.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats obtenus lors des déterminations si les conditions de répétitivité sont remplies. Dans le cas contraire, effectuer à nouveau les déterminations.

La quantité d'eau contenue dans la prise d'essai, exprimée en grammes par litre de lait, est égale à : $M_2 - M_1$.

Annexe 3 : Dosage de la teneur en azote total

I- Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

- **Sulfate de potassium** (K_2SO_4), exempt d'azote.

- **Solution de sulfate de cuivre (II)**, ($CuSO_4$) = 5,0 g par 100 mL.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre 5,0 g de sulfate de cuivre (II) pentahydraté ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) dans de l'eau. Diluer jusqu'au repère avec de l'eau, puis mélanger.

- **Acide sulfurique** (H_2SO_4), avec un rapport de masse compris entre 95 % et 98 %, sans azote (ρ_{20} = environ 1,84 g/ml).

- **Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH)**, exempte d'azote, contenant 50 g d'hydroxyde de sodium par 100 g de solution.

- Solution indicatrice

Dissoudre 0,1 g de rouge de méthyle dans de l'éthanol à 95% (rapport de volume) et diluer à 50ml avec de l'éthanol. Dissoudre 0,5 g de vert de bromocrésol dans de l'éthanol à 95 % (rapport de volume) et diluer à 250 ml avec de l'éthanol. Mélanger une dose de la solution de rouge de méthyle à cinq doses de la solution de vert de bromocrésol ou combiner et mélanger l'ensemble des deux solutions.

- **Solution d'acide borique**, $C(H_3BO_3) = 40,0 \text{ g/l}$.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, dissoudre 40,0 g d'acide borique dans 1 litre d'eau chaude. Laisser refroidir la fiole et son contenu à 20 °C. Compléter au volume avec de l'eau, ajouter 3 ml de la solution indicatrice et mélanger. Conserver la solution, qui doit être orange clair, dans une bouteille en verre de borosilicate. Durant le stockage, protéger la solution de la lumière et des sources de vapeurs d'ammoniac.

- **Solution volumétrique standard d'acide chlorhydrique**, (HCl) = $(0,1 \pm 0.0005) \text{ mol/L}$. Il est recommandé d'acheter ce matériau déjà prénormalisé, répondant à ces spécifications.

- **Sulfate d'ammonium** $[(NH_4)_2S]$, ayant une pureté minimale de 99,9 % (rapport de masse) sur matière sèche.

Immédiatement avant l'emploi, sécher le sulfate d'ammonium à $102 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ pendant au moins 2 h. Laisser refroidir à température ambiante dans un dessiccateur.

- **Tryptophane** ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) ou **hydrochlorure de lysine** ($C_6H_{15}ClN_2O_2$), ayant une pureté minimale de 99,9 % (rapport de masse) sur matière sèche.

Ne pas sécher ces réactifs dans une étuve avant l'emploi.

- **Saccharose**, dont la teneur en azote est inférieure à 0,002 % (fraction massique). Ne pas sécher le saccharose dans une étuve avant l'emploi.

II-Appareillage

- Bain d'eau, pouvant être maintenu à une température de $38 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.
- Ballons de Kjeldahl, d'une capacité de 500 ml ou 800 mL.
- Balance analytique, permettant de peser à 0,1 mg près.
- Corps facilitant l'ébullition, par exemple pierre ponce incandescente, poussière de zinc, pièces de porcelaine dures ou granules d'alundon amphotères (carbarundon) lisses, d'une pureté élevée et d'une taille de mailles de 10.

Ne pas réutiliser ces corps.

- Burette ou pipette automatique, permettant d'obtenir des doses de 1,0mL de solution

de sulfate de cuivre.

- Éprouvettes graduées, d'une capacité de 50 mL, 100 mL et 500 mL.
- Appareil de minéralisation, pour maintenir les ballons de Kjeldahl en position inclinée (à environ 45°), pourvu de résistances électriques ou de becs à gaz ne chauffant pas les ballons au-delà du niveau de leur contenu, ainsi que d'un système d'évacuation des fumées.

Il convient que la source chauffante soit réglable pour permettre de contrôler le réglage maximal de l'élément chauffant à appliquer durant la minéralisation. Préchauffer la source chauffante au réglage de l'élément chauffant à évaluer. La durée de préchauffage doit être de 10 min dans le cas d'un bec à gaz et de 30 min dans le cas d'un élément chauffant électrique. Déterminer, pour chacun des éléments chauffants, le réglage qui permet de porter à ébullition 250 ml d'eau et 5 à 10 corps facilitant l'ébullition (en partant d'une température initiale de 25°C) en 5 min à 6 min. Ce réglage correspond au réglage maximal de l'élément chauffant à appliquer durant la minéralisation.

