

Caractérisation phénotypique des vaches laitières portant l'haplotype « fertil+/+ » ou « fertil-/- » pour un QTL de fertilité femelle situé sur le chromosome 3

COYRAL-CASTEL S. (1,2), RAME C. (2), FABRE-NYS C. (2), MONNIAUX D. (2), MONGET P. (2), DUPONT F. (2), EGGEN A. (3), FRITZ S. (4), MALAFOSSE A. (4), FAVERDIN P. (5), DISENHAUS C. (5), LE MEZEC P. (1), DUPONT J. (2)

(1) Institut de l'élevage, département génétique, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex12

(2) INRA, UMR physiologie de la reproduction et des comportements, 37380 Nouzilly

(3) INRA, UMR génétique animale et biologie intégrative, génétique et génomique bovine, 78352 Jouy-en-Josas

(4) UNCEIA, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex12

(5) INRA, UMR production de lait, 35590 St-Gilles

RESUME - Au cours de ces dernières années, la fertilité des vaches laitières hautes productrices a fortement diminué, notamment en race Prim'Holstein. Cette baisse de fertilité est en partie liée à une intense sélection de la productivité laitière. Des études réalisées par des généticiens ont mis en évidence plusieurs QTLs (*Quantitative Trait Locus*) de fertilité femelle chez la vache laitière. Nous avons choisi d'étudier des vaches laitières homozygotes à l'haplotype favorable « fertil+/+ » ou défavorable « fertil-/- » pour un QTL de fertilité femelle situé sur le chromosome 3 (QTL-Fert-F-BTA3), ce QTL étant impliqué dans les échecs précoces de la gestation. Plusieurs paramètres ont été étudiés sur quarante cinq génisses puis sur quarante et une vaches en première lactation. Nous avons observé que les primipares « fertil-/- » ont perdu plus de poids que les primipares « fertil+/+ » dans les sept premières semaines après vêlage. Dans cette même période, la production laitière ainsi que l'ingéré alimentaire des primipares « fertil-/- » ont été inférieurs à ceux des primipares « fertil+/+ ». Grâce aux profils de progestérone plasmatique, nous avons constaté que les animaux « fertil+/+ » ont repris leur activité ovarienne plus vite que les animaux « fertil-/- » après le vêlage. Nous avons enfin constaté un meilleur taux de réussite à la première insémination artificielle pour les animaux « fertil+/+ » que pour les animaux « fertil-/- ». La perte de poids après vêlage plus importante chez les animaux « fertil-/- » pourrait expliquer un allongement de l'inactivité ovarienne *post-partum* et une fertilité plus faible chez ces animaux par rapport aux animaux « fertil+/+ ».

Characterization of dairy cows carrying the “fertil+/+” or “fertil-/-” haplotype for one QTL of female fertility located on chromosome 3

COYRAL-CASTEL S. (1,2), RAME C. (2), FABRE-NYS C. (2), MONNIAUX D. (2), MONGET P. (2), DUPONT F. (2), EGGEN A. (3), FRITZ S. (4), MALAFOSSE A. (4), FAVERDIN P. (5), DISENHAUS C. (5), LE MEZEC P. (1), DUPONT J. (2)

(1) Institut de l'élevage, Département Génétique, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex12

SUMMARY

Over the last decade, the fertility of high producing dairy cows has been continuously damaged, especially in the Holstein breed. This decrease of fertility is related, in part, to the intensity of selection on milk production. Studies realised by geneticists allowed the detection of several QTL (Quantitative trait locus) for female fertility in the dairy cow. In the present work, homozygous animals for the favourable haplotype “fertil +/+” were compared to homozygous for the unfavourable haplotype “fertil -/-”. “Fertil+/+” and “fertil-/-” are the haplotypes of one QTL of female fertility located on chromosome 3 (QTL-F-Fert-BTA3) that is involved in early pregnancy failures. Various parameters were studied on 45 heifers and then on 41 first lactating cows. We observed that “fertil-/-” cows lost more weight during the first 7 weeks after calving than “fertil+/+” cows. During this period, milk production and dry matter intake were lower for “fertil-/-” than “fertil+/+” cows. Progesterone profiles revealed that “fertil+/+” cows had their first oestrus cycle after calving earlier than “fertil-/-” cows. We finally noted that the success of the first artificial insemination was higher for “fertil+/+” than “fertil-/-” animals. The higher body weight loss observed after calving in “fertil-/-” cows could explain the delayed time to resume ovarian cyclicity after parturition and their lower fertility compared to “fertil+/+” cows.

