

Effet d'une supplémentation en acides gras polyinsaturés n-3 à chaîne longue sur la fertilité à l'IA1, les paramètres métaboliques et zootechniques de vaches laitières Prim'Holstein

ELIS S. (1), FRERET S. (1), DESMARCHAIS A. (1), MAILLARD V. (1), COGNIE J. (1), BRIANT E. (1), DUPONT M. (1), TOUZE J-L. (1), LE PORT A. (1), ROGER S. (1), FAVERDIN P. (2), CHAJES V. (3), UZBEKOVA S. (1), MONGET P. (1), DUPONT J. (1)

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

(2) INRA, UMR PEGASE Physiologie Environnement et Génétique pour l'Animal et le Système d'Elevage, 35590 Saint-Gilles

(3) Institut Gustave Roussy, 94805 Villejuif

RESUME

Nous étudions l'effet d'une supplémentation de la ration en acides gras poly-insaturés n-3 (AGPI n-3) sur les paramètres de production (poids, lait produit, matière sèche ingérée) et de reproduction (activité ovarienne, taux de réussite à la 1^{ère} insémination (IA1)) chez des vaches Holstein. Les vaches ont reçu depuis le vêlage pendant 2 mois postpartum soit une supplémentation en huile marine protégée (AGPI n-3) à hauteur de 1 % de la matière sèche (MS) de la ration, soit un supplément enrichi en AGPI n-6, utilisé comme témoin iso-énergétique. L'expérimentation s'est déroulée sur 2 campagnes de reproduction successives, 46 lactations ont été suivies (23 n-3 et 23 n-6). La ration enrichie en AGPI n-3 n'a pas modifié les paramètres de production des vaches ni les paramètres métaboliques mesurés dans le plasma (glucose, acides gras non estérifiés, urée). En revanche, elle a eu tendance à entraîner des modifications au niveau de l'ovaire (augmentation du nombre de gros follicules ovariens) et à augmenter le taux de réussite 21 j après IA1 (86 % vs 61 %) et 35 j après IA1 (73 % vs 52 %) en comparaison de la ration témoin.

Effect of a n-3 poly-unsaturated fatty acid supplement on fertility after first service, metabolic and zootechnical parameters in Prim' Holstein dairy cows

ELIS S. (1), FRERET S. (1), DESMARCHAIS A. (1), MAILLARD V. (1), COGNIE J. (1), BRIANT E. (1), DUPONT M. (1), TOUZE J-L. (1), LE PORT A. (1), ROGER S. (1), FAVERDIN P. (2), CHAJES V. (3), UZBEKOVA S. (1), MONGET P. (1), DUPONT J. (1)

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

SUMMARY

The effect of an n-3 poly unsaturated fatty acid (n-3 PUFA) enriched diet was studied on production parameters (body weight, milk yield, dry matter intake) as well as on reproduction parameters (ovarian activity, first service conception rate (CRAI1)) in Holstein dairy cows. Between calving and 2 months postpartum, cows received an n-3 PUFA enriched diet (1% of dry matter) or an isoenergetic n-6 PUFA diet used as the control. The experiment lasted on 2 successive lactations, a total of 46 lactations were analyzed (23 n-3 and 23 n-6). The results show that the PUFA n-3 diet had no effect on production parameters nor on metabolic ones (glucose, urea, non-esterified fatty acids). However, the n-3 PUFA diet tended to increase the number of large ovarian follicles and to improve the CRAI1 21 days (86% vs 61%) and 35 days after the artificial insemination when compared to the control diet.

INTRODUCTION

En élevage bovin laitier, un des problèmes majeurs des vingt dernières années est la faible fertilité des vaches laitières hautes productrices (39 % de réussite à l'insémination artificielle (IA), chez les vaches de race Prim'Holstein en 2010, (Le Mézec, 2014 non publié), avec un taux de réforme pour infertilité élevé : les réformes pour problèmes de reproduction pouvant représenter globalement un peu plus d'un quart des motifs de réforme (Seegers, 2008).