- Appareil de distillation, en verre de borosilicate ou autre matière appropriée, pouvant être équipé d'un ballon de Kjeldahl, se composant d'une tête antiprojections efficace, relié à un condenseur efficace avec tube intérieur droit et un tube d'écoulement fixé à son extrémité inférieure.

Le tubage de connexion et le(s) bouchon(s) doivent être étanches et de préférence en néoprène.

- Fioles coniques, d'une capacité de 500 mL, graduées tous les 200 mL.
- Burette, d'une capacité de 50ml, graduée au moins tous les 0,01mL,

Il est également possible d'utiliser une burette automatique satisfaisant aux mêmes exigences.

- Dispositif de titrage automatique pourvu d'un pH-mètre .Il convient que le pH-mètre soit correctement étalonné dans la gamme de pH 4 à pH 7 selon les méthodes normales d'étalonnage du pH en laboratoire.

III- Mode opératoire

-Préparation de l'échantillon

Avant l'analyse, porter l'échantillon à 20 ± 2 °C et mélanger soigneusement. Si l'on n'obtient pas une dispersion homogène de la matière grasse, chauffer l'échantillon lentement à 40 °C, mélanger doucement et refroidir à 20 ± 2 °C

-Prise d'essai et prétraitement

Introduire dans le ballon de Kjeldahl propre et sec de 5 à 10 corps facilitant l'ébullition 15,0g de sulfate de potassium, 1,0 ml de solution de sulfate de cuivre (II) , environ 5 ml $\pm$ 0,1 ml de l'échantillon pour essai préparé, pesé à 0,1 mg près, et 25 ml d'acide sulfurique. A cet effet, utiliser l'acide sulfurique pour entraîner tout résidu de la solution de sulfate de cuivre (II), du sulfate de potassium ou de la prise d'essai restant sur le col du ballon. S'il reste un peu de minéralisat brûlé sur le col, rincer avec une petite quantité d'eau. Mélanger doucement le contenu du ballon de Kjeldahl.

IV-Détermination

-Minéralisation

Brancher le système d'évacuation des fumées de l'appareil de minéralisation avant de commencer la minéralisation. Chauffer le ballon de Kjeldahl et son contenu sur l'appareil de minéralisation en réglant l'élément chauffant sur une température suffisamment basse pour que le minéralisat brûlé ne déborde pas en moussant par le col du ballon de Kjeldahl. Effectuer la minéralisation à ce réglage de l'élément chauffant jusqu'à ce que de la fumée blanche apparaisse dans le ballon au bout d'environ 20 minutes. Augmenter le réglage de l'élément chauffant jusqu'à une position correspondant à la moitié du réglage maximal et continuer le chauffage pendant 15 minutes. Au terme des 15 minutes, augmenter le chauffage

jusqu'au réglage maximal. Une fois que le minéralisât s'est éclairci (il devient transparent avec une coloration bleu clair à vert), continuer à faire bouillir le contenu pendant 1 h à 1,5 h au réglage maximal. Si le liquide ne bout pas, il est possible que le réglage final du bec à gaz soit trop faible. La durée totale de la minéralisation sera comprise entre 1,8 h et 2,25 h.

Au terme de la minéralisation, le minéralisât doit être transparent et exempt de matière non digérée. Laisser refroidir le minéralisât à température ambiante dans des flacons ouverts pendant environ 25 minutes. Si les ballons refroidissent sur les bacs encore chauds, le temps pour atteindre la température ambiante sera plus long. A la fin de cette période de refroidissement de 25 minutes, il convient que le minéralisât refroidi soit complètement liquide ou liquide avec quelques petits cristaux au fond du ballon. Ne pas laisser le minéralisât non dilué dans les ballons pendant toute une nuit. En effet, le minéralisât non dilué peut se cristalliser lors de cette période et il sera ensuite très difficile de le remettre en solution.

-Distillation

Faire circuler l'eau du condenseur pour l'appareil de distillation. Ajouter 75 ml de solution d'hydroxyde de sodium au minéralisât dilué en versant délicatement la solution dans le col incliné du ballon de Kjeldahl, de façon à former une couche au fond du bulbe du ballon. Il convient que l'interface entre les deux solutions soit nette. Pour réduire le risque de perte d'ammoniac, relier le ballon de Kjeldahl à l'appareil de distillation immédiatement après l'adjonction de la solution d'hydroxyde de sodium dans le ballon. La pointe du tube d'écoulement du condenseur est plongée dans 50 mL de la solution d'acide borique contenue dans une fiole conique. Agiter vigoureusement par un mouvement de rotation le ballon de Kjeldahl jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de couches de solutions séparées visibles dans le ballon. Placer le ballon sur le bec et mettre en marche le bec à un réglage suffisamment élevé pour porter le mélange à ébullition. Continuer la distillation jusqu'à ce qu'une ébullition irrégulière (ébullition pulsative) commence, puis déconnecter immédiatement le ballon de Kjeldahl et arrêter le chauffage. Arrêter l'eau du condenseur. Rincer à l'eau l'intérieur et l'extérieur de l'extrémité du tube d'écoulement, recueillir l'eau de rinçage dans la fiole conique et mélanger.