INTRODUCTION

De nombreuses études rapportent la forte diminution de la fertilité des vaches laitières hautes productrices, particulièrement en race Prim'Holstein. En vingt ans, le taux de réussite à la première insémination artificielle (IA1) est passé d'environ 60 % à 40 % en 2000. Cette baisse de fertilité serait en partie liée à une intense sélection de la productivité laitière. En effet, il existe une corrélation génétique négative entre la production laitière et la fertilité (-0,3, Boichard *et al.*, 1998). Ceci peut s'expliquer par le fait que les vaches laitières mobilisent prioritairement leurs réserves corporelles pour cette fonction de production, au détriment de leur fertilité. Cette baisse de la fertilité femelle apparaît aujourd'hui comme un véritable problème économique pour les éleveurs. Etant donné que près de la moitié de la baisse du taux de réussite à l'IA est imputée à la génétique (Barbat *et al.*, 2007), des travaux de détection de QTLs (*Quantitative Trait Locus*) ont été entrepris chez les bovins laitiers à partir de 1996 en France (Boichard *et*

al., 2003), afin de mieux comprendre le déterminisme génétique à l'origine de cette baisse. Ces travaux ont permis de mettre en évidence plusieurs QTLs de fertilité femelle, établis à partir du taux de réussite à l'IA1 dont un QTL sur le chromosome 3 impliqué dans les échecs précoces de la gestation (Guillaume *et al.*, 2007) et cartographié finement dès 2007 (Druet *et al.*, 2008). Les objectifs de notre étude ont été de comparer les réponses physiologiques et comportementales entre des vaches laitières de race Prim'Holstein homozygotes à l'haplotype supposé favorable « fertil+/+ » ou supposé défavorable « fertil-/- » pour ce QTL de fertilité femelle situé sur le chromosome 3 (QTL-Fert-F-BTA3).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. ANIMAUX

Près de deux cents génisses ont été génotypées sur quarante huit marqueurs SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) du chromosome 3. Ces génisses étaient issues de cinq pères

hétérozygotes au QTL étudié de façon à ce qu'en moyenne les deux groupes homozygotes ne se distinguent génétiquement que par la région du QTL. Finalement, quarante cinq génisses, vingt quatre « fertil+/- » et vingt et une « fertil-/- », âgées de huit à douze mois, ont été achetées dans différents élevages. Sur les quarante quatre génisses ayant mis bas (une génisse n'est jamais devenue pubère), quarante et une ont été suivies pendant leur première lactation (vingt trois « fertil+/- » et dix-huit « fertil-/- », trois vaches ont été exclues de l'étude pour cause de maladie).

1.2. CONDUITE DE L'ALIMENTATION ET DE LA REPRODUCTION

L'essai a été réalisé à l'unité expérimentale de l'INRA de Nouzilly. La conduite des animaux durant toute la durée de l'essai, en particulier pour l'alimentation et la reproduction, a cherché à éviter au maximum toute interaction possible avec les deux types génétiques considérés. Au début du protocole, les génisses « fertil+/- » avaient un poids moyen de 273 ± 11 kg et une note d'état corporel moyenne de $2,7 \pm 0,1$ et les génisses « fertil-/- » avaient un poids moyen de 288 ± 9 kg et une note d'état corporel de $2,8 \pm 0,1$.

Les femelles ont séjourné durant toute la durée de l'essai en stabulation libre sur aire paillée. Les vaches ont été alimentées à partir du vêlage et pendant les quatre premiers mois de lactation avec une ration complète offerte à volonté (64,5 % ensilage de maïs, 10 % tourteaux de soja, 15 % concentré production, 10 % luzerne déshydratée, 0,5 % CaO par rapport à la matière sèche (MS)). Cette ration apportait 0,95 UFL, 100 g PDIE et 98 g PDIN par kg de MS et permettait d'alimenter des vaches primipares d'un potentiel allant jusqu'à 35 kg de lait au pic de lactation (d'après les recommandations pour le début de lactation INRA, 2007).