Il a été suggéré qu'une supplémentation de la ration des vaches laitières par des AGPI n-3 pourrait favoriser la fertilité (Petit *et al.* 2002, Ambrose *et al.* 2006, Thangavelu *et al.* 2007, Moallem *et al.* 2013, Zachut *et al.* 2010b). En effet les AGPI n-3 agiraient en diminuant la sécrétion de prostaglandine utérine (PGF2 α) et favoriseraient ainsi l'implantation de l'embryon (Mattos *et al.* 2000).

Deux groupes de vaches Prim'Holstein sélectionnées pour l'haplotype favorable (Fertil+) ou défavorable (Fertil-) pour un QTL de fertilité femelle localisé sur le chromosome 3 ont été caractérisés (Coyral-Castel *et al.* 2011, Coyral-Castel *et al.* 2012). Le taux de réussite après la première IA a été plus élevé chez les primipares Fertil+ par rapport aux primipares Fertil- (69 % contre 39 %, 35 jours après l'IA1), en lien notamment avec une augmentation des non fécondations/mortalités embryonnaires précoces chez les Fertil-. Afin de voir s'il était possible d'améliorer la fertilité des

vaches laitières, une supplémentation de la ration alimentaire en AGPI n-3 a été envisagée chez ces 2 haplotypes de vaches qui présentent une variabilité de leur fertilité.

Afin de répondre à notre objectif, une forme protégée d'AGPI n-3 (huile marine micro-encapsulée d'origine animale) a été utilisée, afin d'éviter les phénomènes de biohydrogénation qui ont lieu dans le rumen et qui aboutissent à la dégradation des AGPI n-3. De plus, une huile marine a été choisie car sa composition est riche en AGPI n-3 aux chaînes les plus longues (acide eicosapentaénoïque, EPA C20 :5 n-3 et acide docosahexaénoïque, DHA C22 :6 n-3), qui sont ceux décrits pour avoir les effets physiologiques les plus marqués (Plourde *et al.* 2007). Dans l'objectif d'améliorer la fertilité à l'IA, la supplémentation a été faite depuis le vêlage, pendant les 2 premiers mois postpartum, soit pendant la croissance des follicules ovariens qui produiront les ovocytes potentiellement fécondables au moment de la première insémination.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le protocole a été répété sur 2 campagnes de reproduction consécutives dans le troupeau bovin de l'Unité Expérimentale UEPAO du Centre INRA Val de Loire, selon un dispositif en carré latin, impliquant 25 vaches Holstein (15 Fertil+ et 10 Fertil-, avec au total 23 vaches-lactation AGPI n-3 et 23

vaches-lactation AGPI n-6) : chaque vache a reçu la ration supplémentée en AGPI n-3, puis celle supplémentée en AGPI n-6 lors de la lactation suivante, ou l'inverse (tableau 1). Quatre vaches ont dûes être sorties du protocole en 2^{ème} campagne (absence de chaleur, interruption de gestation, mamelle mal conformée).

Tableau 1 : Effectifs expérimentaux

Haplotype	Supplément	Campagne 1	Campagne 2
Fertil+	n-3	7	7
Fertil+	n-6	8	7
Fertil-	n-3	6	3
Fertil-	n-6	4	4
Total		25	21

1.2. RATIONNEMENT, SUPPLEMENTATION ENERGETIQUE ET PARAMETRES ZOOTECHNIQUES

Toutes les vaches ont reçu pendant les 2 premiers mois après vêlage une ration de base composée (en % de la MS totale de la ration) de 67 % d'ensilage de maïs, de 24,5 % de concentrés (10,5 % Sandilait® (tourteau de soja et de colza), 14 % Sandifort® (blé)), de 8,5 % de luzerne déshydratée, de 0,6 % de CMV 5/23 et de 0,4 % de calcium. Le supplément AGPI n-3 est une huile marine micro-encapsulée (OMG750®, Kemin, France) distribuée à 1 % MS/j. Le supplément AGPI n-6, qui sert de contrôle iso-énergétique, est constitué de graines de soja toastées (Agralys, France) et est distribué à 1,8 % MS/j. Ces suppléments ont été mélangés à la ration des vaches (rations complètes) dans des auges individuelles, permettant également de mesurer l'ingestion en continu (Insentec B.V., Marknesse, The Netherlands). Les composants des rations ont été analysés à plusieurs reprises au cours du protocole pour vérifier l'apport énergétique et protéique identique des 2 rations. Les données d'ingestion ont été analysées uniquement pendant la période de supplémentation des vaches (2 premiers mois postpartum).