Le débit de distillation doit permettre de recueillir environ 150 ml de distillât avant que ne commence l'ébullition irrégulière (ébullition pulsative). Le volume total contenu dans la fiole conique sera d'environ 200 ml. Si le volume de distillât recueilli est inférieur à 150 ml, il est probable qu'une quantité d'eau inférieure à 300 ml a été ajoutée pour diluer le minéralisât. L'efficacité du condenseur doit être telle que la température du contenu de la fiole conique ne dépasse pas 35 °C pendant la distillation en cas d'utilisation d'un point final de titrage colorimétrique.

V- Titrage

Titre le contenu de la fiole conique avec l'acide chlorhydrique à l'aide d'une burette. Le point final de titrage est atteint à la première trace de rosé dans le contenu. Estimer la lecture de la burette à 0,05 mL près. Une plaque agitatrice magnétique éclairée peut faciliter la visualisation du point final de titrage.

Il est également possible de titrer le contenu de la fiole conique avec l'acide chlorhydrique au moyen d'un dispositif de titrage automatique étalonné équipé d'un pH-mètre. Le point final de titrage est atteint au pH 4,6, qui correspond au point le plus haut de la courbe de titrage (point d'inflexion). Lire la quantité de solution titrée utilisée sur le dispositif de titrage automatique.

VI- Calcul et expression des résultats

- Calcul de la teneur en azote

Calculer la teneur en azote de l'échantillon pour un essai à l'aide de l'équation suivante:

$$W_N = \frac{(V_s - V_b)M_r}{m}$$

Où

W_N est la teneur en azote de l'échantillon pour essai, exprimée sous forme de pourcentage en masse;

V_s est la valeur numérique du volume, en millilitres, de l'acide chlorhydrique, exprimée au moins à 0,05 mL près;

V_b est la valeur numérique du volume, en millilitres, de l'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai à blanc, exprimée au moins à 0,05 mL près;

M_r est la valeur numérique de la molarité exacte de l'acide chlorhydrique, exprimée à quatre décimales près;

m est la valeur numérique, en grammes, de la masse de la prise d'essai, exprimée à 0,1 mg près.

Exprimer les résultats obtenus à quatre décimales près, si c'est nécessaire pour des calculs ultérieurs. S'il s'agit de résultats finaux, exprimer la teneur en azote à trois décimales près et la teneur en matière azotée totale à deux décimales. Il convient de ne pas arrondir les résultats avant l'utilisation finale de la valeur d'essai.

-Calcul de la teneur en matière azotée totale (MAT)

Calculer la teneur en matière azotée totale de l'échantillon pour essai, à l'aide de l'équation suivante:

$$w_p = w_N \times 6,38 \quad \text{Où}$$

w_p est la teneur en matière azotée totale de l'échantillon pour essai, exprimée sous forme de pourcentage en masse;

w_N est la teneur en azote de l'échantillon pour essai, exprimée sous forme de pourcentage en masse, à quatre décimales près;

6,38 est le coefficient multiplicateur généralement admis pour exprimer la teneur en azote en tant que teneur en matière azotée totale.

Exprimer les résultats obtenus pour la teneur en matière azotée totale à trois décimales près, si c'est nécessaire pour des calculs ultérieurs. S'il s'agit de résultats finaux, deux décimales suffisent.