Les génisses ont été inséminées suite à une acceptation du chevauchement et à condition que leur poids ait atteint 400 kg et qu'elles aient présenté au moins trois cycles. Les génisses « fertil+/- » ont été inséminées avec la semence de Roséo Joc (taureau « fertil +/- » pour le QTL étudié), alors que les génisses « fertil-/- » ont été inséminées avec la semence de Reilon Joc (taureau « fertil -/- » pour le QTL étudié), ceci afin de créer une génération d'haplotype connu. Les vaches en première lactation ont été inséminées à partir de cinquante jours *post-partum* (jpp) et suite à une acceptation du chevauchement ou si la somme des points attribués à chaque comportement observé dépassait 100, selon la grille de Van Eerdenburg *et al.* (2002). Les primipares ont toutes été inséminées avec la semence d'Okendo (taureau « fertil +/- » pour le QTL étudié) pour minimiser l'effet du taureau sur les résultats d'IA. Les génisses et les primipares ont été inséminées autant de fois que nécessaire à ce qu'elles soient gestantes.

1.3. MESURES

1.3.1. Zootechniques

Des mesures de poids, de taille au garrot, de périmètre thoracique et la notation d'état corporel (sur une échelle de 1 à 5) ont été réalisées une fois par mois depuis l'arrivée à l'unité expérimentale jusqu'au vêlage. Après le vêlage, les primipares ont été pesées tous les jours et leur état corporel a été noté une fois par mois. De nombreux paramètres du comportement alimentaire ont été mesurés durant toute la durée de l'essai à l'aide d'un système électronique d'auges peseuses. L'heure, la durée et la quantité brute ingérée au cours de chaque visite à l'auge ont été enregistrées pour chaque vache durant tout l'essai.

Les quantités de lait produit ont été mesurées à chaque traite et la composition du lait (taux butyreux et taux protéique) a été analysée individuellement, deux fois par semaine, sur des échantillons composés pour 1/3 de la traite du soir et pour 2/3 de la traite du lendemain matin.

1.3.2. Reproduction

Suivi de la cyclicité. Afin d'établir le moment d'apparition de la puberté des génisses, des prélèvements sanguins ont été réalisés tous les dix jours et la progestérone plasmatique a été dosée par ELISA (Canépa *et al.*, 2008). A partir du cycle précédent l'IA1 et jusqu'à soixante jours après l'IA, les mesures de progestéronémie ont été effectuées trois fois par semaine. Après le vêlage, le moment de la reprise de la cyclicité a été déterminé à partir de dosages effectués trois fois par semaine jusqu'à l'IA1. Au cours des trente cinq jours suivant l'IA, la progestérone plasmatique a été dosée quotidiennement. Les dosages ont ensuite été réalisés tous les dix jours pendant soixante jours puis une fois par mois jusqu'au deuxième vêlage. Des échographies ovariennes ont été réalisées trois fois par semaine pendant le cycle précédant l'IA1 pour suivre la croissance folliculaire des génisses puis des primipares.

Comportement de chaleurs. Le comportement de chaleurs des génisses a été observé, dès leur arrivée à l'unité expérimentale, tous les jours, pendant quinze minutes, cinq fois par jour (6h, 8h30, 13h30, 16h30 et 21h). Après le vêlage, les observations ont été réalisées visuellement, trois fois par jour (8h30, 13h30, 16h30) et par enregistrement vidéo. L'enregistrement vidéo étant réalisé en continu, les images ont été visionnées sur vingt quatre heures pour noter les comportements de chaleurs qui ont eu lieu en dehors des périodes d'observations de quinze minutes.

Fertilité. Le taux de réussite à l'IA1 a été déterminé suite à trois constats de gestation réalisés à vingt et un jours après IA par dosage de progestérone plasmatique, à trente cinq jours après IA par échographie et à quatre vingt dix jours après IA par palper rectal.