Le poids et la production laitière ont été enregistrés tous les jours au moment de la traite, pendant les 5 premiers mois après vêlage. La mesure de la composition du lait (matière grasse et matière protéique du lait) a été réalisée sur des échantillons de lait récoltés 1 fois par semaine au cours de la 1^{ère} année du protocole.

1.3 DOSAGES METABOLIQUES

Des prises de sang ont été réalisées 1 fois par semaine avant la distribution de la ration du matin, à partir de 1 mois avant vêlage jusqu'à 5 mois après vêlage, afin de mesurer les taux plasmatiques d'AGNE, de glucose et d'urée par dosage enzymatique colorimétrique sur un analyseur multiparamétrique (Kone instruments corporation, Espoo, Finland) à l'UMR PEGASE, ainsi que la composition en acides gras du plasma par chromatographie en phase gazeuse à l'Institut Gustave Roussy (Villejuif, France).

Tableau 2 : Composition en acides gras du plasma, exprimée en % par rapport au total des AG (des lettres différentes indiquent une différence significative ($p \leq 0,05$) à un stade donné

stade	1MAP		1SPP		2MPP		5MPP	
	n-3	n-6	n-3	n-6	n-3	n-6	n-3	n-6
supplément								
AG saturés	42,6 ± 0,4 a	42,8 ± 0,3 a	39,7 ± 0,4 a	39,6 ± 0,3 a	39,2 ± 0,4 a	39,6 ± 0,4 a	41,1 ± 0,5 a	40,2 ± 0,4 a
AG mono-insaturés	22 ± 0,6 a	21,3 ± 0,6 a	26 ± 0,6 a	25,6 ± 0,6 a	21,5 ± 0,7 a	23,3 ± 0,6 a	17,2 ± 0,9 a	19,8 ± 0,7 b
AGPI n-6	28,3 ± 0,7 a	29 ± 0,6 a	27,4 ± 0,7 a	29,4 ± 0,6 b	31,1 ± 0,8 a	32,4 ± 0,7 a	37,2 ± 1 a	35,7 ± 0,8 a
C20:5 n-3 EPA	1,33 ± 0,15 a	1,23 ± 0,14 a	1,99 ± 0,15 a	1,15 ± 0,14 b	2,57 ± 0,16 a	0,91 ± 0,14 b	0,62 ± 0,22 a	0,66 ± 0,17 a
C22:6 n-3 DHA	0,5 ± 0,07 a	0,46 ± 0,07 a	0,79 ± 0,07 a	0,52 ± 0,07 b	1,42 ± 0,08 a	0,32 ± 0,07 b	0,26 ± 0,1 a	0,16 ± 0,08 a
AGPI n-3	7,1 ± 0,3 a	6,8 ± 0,3 a	6,7 ± 0,3 a	5,2 ± 0,3 b	8,1 ± 0,3 a	4,6 ± 0,3 b	4,5 ± 0,4 a	4,3 ± 0,3 a
AGPI	35,4 ± 0,7 a	35,9 ± 0,7 a	34,1 ± 0,7 a	34,6 ± 0,7 a	39,2 ± 0,8 a	37 ± 0,7 b	41,7 ± 1,1 a	39,9 ± 0,8 a
AGPI n-6/AGPI n-3	5,2 ± 0,4 a	5,6 ± 0,3 a	5,6 ± 0,4 a	7,8 ± 0,3 b	5,7 ± 0,4 a	9,6 ± 0,4 b	11,3 ± 0,5 a	11,8 ± 0,4 a