Annexe 4 : Détermination de l'acidité Dornic

I-Réactifs

- Phénophtaléine à 1%
- NaOH N/9

II-Matériel

- Burette
- Becher

III-Mode opératoire

Dans un bécher de 50 mL, introduire :

- 10 ml de lait ;
- Ajouter 2 à 3 gouttes de Phénophtaléine à 1%
- Titrer avec une solution sodique (NaOH N/9) à l'aide d'une burette jusqu'au virage au rose pale
- Lire le volume sur la burette (en millilitre de NaOH)

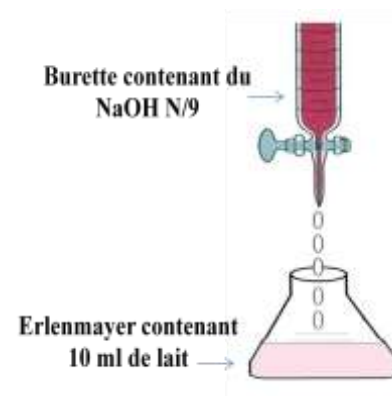


Figure 1 : Dispositif de titration

IV- Calcul

La valeur en acidité titrable exprimée en degré Dornic (°D), est donnée par l'expression suivante :

$$1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{mL de NaOH à N/9}$$

La teneur en acide lactique est exprimée par la formule suivante :

$$1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ g d'acide lactique par litre de lait}$$

Annexe 5: Dosage du taux de protéines totales (Kit BCA)

• Mode opératoire

Dosage avec le kit BCA-Pièce

-Mélange réactionnel :

50 volumes de réactif A pour 1 volume de réactif B

200 µl/ puit à doser

7 points de gamme x 3 → 21 puits

X points Lait x 3 X → = 21 donc 21 x 3 = 63 Puits

Le nombre de puits total est de 21 + 63 soit 84 puits

Il faut préparer 200 µl x 84 de mélange réactionnel en tenant compte du rapport 50V A/1VB

Le volume final (VF) = 84 x 200µl → 16800µl soit 16,80 mL

Je prends un VF de 20 ml/51 → VB = 0,392 mL

$$VA = VF - VB$$

$$VA = 20 - 0,392$$

$$VA = 19,6 \text{ ml}$$

$$VF = 19,6 \text{ mL A} + 0,392 \text{ mL B}$$

-Dilution des échantillons de lait

Diluer chaque échantillon de lait écrémé au 1/200^e

Soit 2µL de lait + 398µL d'eau pour un VF de 400µL

-Dosage

10µL de chaque point de gamme à déposer dans les puits x 3

10µL de chaque échantillons de les laits dilués au 1/200^e à déposer dans les puits x 3

Ajouter 200 µL de mélange réactionnel à chaque puits

Incubation 15-30 minutes au bain marie à 37°C

Lecture de la plaque au multiseau à 540 nm (programme 6).

-Calcul

La concentration en protéines totales est déterminée à partir de l'équation donnée par la courbe d'étalonnage (Figure 2)

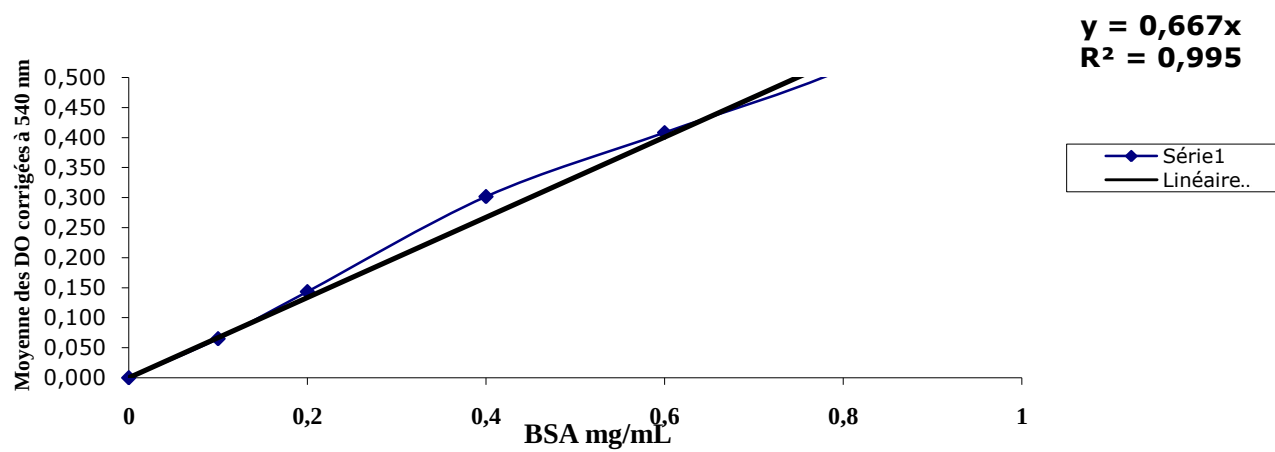


Figure 2 : Courbe d'étalonnage BSA

Annexe 6: Dosage de la prolactine sanguine

▪ Mode opératoire

Le dosage nécessite 4 tubes organisés comme suit :

- Groupe T pour détermination de l'activité totale
- Groupe Calibrateurs pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.
- Groupe Témoin pour le contrôle.
- Groupe Sx pour les échantillons à doser