1.4. ANALYSES STATISTIQUES

L'analyse des données de croissance des génisses, de poids, de production laitière, de matière sèche ingérée et d'état corporel a été faite en utilisant un modèle linéaire mixte sur un dispositif en mesures répétées, en testant les effets du temps, de l'haplotype et de l'interaction entre les deux (proc MIXED, SAS[®], 2000). Les taux de réussite à l'IA1 ont été comparés par des tests de Chi2 ou de Fisher et les moyennes par des tests de Student. Les résultats présentés sont exprimés en moyenne \pm SEM.

2. RESULTATS

2.1. CROISSANCE, INGESTION ET PRODUCTION

2.1.1. Croissance des génisses

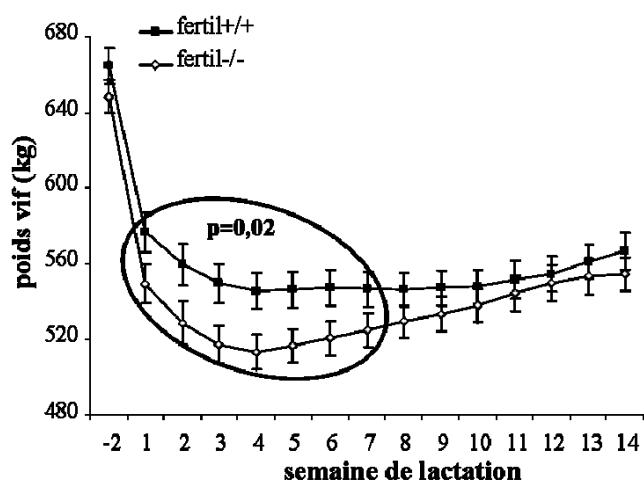
Pendant la phase de croissance, aucune différence d'évolution de poids de taille, de périmètre thoracique et de note d'état corporel n'a été observée entre les animaux des deux haplotypes. L'âge et le poids des génisses à la puberté sont similaires entre les femelles « fertil+/- » et les « fertil-/- » (âge : $13,1 \pm 0,8$ mois *vs.* $13,8 \pm 0,9$ mois ; poids : 324 ± 19 kg *vs.* 328 ± 22 kg, respectivement)

2.1.2. Poids après vêlage et première lactation

Les primipares « fertil -/- » ont perdu plus de poids que les primipares « fertil+/- » dans les sept premières semaines *post-partum* (effet haplotype : $p = 0,02$, figure 1) avec une interaction haplotype*jpp significative ($p = 0,05$). Cette différence n'est pas expliquée par une différence du poids des veaux à la naissance (données non présentées). Dans

cette même période, la production laitière des animaux « fertil-/- » a été plus faible que celle des animaux « fertil+/+ » (effet haplotype : $p = 0,006$, figure 2) sans interaction haplotype*jpp. Le taux butyreux du lait n'a pas différé entre les deux haplotypes sur cette période. En revanche, sur les sept premières semaines *post-partum*, le taux protéique du lait des primipares « fertil-/- » a été inférieur à celui des primipares « fertil+/+ » ($p = 0,043$). Enfin, la matière sèche ingérée par les primipares « fertil-/- » a été inférieure à celle ingérée par les primipares « fertil+/+ » ($p = 0,0002$) sur cette même période, l'interaction haplotype*jpp n'est pas significative.

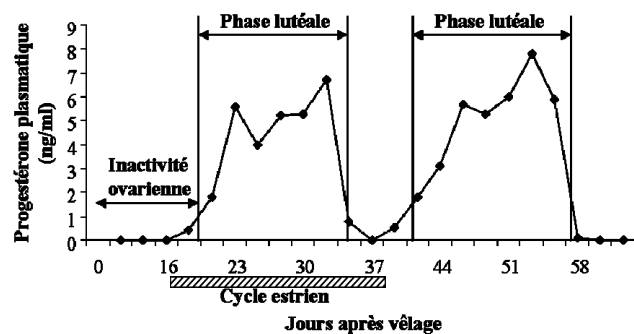
Figure 1 : évolution du poids vif (kg/jour) des primipares « fertil+/+ » et « fertil-/- » au cours des 14 premières semaines après vêlage (moyenne \pm SEM)



2.2.2. Reprise de la cyclicité post-partum

Les profils de progestérone établis à partir de prélèvements effectués trois fois par semaine (figure 3) ont permis de déterminer la durée de l'inactivité ovarienne *post-partum*. Les primipares « fertil+/+ » ont repris leur activité ovarienne plus rapidement que les primipares « fertil-/- » ($p=0,016$). En effet, le début de la première phase lutéale est apparue à $20,7 \pm 1,2$ jpp pour les primipares « fertil+/+ » et à $29,3 \pm 3,5$ jpp pour les primipares « fertil-/- ».