1.4 MESURE DE L'ÉPAISSEUR DE TISSU ADIPEUX SOUS-CUTANÉ

L'épaisseur de tissu adipeux sous cutané a été mesurée par échographie à 2 localisations, au niveau de la queue, puis au niveau de la 4^{ème} vertèbre lombaire comme décrit par Schröder *et al.* (2006) pour estimer les réserves corporelles des animaux. Ces mesures ont été faites 1 mois avant vêlage (1MAP), puis 2 semaines (2SPP), 1 mois (1MPP), 2 mois (2MPP) et 5 mois postpartum (5MPP).

1.5 ACTIVITE OVARIENNE ET FERTILITE

Le suivi de l'activité ovarienne a été réalisé par échographie 3 fois par semaine depuis la 2^{ème} semaine postpartum et jusqu'à l'IA, afin de suivre l'évolution en nombre et en taille (mesure du diamètre) de la population folliculaire. Les follicules kystiques (diamètre ≥ 25 mm) ont été exclus de l'analyse. Les vaches ont toutes été inséminées avec la semence du même taureau, sur les critères suivants : pas avant 60 j PP, et après observation de l'acceptation du chevauchement et/ou de la répétition de signes sexuels secondaires. La fertilité en 1^{ère} IA est évaluée à 21 j après IA (gestation présumée) par dosage ELISA de la progestérone (P4) plasmatique (Canépa *et al.* 2008), puis par échographie à 35 et 90 j après IA.

1.6 ANALYSE STATISTIQUE

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SAS® (SAS Institute Inc., 2011). Les concentrations moyennes en AG du lait (uniquement campagne 1 et stade 2MPP, pour n=12 vaches) ont été comparées entre groupes n-3 et n-6 avec un test T de Student.

Les modèles multifactoriels suivants ont été utilisés :

Modèle campagne, stade (mesures répétées), haplotype, aliment + interactions (proc MIXED) : AG plasmatiques, épaisseur du tissu adipeux.

Modèle campagne, semaine PP (mesures répétées), haplotype, aliment + interactions (proc MIXED) : quantité de lait, poids vif, MS ingérée, croissance folliculaire, glucose, AGNE, urée plasmatiques (avec valeur plasmatique 1^{ère} semaine PP en covariable), TB et TP en campagne 1 (poids 1^{ère} semaine PP en covariable pour lait, TB, TP).

Modèle campagne, haplotype, aliment et interaction aliment x haplotype : taux de gestation (régression logistique, proc GLIMMIX) et délai de mise à la reproduction (proc MIXED).

Les résultats sont présentés en moyennes ajustées \pm SEM, sauf indication contraire. Les comparaisons multiples de moyennes ajustées ont été faites avec un ajustement de Bonferroni. Les effets avec $p \leq 0,05$ ont été considérés comme significatifs, les effets avec $0,05 < p \leq 0,10$ ont été considérés comme des tendances. NS signifie « Non Significatif ».