Respecter l'ordre d'addition des réactifs

- Pipeter 25µL de standard, contrôle et échantillons dans les tubes revêtu correspondants.
- Pipeter 200 µL du traceur dans chaque tube et mélanger doucement avec un agitateur de type vortex.
- Incuber deux heures à 37°C.
- Décompter ou aspirer le contenu des tubes.
- Laver deux fois les tubes selon la procédure suivante :
 - Pipeter 1 mL de la solution de lavage dans chaque tube.
 - Secouer vigoureusement la grille de tubes durant 5 secondes.
 - Vider les tubes de la solution de lavage, soit par décomptassions soit par aspiration.
- Mesurer la radioactivité liée aux tubes revêtus à l'aide d'un scintillateur gamma réglé sur la mesure de l'iode 125 (2 minutes minimum).

Résumé

Cette thèse a pour objectif la recherche des causes des taux de mortalité élevés des lapereaux sous la mère, observés dans deux types génétiques de lapines, la population blanche (PB) et la souche synthétique (SS) élevées dans la région de Tizirt, Kabylie, Algérie. Les évaluations de la production laitière des mères et de la mortalité des lapereaux jusqu'à 21 jours ont été réalisées de 2013 à 2017 sur un effectif de 82 et 108 lapines PB et SS respectivement. Le rythme de reproduction a été semi-intensif, puis extensif. Avec 5 mises bas par an, la mortalité a été évaluée sur une moyenne annuelle de 2 995 et 4 849 lapereaux dont 2 770 et 4 739 nés vivants pour 317 et 429 portées PB et SS (taille de portée moyenne $7,3 \pm 0,1$ lapereaux et $9 \pm 1,6$ lapereaux par portée dans les deux populations). Ainsi la mortalité a été estimée sur 5 ans, à différentes saisons de mise bas sur les deux types génétiques de lapines. Les plus forts taux de mortalité ont été observés pour la population PB en été et en automne. Les lapines SS ont produit en moyenne plus de lait ($3\,118 \pm 20$ g contre $2\,750 \pm 17$ g) et ont enregistré moins de pertes avec un lait plus riche notamment au cours des périodes hivernale et printanière. Cette étude révèle des effets significatifs ($P < 0,0001$) des variations saisonnières sur la mortalité des lapereaux sous la mère en liaison avec la production laitière (quantité et qualité).

Les différentes expérimentations ont révélé des spécificités individuelles intragroupe génétique qui se traduisent par des différences hormonales, par une morphologie de la glande mammaire différente, parallèlement à des différences dans la production laitière. Aussi les expérimentations d'adoptions croisées ont révélé l'implication du lait dans le phénomène de mortalité des lapereaux en période d'allaitement. Ces résultats sont confirmés par l'analyse fine de la fraction protéique du lait qui met en évidence l'existence d'un nouveau variant génétique de la caséine α_{s2} en rapport avec cette mortalité.

Mots clés: *Algérie, lapin, mortalité, lait, caséines*

Abstract

The aim of this thesis was to determine the reasons of the high mortality rates observed in the pups of two genetic types of rabbits, the white population (PB) and the synthetic strain (SS), raised in Tizirt, Kabylia, Algeria. The assessment of lactation performance and the mortality of young rabbits up to 21 days were carried out between 2013 and 2017 on 82 et 108 female rabbits PB and SS. With 5 births per year, mortality was evaluated on an annual average of 2 995 and 4 849 young, of which 2 770 and 4 739 were born alive for 317 and 429 litters (average litter size $7.3 \pm 0, 1$ rabbits and 9 ± 1.6 rabbits per litter) in PB and SS populations respectively. Thus the mortality was estimated over 5 years at different calving seasons on both genetic types of rabbits. The highest mortality rates were observed for the PB population in summer and in autumn. SS rabbits produced an average of milk quantity of $3\,118 \pm 20$ g compared to $2\,750 \pm 17$ g in PB group. SS rabbits exhibit fewer losses with richer milk, especially during the winter and spring periods. This study revealed significant effects ($P < 0.0001$) of seasonal variations in maternal mortality of young rabbits in relation to milk production (quantity and quality).

The different experiments showed individual genetic clustering specificities that combined with hormonal differences, morphology of the mammary gland and milk production are involved in the survival of the rabbits. Moreover, cross-adoption experiments demonstrated the involvement of milk in the neonate mortality during lactation period. These results are confirmed by the analysis of the milk protein fraction, which shows the existence of a new genetic variant of α_{s2} casein related to this mortality.

Keywords: *Algeria, rabbit, mortality, milk, caseins*