Figure 3 : exemple de profil normal de progestérone. L'inactivité ovarienne est ici définie comme l'intervalle entre le vêlage et le début de la 1^{ère} phase lutéale

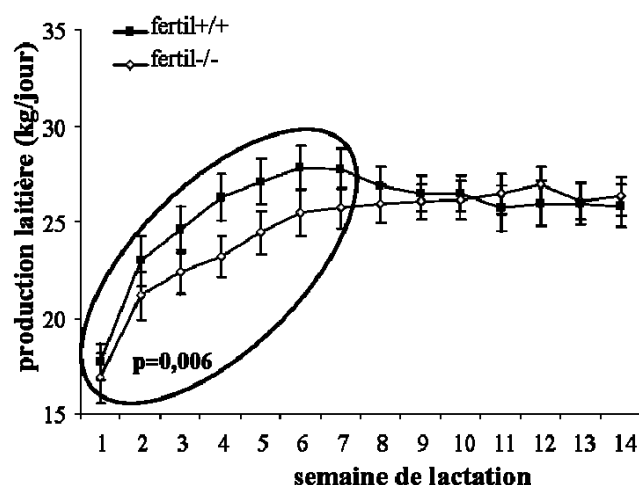


2.2. COMPORTEMENT DE CHALEURS ET ACTIVITE OVARIENNE

2.2.1. Chaleurs des génisses

Sur la base des cinq observations journalières, la durée moyenne d'un *oestrus* a été estimée à $16h19 \pm 0h35$ pour les génisses « fertil+/+ » et à $17h34 \pm 0h41$ pour les génisses « fertil-/- » et l'intensité moyenne d'*oestrus*, selon la grille de Van Eerdenburg, a été estimée à 659 ± 29 points pour les « fertil+/+ » et à 712 ± 39 points pour les « fertil-/- ». Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux haplotypes.

Figure 2 : évolution de la production laitière (kg/jour) des primipares « fertil+/+ » et « fertil-/- » au cours des 14 premières semaines après vêlage (moyenne \pm SEM)



En comparant les profils de progestérone ainsi que les données des cinq observations journalières de comportement, nous avons constaté que 78 % et 83 % des premières ovulations *post-partum* des primipares « fertil+/+ » vs. « fertil-/- », n'ont pas été accompagnées d'un comportement de chaleurs. En prenant en compte les comportements enregistrés par vidéo, en plus des observations visuelles, ces valeurs ont été ramenées à 65 % pour les primipares « fertil+/+ » et 72 % pour les primipares « fertil-/- ». Ces écarts entre haplotypes n'ont pas été significatifs.

2.2.3. Cycle avant l'IA1

Les échographies réalisées trois fois par semaine ont permis de dénombrer les vagues folliculaires présentes au cours du cycle avant l'IA1. Pour rappel, un cycle ovarien bovin présente deux ou trois vagues folliculaires (Sirois et Fortune, 1988). Dans le cas d'un cycle à deux vagues, le follicule dominant de la première vague devient atrophique et celui de la deuxième vague est le follicule ovulatoire. Pour les cycles à trois vagues, les deux premiers follicules dominants régressent et c'est celui de la troisième vague qui ovule (Sirois et Fortune, 1988).

Les cycles à deux vagues folliculaires sont prépondérants sur les cycles à trois vagues folliculaires, quelque soit l'haplotype considéré. Chez les génisses comme chez les primipares, les cycles à trois vagues folliculaires ont été plus longs que les cycles à deux vagues (différence significative pour les génisses, tendance pour les primipares, tableau 1). Cependant, aucune différence n'a été observée entre les deux haplotypes en ce qui concerne le nombre de cycles à deux ou trois vagues folliculaires.