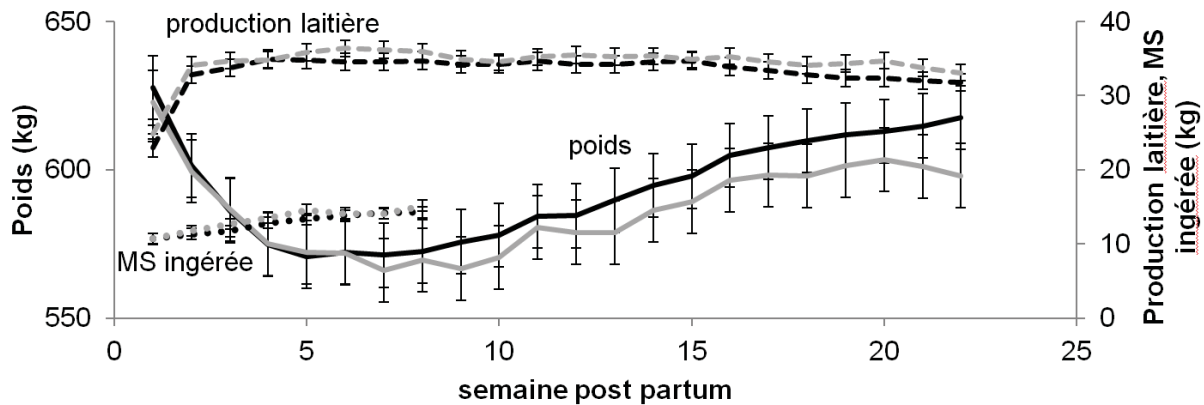


Figure 1 : Poids (kg), production laitière (kg) et MS ingérée (kg) pour les vaches AGPI n-3 (noir) et AGPI n-6 (gris)

2. RESULTATS

2.1 COMPOSITION EN ACIDES GRAS DU PLASMA

La composition plasmatique en acides gras 1 mois avant vêlage (1MAP, avant supplémentation), 1 semaine (1SPP, début de supplémentation), 2 mois postpartum (2MPP, fin de supplémentation) et 5 mois postpartum (5MPP, 3 mois après arrêt de la supplémentation) est présentée dans le tableau 2. Le supplément AGPI n-3 a entraîné dès la 1^{ère} semaine PP une augmentation significative de la composition en EPA et DHA qui est aussi observée 2 mois postpartum (fin de la supplémentation) mais qui n'existe plus 5 mois postpartum.

2.2 PARAMETRES DE PRODUCTION

Aucun effet global de la supplémentation AGPI n-3 n'a été observé sur le poids, la production laitière et la matière sèche ingérée (figure 1), ni sur les matières grasses (MG) et protéique (MP) du lait (figure 2A). Seule une tendance à la diminution de la MG chez les vaches AGPI n-3 a été observée à 3, 5 et 9 semaines PP. La MP a été supérieure chez les vaches AGPI n-3 à la 1^{ère} semaine PP, et a eu tendance à être plus élevée à 5 semaines PP.

L'épaisseur de tissu adipeux mesurée par échographie (figure 2C) n'a pas été différente entre les vaches AGPI n-3 et n-6. La mesure au niveau de la queue a été plus variable au cours du temps que la mesure au niveau de la 4^{ème} vertèbre lombaire.

2.3 PARAMETRES METABOLIQUES

Aucun effet global de la supplémentation AGPI n-3 n'a été observé sur les niveaux plasmatiques d'AGNE, de glucose et d'urée (figure 2B). Seules quelques différences très ponctuelles ont été observées : chez les vaches recevant la supplémentation AGPI n-3, à 1SPP, la glycémie a été plus élevée, à 5SPP, le niveau d'AGNE a été plus élevé et à

2SPP, l'urémie a eu tendance à être plus élevée que chez les vaches recevant la supplémentation AGPI n-6.

2.4 PARAMETRES OVARIENS ET FERTILITE

Il n'y a pas eu d'effet global de la supplémentation AGPI n-3 ni sur le nombre total de follicules (F), ni sur le nombre de petits (PF, $3 \leq$ diamètre < 5 mm), et moyens (MF, $5 \leq$ diamètre < 10 mm) follicules (figure 3). En revanche, une tendance globale à l'augmentation du nombre de gros (GF, $10 \leq$ diamètre < 25 mm) follicules a été observée chez les vaches AGPI n-3. Cela semble concerner plutôt les GF $10 \leq$ diamètre < 15 mm ($p = 0,14$) que les GF $15 \leq$ diamètre < 25 mm (NS). De plus, les vaches AGPI n-3 ont eu ponctuellement tendance à avoir plus de follicules (au total) à 8SPP, plus de MF à 7SPP, et enfin plus de GF à 6SPP et 7SPP, avec notamment plus de GF $10 \leq$ diamètre < 15 mm à 7SPP.

Concernant la fertilité après insémination (tableau 3), une tendance a été observée : la fertilité des vaches AGPI n-3 a été meilleure que celle des vaches AGPI n-6 à 21 jours. Cette différence n'est plus observée par la suite, ni à 35 jours ni à 90 jours.

Enfin, il n'y a pas eu de différence entre les vaches AGPI n-3 et n-6 concernant le délai de mise à la reproduction (délai vêlage-IA1) qui a été respectivement de $80,9 \pm 22,4$ j et de $83,8 \pm 22,2$ j (moyenne \pm écart-type, NS).

3. DISCUSSION

La supplémentation en AGPI n-3 utilisée n'a pas entraîné de modification des paramètres de production (poids, production laitière, matière sèche ingérée) et des paramètres métaboliques (niveaux plasmatiques d'AGNE, glucose, urée) mesurés, ce qui est cohérent avec le fait que les rations sont isoénergétiques et isoprotéiques.

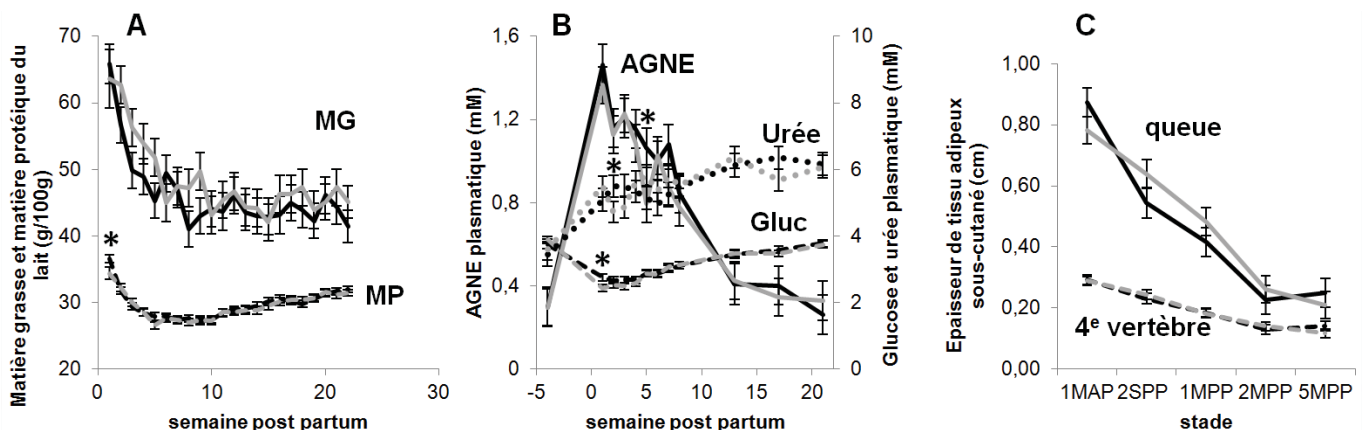


Figure 2 A : Taux de matière grasse (MG) et protéique (MP) du lait, B : niveaux plasmatiques d'AGNE, d'urée et de glucose, C : épaisseur de tissu adipeux sous-cutané, pour les vaches AGPI n-3 (noir) et n-6 (gris) (* indique une différence, $p \leq 0,05$).

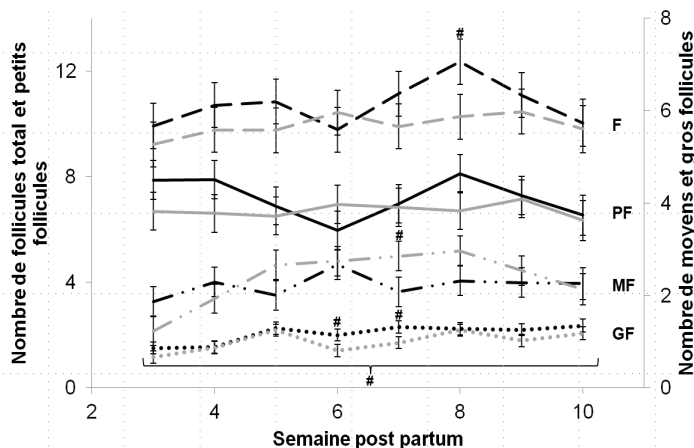


Figure 3 : Nombre total de follicules (F) et nombres de petits (PF), moyens (MF) et gros (GF) follicules pour les vaches AGPI n-3 (noir) et n-6 (gris) (* indique une différence, $p \leq 0,05$ et # une tendance, $0,05 < p < 0,10$).