Tableau 1 : durée moyenne (\pm SEM) du cycle (jours) avant l'IA1 (NS : non significatif)

	Génisses			Primipares		
	fertil+/+	fertil/-	test-t	fertil +/+	fertil/-	test-t
2 vagues	20,3 \pm 0,3	20,6 \pm 0,5	NS	21,9 \pm 0,8	21,5 \pm 0,5	NS
3 vagues	23,3 \pm 0,9	22,6 \pm 0,5	NS	24,8 \pm 1,8	26,5 \pm 3,0	NS
test-t	0,0007	0,0255		0,0995	0,0811	

2.3. TAUX DE REUSSITE A L'IA1

L'âge des génisses à la mise à la reproduction a été de 18,6 mois pour les femelles « fertil+/+ » et de 17,9 mois pour les femelles « fertil/- », soit une différence de 23,8 jours ($p = 0,057$). En revanche, l'intervalle vêlage-IA1 n'a pas été différent entre les deux haplotypes : $69,7 \pm 2,9$ jours pour les « fertil+/+ » et $70,8 \pm 4,4$ jours pour les « fertil/- ».

Les résultats de l'IA1 obtenus pour les génisses et les primipares sont présentés dans le tableau 2. Les génisses « fertil+/+ » ont globalement une réussite à l'IA1 supérieure aux génisses « fertil/- », mais ces différences ne sont pas significatives ($p > 0,28$). En revanche, les primipares « fertil+/+ » ont eu un taux de réussite à trente cinq jours après l'IA1 significativement supérieur à celui des « fertil/- » ($p = 0,049$), avec une tendance retrouvée à quatre vingt dix jours après l'IA1 ($p = 0,09$).

Tableau 2 : taux de réussite à l'IA1 (%)

Jours après IA1	Génisses			Primipares		
	fertil+/+	fertil/-	Chi2	fertil +/+	fertil/-	Chi2
21	87,5 % (21/24)	75 % (15/20)	0,436	82,6 % (19/23)	61,1 % (11/18)	0,165
35	75 % (18/24)	60 % (12/20)	0,287	69,6 % (16/23)	38,9 % (7/18)	0,049
90	70,8 % (17/24)	55 % (11/20)	0,277	65,2 % (15/23)	38,9 % (7/18)	0,093

3. DISCUSSION

La reprise de la cyclicité *post-partum* est un phénomène précoce en race laitière (Disenhaus *et al.*, 2008). Nos résultats sont en accord avec cette étude ainsi qu'avec les résultats de Royal *et al.*, (2000) qui évoque un début de phase lutéale à $27,9 \pm 0,6$ jours. Nos résultats sur les premières ovulations silencieuses (78 % et 83 %) sont cohérents avec ce qui est déjà connu, à savoir que les premières ovulations *post-partum* ne sont généralement pas accompagnées d'un comportement de chaleurs (Crowe *et al.*, 2008). L'analyse de la croissance folliculaire lors du cycle précédent l'IA1 chez les génisses puis chez les primipares est en accord avec des études précédentes (Townson *et al.*, 2002 ; Jaiswal *et al.*, 2009) à savoir que les cycles à deux vagues sont prépondérants et plus courts que les cycles à trois vagues. Ces effets sont dans notre cas indépendants de l'haplotype. Nous n'avons observé aucun effet du nombre de vagues sur la fertilité de nos animaux. Pour les génisses, ces résultats sont en accord avec ceux d'Ahmad *et al.* (1997). En revanche, pour les primipares nos résultats diffèrent de ceux d'Ahmad *et al.* (1997) et de ceux de Townson *et al.* (2002) qui rapportent une fertilité plus élevée chez les vaches à trois vagues que chez les vaches à deux vagues. Il est à noter que notre étude a été réalisée sur un faible échantillon et que ces données seront complétées par l'étude de la génération fille issue de la première campagne de vêlage. Le QTL-Fert-F-BTA3 a été

déterminé grâce aux taux de réussite à l'IA1. Les résultats de l'IA1 obtenus vont dans le sens de ce qui était attendu, les femelles « fertil/- » ont eu un taux de réussite à l'IA1 inférieur à celui des femelles « fertil+/+ ». L'absence de différences significatives pour ce dernier paramètre pourrait être liée au faible effectif. Enfin, les animaux des deux haplotypes produisent des quantités de lait différentes mais cela ne se traduit pas par des différences de comportement d'oestrus comme ont pu l'observer Cutullic *et al.* (2009).