Tableau 3 : Fertilité à l'IA1 chez les vaches AGPI n-3 et n-6

% gestation	n-3	n-6	p
à J21 (dosage P4 : gestation présumée)	86,4 (19/22)	60,9 (14/23)	0,09
à J35 (écho)	72,7 (16/22)	52,2 (12/23)	0,13
à J90 (écho)	59,1 (13/22)	52,2 (12/23)	0,63

La composition en acides gras du plasma et du lait, modifiée par la supplémentation, a permis de valider l'utilisation de la forme protégée choisie (huile micro-encapsulée) chez la vache. Les acides gras d'intérêt (EPA et DHA) sont au moins partiellement protégés de la biohydrogénation dans le rumen par la micro-encapsulation et passent dans le plasma. L'augmentation mesurée dans le plasma est non négligeable, car supérieure à celle observée dans d'autres études (Petit *et al.* 2002, Moallem *et al.* 2013). Il est difficile de comparer notre étude aux autres portant sur une supplémentation en AGPI n-3 car la composition plasmatique n'est pas toujours précisée (Ambrose *et al.* 2006, Colazo *et al.* 2009) ou seul l'ALA (acide alpha linoléique, C18 n-3) a été mesuré (Zachut *et al.* 2010b, Thangavelu *et al.* 2007). En outre, le type de supplémentation choisie dans notre étude n'entraîne pas de diminution d'ingestion et d'augmentation de production laitière, qui ont été décrites dans la littérature (pour revues, Brunschwig *et al.* 2010, Rabiee *et al.* 2012, Leroy *et al.* 2014) et qui, en accentuant le bilan énergétique négatif, génèrent une pression métabolique plus intense (traduite par une augmentation des AGNE) pouvant être délétère pour la reproduction. Enfin, la supplémentation utilisée est une huile micro-encapsulée, donc les effets négatifs d'un potentiel excès d'huile au niveau du rumen n'ont pas été rencontrés.

Le principal résultat de ce travail est une tendance à l'amélioration du taux de réussite à l'IA à 21 jours. Un écart de 25 points est observé et cet écart reste de 20 points 35 j après l'IA1. Ces résultats suggèrent fortement que la supplémentation utilisée a eu un effet favorable sur la fertilité de ces vaches laitières, notamment en diminuant le taux de non-fécondations/mortalités embryonnaires précoces (échecs précoces de gestation, avant l'implantation) chez les vaches AGPI n-3. Le faible effectif d'animaux utilisés ici ne nous a pas permis d'observer des différences significatives mais ces résultats vont dans le sens de ceux observés dans d'autres études (Ambrose *et al.* 2006, Moallem *et al.* 2013). La supplémentation a été réalisée entre le vêlage et 2 mois postpartum afin d'affecter potentiellement la croissance des follicules qui produisent les ovocytes pouvant être fécondés lors de l'IA1. Notre travail suggère donc que les AGPI n-3 (notamment ceux à longue chaîne) pourraient améliorer la compétence ovocytaire au développement et/ou la qualité du milieu oviductal indispensable à la fécondation et au

développement précoce de l'embryon (jusqu'à J7 chez les bovins). D'autres effets des AGPI n-3 sont décrits, comme la diminution des prostaglandines au niveau de l'utérus (Mattos *et al.* 2004, Childs *et al.* 2008) et il est possible que l'écart de fertilité observé soit également dû à un environnement utérin plus favorable au développement embryonnaire. Les effets favorables des AGPI n-3 ne sont pas observés 90 j après l'IA1 dans cette étude, soit 3 mois après l'arrêt du régime. Un léger effet a été observé sur la population folliculaire, notamment sur les gros follicules (diamètre ≥ 10 mm), ce qui est en cohérence avec les effets décrits dans la littérature (Ambrose *et al.* 2006, Zachut *et al.* 2010a).

CONCLUSION

En conclusion, cette étude a montré que la supplémentation utilisée, une forme rumino-protégée d'huile marine, a entraîné une tendance à l'amélioration du taux de réussite 21 jours après l'IA1 sans altération de la production laitière ou des paramètres métaboliques. La période de supplémentation choisie suggère que la compétence ovocytaire, le milieu tubaire ou utérin ont pu être affectés. Les effets sur l'ovocyte seront approfondis dans un projet ultérieur qui commencera en 2015.

Ce projet « Fertinut » a été financé par Apis-gène et par le Département INRA PHASE. Nous remercions le personnel des unités PRC et UEPAO à Nouzilly (Christelle Ramé, Mickael Delanoue, Christophe Mouaze, Ludovic Métivier et Damien Capo), PEGASE à Rennes (Colette Mustière) et de l'IGR à Paris (Mélanie Collin et Anne-Sophie Gross).

- Ambrose D.J., Kastelic J.P., Corbett R., Pitney P.A., Petit H. V. *et al.* 2006. J. Dairy Sci. 89:3066-3074.
 Brunschwig P., Hurtaud C., Chilliard Y., Glasser F. 2010. INRA Productions Animales 23:307-318.
 Canepa S., Lainé A.L., Bluteau A., Fagu C., Flon C. *et al.* 2008. Les Cahiers Techniques de l'INRA 64:19-30.
 Childs S., Hennessy A.A., Sreenan J.M., Wathes D.C., Cheng Z. *et al.* 2008. Theriogenology 70:595-611.
 Colazo M.G., Hayirli A., Doepel L., Ambrose D.J. 2009. J. Dairy Sci. 92:2562-2571.
 Coyral-Castel S., Ramé C., Monniaux D., Freret S., Fabre-Nys C. *et al.* 2011. Theriogenology 75:1239-1250.
 Coyral-Castel S., Faverdin P., Ramé C., Freret S., Guillaume D. *et al.* 2012. Animal 7:610-617.
 Leroy J., Sturmey R.G., Van Hoeck V., De Bie J., McKeegan P.J. *et al.* 2014. Reprod. Domest. Anim. 49:353-361.
 Mattos R., Staples C. R., Thatcher W. W. 2000. Rev. Reprod. 5:38-45.
 Mattos R., Staples C. R., Arteche A., Wiltbank M. C., Diaz F. J. *et al.* 2004. J. Dairy Sci. 87:921-932.
 Moallem U., Shafran A., Zachut M., Dekel I., Portnick Y. *et al.* 2013. Reproduction 146:603-614.
 Petit H. V., Dewhurst R. J., Scollan N. D., Proulx J. G., Khalid M. *et al.* 2002. J. Dairy Sci. 85:889-899.
 Plourde M. and Cunnane S. C. 2007. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 32:619-634.
 Rabiee A. R., Breinhild K., Scott W., Golder H. M., Block E. *et al.* 2012. J. Dairy Sci. 95:3225-3247.
 Schroder U. J., Staufenbiel R. 2006. J. Dairy Sci. 89:1-14.
 Seegers H. 2008. Le Nouveau Praticien Vétérinaire élevages et santé, vol. 2, n°10, 402-407.
 Thangavelu G., Colazo M. G., Ambrose D. J., Oba M., Okine E. K. *et al.* 2007. Theriogenology 68:949-957.
 Zachut M., Dekel I., Lehrer H., Arieli A., Arav A. *et al.* 2010a. J. Dairy Sci. 93:529-545.
 Zachut M., Arieli A., Lehrer H., Livshitz L., Yakoby S. *et al.* 2010b. J. Dairy Sci. 93:5877-5889.