CONCLUSION

L'étude phénotypique de génisses et de primipares homozygotes pour un QTL-Fert-F-BTA3 « fertil+/+ » ou « fertil/- » a révélé que les primipares « fertil/- » ont perdu plus de poids après le vêlage et ont eu une production laitière et un niveau d'ingestion inférieurs à ceux des primipares « fertil+/+ » dans les sept premières semaines *post-partum*. Ces écarts de réponse pourraient expliquer l'allongement de l'inactivité ovarienne observé chez les primipares « fertil/- » et leur plus faible taux de réussite à l'IA1. Dans la mesure où aucune différence de fonctionnement ovarien n'a été observée entre les deux haplotypes au cours du cycle précédent l'IA1, d'autres hypothèses sont à étudier pour expliquer les différences de réponses observées entre animaux « fertil+/+ » et « fertil/- ». Dans ce sens, l'analyse des bilans énergétiques est en cours et pourra contribuer à la compréhension des différences observées.

Les auteurs remercient l'ANR Genanimal et Apis-Gene pour le financement du projet ainsi que Erwan Cutullic pour l'analyse des profils de progestérone, Sandrine Fréret pour les analyses statistiques et l'équipe bovine de l'unité expérimentale de l'INRA de Nouzilly pour le suivi des animaux. Le premier auteur remercie également l'Institut de l'élevage pour le financement de sa thèse.

- Ahmad, N., Townsend, E.C., Dailey, R.A., Inskeep, E.K., 1997. *Anim. Reprod.Sci.*, 49, 13-28
- Barbat, A., Gion, A., Ducrocq, V., 2007. BTIA n°126, décembre 2007, 19-22
- Boichard, D., Barbat, A., Briend, M., 1998. 3 R., 12, 103-106
- Boichard, D., Grohs, C., Bourgeois, F., Cerqueira, F., Faugeras, R., Neau, A., Rupp, R., Amigues, Y., Boscher, M.Y., Leveziel, H., 2003. *Genet. Sel. Evol.*, 35, 77-101
- Canépa, S., Lainé, A.L., Bluteau, A., Fagu, C., Flon, C., Monniaux, D., 2008. Cahier des Techniques de l'INRA, bulletin de liaison interne, 64
- Crowe, MA., 2008. *Reprod. Dom. Anim.*, 43, 20-28
- Cutullic, E., Delaby, L., Causeur, D., Michel, G., Disenhaus, C., 2009. *Anim. Reprod. Sci.*, 113, 22-37
- Disenhaus, C., Cutullic, E., Blanc, F., Gatién, J., Agabriel, J., Hétreau, T., Michel, G., Paccard, P., Badinand, F., Egal, D., Ponsart, C., 2008. 3R., 15, 383-386
- Druet, T., Fritz, S., Boussaha, M., Bon Jemaa, S., Guillaume, F., Derlaba, D., Zelenika, D., Lechner, D., Charon, C., Guillaume, F., Gauthier, M., Ben Jemaa, S., Fritz, S., Eggen, A., Boichard, D., Druet, T., 2007. *Anim. Genet.*, 38, 72-74
- Jaiswal, R.S., Singh, J., Marshall, L., Adams, G.P., 2009. *Theriogenology*, 72, 81-90
- SAS Institute, 2000. *In SAS/STAT Software: User's Guide, release 8.0.* Cary, NC: SAS Institute.
- Sirois, J., Fortune, J.E., 1988. *Biol. Reprod.*, 39, 308-317
- Townson, D.H., Tsang, P.C.W., Butler, W.R., Frajblat, M., Griel, L.C., Jr., Johnson, C.J., Milvae, R.A., Niksic, G.M., Pate, J.L., 2002. *J. Anim. Sci.*, 80, 1053-1058
- Van Eerdenburg, F.J.C.M., Karthaus, D., Taverne, M.A.M., Mercis, I., Szenci, O., 2002. *J. Dairy Sci.*, 85, 1150-115